

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESCOLA DE VETERINÁRIA
COLEGIADO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DO PRESUNTO COZIDO
FATIADO E DAS CONDIÇÕES HIGIÊNICO-SANITÁRIAS DO AMBIENTE
INDUSTRIAL

RAFAEL CORRÊA FERREIRA

BELO HORIZONTE

2019

Rafael Corrêa Ferreira

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DO PRESUNTO COZIDO
FATIADO E DAS CONDIÇÕES HIGIÊNICO-SANITÁRIAS DO AMBIENTE
INDUSTRIAL**

Dissertação apresentada à Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG, como requisito para obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal.

Área de Concentração: Tecnologia e Inspeção de Produtos de Origem Animal

Orientador: Débora Cristina Sampaio de Assis

Co-orientadora: Cléia Batista Ornellas

**Belo Horizonte
Escola de Veterinária da UFMG
2019**

F383a Ferreira, Rafael Corrêa, 1985-
Avaliação da qualidade microbiológica do presunto cozido fatiado e das condições higiênico – sanitárias do ambiente industrial / Rafael Corrêa Ferreira – 2019.

47p.: il.

Orientadora: Débora Cristina Sampaio de Assis
Coorientadora: Cléia Batista Omellas

Dissertação de Mestrado apresentado a Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais.

1- Alimentos – Microbiologia- Teses - 2 –Alimentos – Análise - Teses- 3 – Alimentos – Qualidade – Teses
4 –Alimentos de origem animal – Teses - 5 – Salmonela – Teses – I – Assis, Débora Cristina
Sampaio de – II – Omellas, Cléia Batista – III – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de
Veterinária – V – Título.

CDD – 614.31

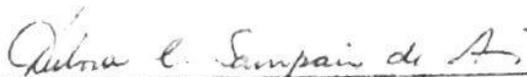
Bibliotecária responsável Cristiane Patrícia Gomes – CRB2569

FOLHA DE APROVAÇÃO

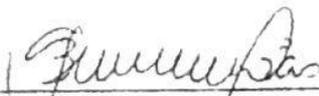
RAFAEL CORRÊA FERREIRA

Dissertação submetida à banca examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIA ANIMAL, como requisito para obtenção do grau de MESTRE em CIÊNCIA ANIMAL, área de concentração TECNOLOGIA E INSPEÇÃO DE PRODUTOS DE ORIGEM ANIMAL .

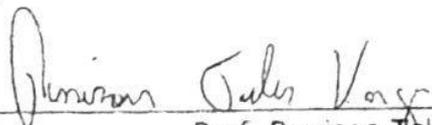
Aprovada em 29 de Março de 2019, pela banca constituída pelos membros:



Prof^ª. Débora Cristina Sampaio de Assis
Presidente - Orientador



Prof^ª. Cléia Batista Dias Ornellas
Escola de Veterinária - UFMG



Prof. Renison Teles Vargas
Instituto Federal de Minas Gerais - IFMG



Prof^ª. Kelly Moura Keller
Escola de Veterinária - UFMG

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus primeiramente pelo dom da vida. Por me guiar e iluminar os meus passos até essa conquista de hoje.

À minha amada mãezinha, Dona Eloísa, por ser meu porto seguro em todos momentos de angústia e incertezas. Por todos os ensinamentos, princípios e valores que me fizestes se tornar uma pessoa melhor.

À minha irmã Daniela, por ser uma referência em casa e também na vida acadêmica, profissional de extrema competência.

Aos meus irmãos Aldo e Cris, pelos momentos de cumplicidade e partilha vividos, com certeza sem eles seria mais difícil chegar até aqui.

À minha amada esposa Dandara, pelo companheirismo, paciência e carinho nesses últimos meses. Obrigado por me passar força e coragem quando já as não tinha mais. Sem você eu, com certeza, não chegaria até aqui. Te amo!

À minha amada Escola de Veterinária por proporcionar essa conquista.

À minha orientadora, Professora Débora Sampaio, agradeço imensamente pelos ensinamentos, pela paciência e calma em todos os momentos. Saiba que lhe tenho você como referência profissional.

À banca examinadora pelas sugestões e críticas.

À minha equipe de Controle de Qualidade, por todo empenho dedicado diariamente.

Aos meus Gerentes, por me permitir conciliar esse projeto com a vida profissional.

A todos que de alguma maneira contribuíram com essa conquista.

Muito obrigado!

RESUMO

O controle microbiológico de alimentos de origem animal na indústria é uma ferramenta importante para a garantia de um produto inócuo entregue ao mercado. O presunto fatiado faz parte de um grupo de alimentos classificados como prontos para o consumo que podem representar foco de transmissão de diversas doenças alimentares, uma vez que após o processo de fatiamento, normalmente, não há etapa que possa eliminar uma possível contaminação. Objetivou-se avaliar as condições higiênico-sanitárias do ambiente de processamento e a qualidade microbiológica do presunto cozido fatiado embalado à vácuo, proveniente de uma indústria porcionadora. Para avaliar as condições higiênico-sanitárias do ambiente industrial foram realizadas coletas de amostras de *swabs* de superfícies de cinco locais considerados críticos do ponto de vista da higienização (esteira da termoformadora, esteira da fatiadora, faca, garra e ralo). As coletas foram realizadas antes do início da produção de 30 lotes de presunto cozido fatiado, totalizando 150 amostras, para realização das análises de contagens de micro-organismos mesófilos aeróbios, contagem de enterobactérias e pesquisa de *L. monocytogenes*. Foram coletadas também 30 amostras de presunto cozido fatiado para realização das análises de contagem de coliformes termotolerantes, clostrídios sulfito redutores, *Staphylococcus* coagulase positiva, além da pesquisa de *Salmonella* spp. e *L. monocytogenes*. Nas análises de *swabs* de superfícies, as medianas das contagens de micro-organismos mesófilos aeróbios e enterobactérias foram $< 1,0$ UFC/cm² e não foi detectada a presença de *L. monocytogenes*. Das 30 amostras de presunto avaliadas, todas apresentaram resultados dentro dos padrões estabelecidos pela RDC nº 12 da ANVISA para as análises de coliformes termotolerantes, clostrídios sulfito redutores e *Staphylococcus* coagulase positiva. Entretanto nas análises para a pesquisa de *Salmonella* spp. e *L. monocytogenes*, foi encontrada uma (3,3%) e oito (26,6%) amostras positivas para esses micro-organismos, respectivamente. Foi concluído que apesar da adoção de procedimentos de controle de qualidade e de protocolos extremamente rigorosos de higienização nos processos produtivos, o presunto cozido fatiado pode conter patógenos causadores de doenças de origem alimentar. Portanto, os ambientes de processamento de produtos de pronto consumo devem receber atenção redobrada por parte de órgãos fiscalizadores e pelas empresas, que devem adotar em seus procedimentos de controle de qualidade, medidas como o estabelecimento de áreas restritas à etapa de fatiamento e o treinamento constante dos colaboradores com base em levantamento de possíveis perigos abordados no programa APPCC.

Palavras-chave: presunto cozido, alimentos prontos para o consumo, micro-organismos indicadores, *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*, boas práticas de fabricação

ABSTRACT

Microbiological control food of animal origin in the industry is an important tool to guarantee an innocuous product delivered to the market. The sliced ham is part of a group of foods classified as ready for consumption that may represent the focus of transmission of various food diseases, since after the slicing process, there is usually no step that can eliminate possible contamination. The objective of this study was to evaluate the hygienic-sanitary conditions of the processing environment and the microbiological quality of the vacuum-packed sliced cooked ham from a portioning industry. In order to evaluate the hygienic-sanitary conditions of the industrial environment, samples of surface *swabs* from five sites considered critical from the point of view of hygienization (thermoformer mat, slicer belt, knife, claw and drain) were collected. The samples were collected before the beginning of the production of 30 batches of sliced cooked ham, totaling 150 samples, for the analysis of counts of aerobic mesophilic microorganisms, enterobacteria count and *Listeria monocytogenes*. Thirty samples of sliced baked ham were also collected for the analysis of thermotolerant coliforms, sulfite reducing clostridia, *Staphylococcus* coagulase positive, and the *Salmonella* spp. and *L. monocytogenes*. In the surface *swab* analyzes, the median counts of aerobic and enterobacterial mesophilic microorganisms were <1.0 CFU / cm² and the presence of *L. monocytogenes* was not detected. Of the 30 ham samples evaluated, all presented results within the standards established by ANVISA RDC No. 12 for analyzes of thermotolerant coliforms, sulfite reducing clostridia and coagulase positive *Staphylococcus*. However, in the analyzes for *Salmonella* spp. and *L. monocytogenes*, one (3.3%) and eight (26.6%) samples were found positive for these microorganisms, respectively. It was concluded that despite the adoption of quality control procedures and extremely strict hygienization protocols in the production processes, sliced baked ham may contain pathogens that cause foodborne diseases. Therefore, processing environments for ready-to-eat products should receive increased attention from inspection agencies and companies, which should adopt measures in their quality control procedures, such as the establishment of areas restricted to the slicing stage and constant training based on a survey of possible hazards addressed in the HACCP program.

Keywords: cooked ham, ready-to-eat foods, microorganism indicators, *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*, good manufacturing practices

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Fluxograma de processamento de presunto cozido	18
Figura 2	Fluxograma de presunto cozido fatiado	22
Figura 3	Procedimento de sanitização das peças de presunto	23
Figura 4	Etapa de embalagem primária	25
Figura 5	Amostras de Presunto Cozido	39
Figura 6	Amostras de <i>swabs</i> coletadas de superfícies de equipamentos	40

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Padrões microbiológicos para presunto cozido fatiado.....	21
Tabela 2	Valores mínimos, máximos e medianas das contagens de micro-organismos mesófilos aeróbios e enterobactérias de amostras de <i>swabs</i> de superfícies de equipamentos.....	43
Tabela 3	Valores mínimos, máximos e medianas das contagens de micro-organismos em presunto cozido fatiado em ambiente industrial.....	45
Tabela 4	Resultados das análises da pesquisa de <i>Salmonella</i> spp. e <i>Listeria monocytogenes</i> nas amostras de presunto fatiado.....	48

LISTA DE ABREVIATURAS

°C	Graus Celsius
ABPA	Associação Brasileira de Proteína Animal
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AOAC	<i>Association of Official Analytical Chemists</i>
APPCC	Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle
BPF	Boas Práticas de Fabricação
DTA	Doenças transmitidas por alimentos
FSIS	<i>Food Safe and Inspection Service</i>
HHS	<i>Health and Human Services</i>
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IN	Instrução Normativa
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MERCOSUL	Mercado Comum do Sul
NASA	<i>National Aeronautics and Space Administration</i>
NMP	Número mais provável
OMC	Organização Mundial do Comércio
PAC	Programa de autocontrole
POP	Procedimento operacional padrão
PPHO	Procedimentos Padrões de Higiene Operacional
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
RIISPOA	Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal
SIF	Serviço de Inspeção Federal
UFC	Unidade formadora de colônia
USDA	<i>United States Department of Agriculture</i>

Sumário

1. INTRODUÇÃO	13
2. OBJETIVOS	14
3. REVISÃO DE LITERATURA	15
3.1. Presunto cozido	15
3.2. Processamento tecnológico do presunto cozido fatiado	15
3.2.1. Preparo da carne	17
3.2.2. Injeção de salmoura.....	17
3.2.3. <i>Tumbleamento</i>	17
3.2.4. Cura	18
3.2.5. Embalagem e enformagem.....	18
3.2.6. Cozimento	19
3.2.7. Resfriamento	19
3.2.8. Desenformagem / embalagem.....	19
3.2.9. Estocagem	20
3.2.10. Recebimento.....	21
3.2.11. Sanitização	21
3.2.12. Equalização da temperatura.....	22
3.2.13. Congelamento superficial.....	22
3.2.14. Descasque.....	22
3.2.15. Fatiamento.....	22
3.2.16. Embalagem primária	23
3.2.17. Embalagem secundária.....	24
3.3. Legislações aplicadas a produção de presunto cozido fatiado	24
3.4. Micro-organismos de importância em indústrias de produtos cárneos	27
3.4.1 Micro-organismos mesófilos aeróbios	27
3.4.2 Coliformes totais e termotolerantes.....	28
3.4.3 Gênero <i>Clostridium</i>	29
3.4.4. Gênero <i>Staphylococcus</i>	29
3.4.5. Gênero <i>Salmonella</i>	31

3.4.6. Gênero <i>Listeria</i>	32
3.5. Qualidade microbiológica de presunto cozido fatiado	34
4. MATERIAL E MÉTODOS	38
4.1. Obtenção das amostras	38
4.2. Análises microbiológicas	39
4.2.1. Enumeração de coliformes termotolerantes	39
4.2.2. Enumeração de bactérias sulfito redutoras	40
4.2.3. Contagem de <i>Staphylococcus coagulase positiva</i>	40
4.2.4. Pesquisa de <i>Salmonella</i> spp.	41
4.2.5. Pesquisa de <i>Listeria monocytogenes</i>	41
4.2.6. Enumeração de mesófilos aeróbios e enterobactérias	42
4.3. Delineamento experimental e análise estatística	42
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
6. CONCLUSÃO	51

1. INTRODUÇÃO

O Brasil ocupa uma posição de destaque no mercado mundial da carne suína por ser o quarto maior produtor e exportador deste produto (ABPA, 2018). Para se manter nesse cenário, é preciso garantir que o produto atenda tanto às exigências sanitárias do mercado interno e externo, quanto às necessidades ou expectativas dos consumidores, que avaliam a qualidade da carne e dos produtos cárneos, baseados, principalmente, em parâmetros sensoriais. A carne suína possui aspectos que facilitam sua transformação, por isso é muito consumida na forma industrializada e oferece várias opções de venda (Salvagni Neto, 2018). Entre essas opções, pode-se destacar o presunto cozido, que é considerado um dos produtos nobres da indústria de carnes, sendo amplamente consumido e apreciado pela população mundial devido as suas características sensoriais como sabor e aroma (Costa et al., 2007).

Os tratamentos térmicos empregados durante o processamento tecnológico dos produtos cárneos têm como objetivo a destruição dos micro-organismos patogênicos que possam estar presentes. Entretanto, pode ocorrer a recontaminação do produto após o tratamento térmico, o que pode elevar o risco de doenças transmitidas por alimentos (DTAs). Portanto, a produção de fatiados cozidos exige da cadeia produtora e distribuidora de alimentos a garantia de atendimento aos parâmetros microbiológicos até o momento do consumo (Martins, 2009). Estes produtos estão expostos à contaminação devido à intensa manipulação e exposição por períodos prolongados fora de refrigeração durante seu fatiamento, facilitando assim, a contaminação e multiplicação de micro-organismos patogênicos. Por se tratar de um produto pronto para o consumo, as indústrias devem possuir controles de processo extremamente rígidos e precisos durante sua elaboração.

No caso do presunto cozido fatiado, o momento de porcionamento é considerado o de maior risco à segurança e à contaminação do produto. É fundamental que coletas de amostras ambientais e de produtos para monitoramento microbiológico façam parte da rotina dessas fábricas, a fim de verificar as condições higiênico-sanitárias no processo produtivo e a inocuidade do produto. Os manipuladores de alimentos também têm um papel importante na segurança alimentar, por introduzirem patógenos no alimento durante a produção, processamento e distribuição (Almeida et al., 1995; Angelillo et al., 2000). Em algumas situações, os próprios manipuladores, por falta de orientação ou economia de produtos, não executam a limpeza e assepsia correta dos utensílios, superfícies, equipamentos e de si próprios (Pires et al., 2005).

Estudos epidemiológicos e microbiológicos identificaram a contaminação cruzada e o subsequente crescimento bacteriano (durante o armazenamento) como as principais causas de contaminação dos produtos (Pérez-Rodríguez et al., 2010). Portanto, esforços por parte das unidades beneficiadoras desses produtos devem ser voltados à entrega de um produto inócuo ao varejo.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Avaliar a qualidade microbiológica do presunto cozido fatiado em uma unidade de beneficiamento de carnes e produtos cárneos, registrada no Serviço de Inspeção Federal (SIF), e as condições higiênico-sanitárias do ambiente industrial.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Monitorar, por meio de análises microbiológicas (contagem de micro-organismos mesófilos aeróbios, contagens total de enterobactérias e pesquisa de *Listeria monocytogenes*) da superfície de equipamentos e utensílios utilizados no processo de fatiamento do presunto cozido, se os processos de higienização descritos nos Procedimentos Padrões de Higiene Operacional (PPHO) da indústria estão sendo realizados de forma eficiente e eficaz,

- Avaliar a qualidade microbiológica do presunto fatiado embalado à vácuo por meio das contagens de micro-organismos mesófilos aeróbios, bactérias sulfito redutoras, coliformes termotolerantes, *Staphylococcus* coagulase positiva e pesquisa de *L. monocytogenes* e *Salmonella* spp..

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Presunto cozido

A cada dia as indústrias lançam novos produtos, aproveitando nichos de mercados potenciais (Antoni, 2005). O presunto é amplamente consumido e apreciado pela população mundial devido as suas características sensoriais como sabor e aroma, sendo considerado um dos produtos nobres da indústria de carnes (Costa et al., 2007). Sua demanda só aumenta, pois os consumidores buscam cada vez mais alimentos de qualidade, frescos e fáceis de preparar (Bressan et al., 2007). De acordo com a Pesquisa de Orçamentos Familiares realizada pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), a quantidade *per capita* de presunto adquirida nos domicílios brasileiros no ano de 2008 (0,477 kg) representou 8,59% do volume total de carne suína e seus derivados (5,551 kg) que foi adquirido pelas famílias nesse ano (IBGE, 2008).

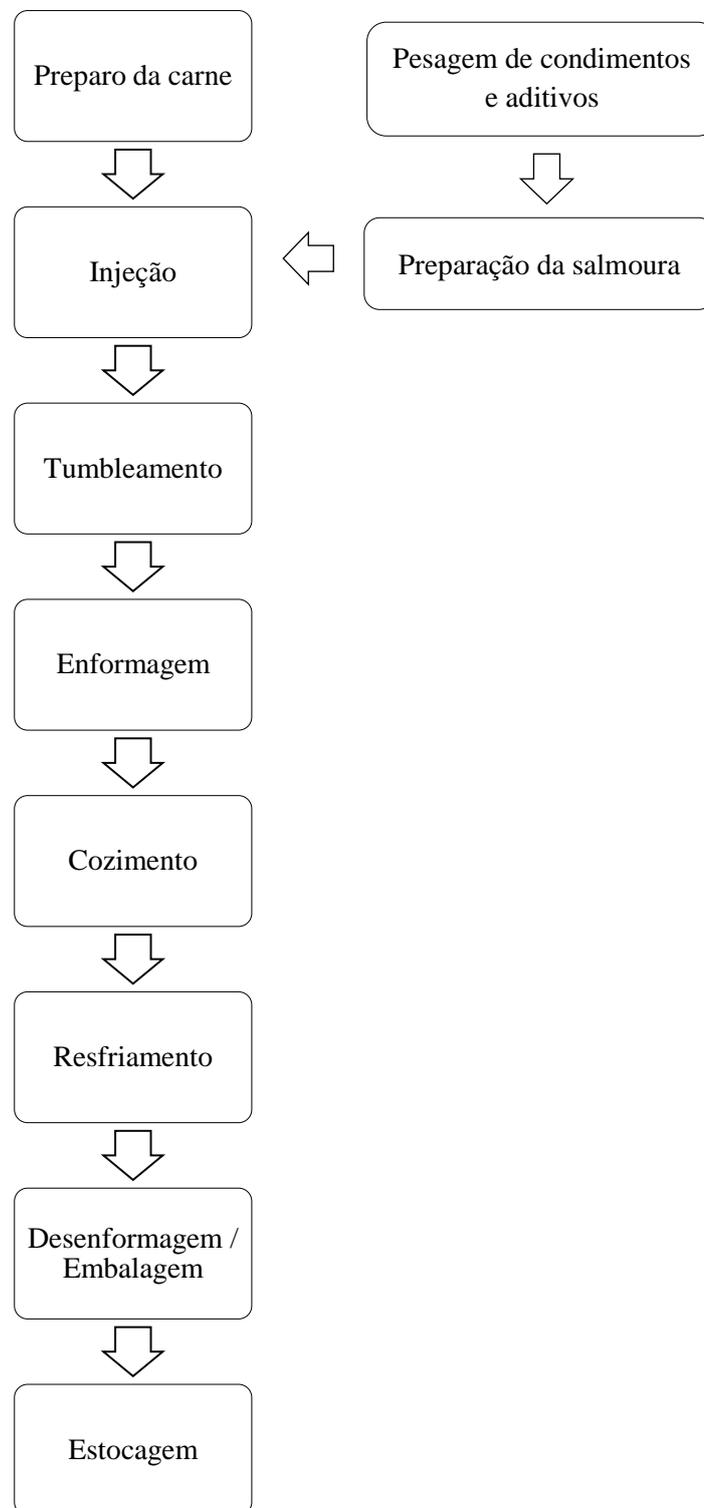
Segundo a legislação vigente, presunto cozido é o produto cárneo industrializado obtido dos cortes do membro posterior do suíno, desossado ou não, e submetido ao processo térmico adequado. No processo de elaboração do presunto cozido, além da carne de pernil suíno como ingrediente obrigatório, são utilizados o sal, nitrito e/ou nitrato de sódio e/ou potássio em forma de salmoura. Como ingredientes opcionais podem ser utilizados proteínas de origem animal e/ou vegetal, açúcares, maltodextrina, condimentos, aromas, especiarias e aditivos intencionais. Como padrões físico-químicos, o presunto cozido deve apresentar: relação umidade/proteína máxima de 5,35%, valor mínimo de proteína de 14% e o máximo de 2% de carboidratos (Brasil, 2000).

Produtos cárneos cozidos, como no caso o presunto, aparentemente são seguros do ponto de vista microbiológico, entretanto pode ocorrer recontaminação após a etapa do tratamento térmico, o que pode levar à ocorrência de surtos de origem alimentar (Mottin, 2008). Dessa maneira, por se tratar de um alimento de pronto consumo, são exigidos controles higiênico-sanitários mais rigorosos durante seu processamento tecnológico.

3.2. Processamento tecnológico do presunto cozido fatiado

O processamento tecnológico do presunto cozido de acordo com Udaeta (1996) está esquematizado na Figura 1.

Figura 1. Fluxograma de processamento de presunto cozido (Udaeta, 1996)



3.2.1. Preparo da carne

O preparo da matéria prima (pernil suíno resfriado) consiste primeiramente em avaliar de forma visual as carnes, procurando hematomas, sujidades ou ossos. Em seguida, o pernil é desossado e são retirados também os tecidos inferiores como tendões, nervos e o excesso de gordura (Slongo, 2009)

3.2.2. Injeção de salmoura

As carnes sofrem o processo de injeção da salmoura de forma homogênea, executada em máquinas injetoras dotadas de agulhas. Essa salmoura é preparada primeiramente com a pesagem dos ingredientes, que são adicionados em água sob agitação, até serem totalmente dissolvidos (Lawrie, 1998).

3.2.3. Tumbleamento

As carnes injetadas são moídas para aumento da superfície de contato com a salmoura. Essa massa é adicionada ao “*tumbler*”, equipamento que provoca o “*massageamento*” da massa, processo que tem o intuito de romper a fibras musculares para liberação e solubilização das proteínas miofibrilares actina e miosina, fazendo com que essas se liguem de forma uniforme na etapa de cozimento. Ao final desse processo, a massa se apresenta de forma uniforme, não sendo perceptível a individualização de suas frações (Price; Schweigert, 1994; Pardi, 2006). Alguns benefícios são propiciados com esse processo, como: melhor penetração da salmoura e maior uniformidade da cor.

3.2.4. Cura

O processo de cura consiste na conservação por meio de adição de sal, compostos fixadores de cor (nitrito e/ou nitrato), açúcares e condimentos (Lawrie, 1998; Pardi, 2006). Essa etapa é considerada um dos principais métodos de conservação e transformação de produtos cárneos. Sendo nesse momento que o presunto adquire a coloração característica, fruto das reações da mioglobina na presença de oxigênio ou agentes oxidantes, como o óxido nítrico proveniente do nitrito (Honikel, 2008).

3.2.5. Embalagem e enformagem

A massa, após ser homogeneizada e curada, é colocada em equipamentos que realizam o processo de embalagem por meio de vácuo. Nessa etapa é importante que não permaneça ar nas estruturas, pois essas “bolhas” dão lugar a estruturas gelatinosas durante o cozimento (Arima, 1995).

Um marco significativo neste processo foi a implantação do processo *cook-in* na década de 1980 (Hall, 2014). Nesse sistema, o acondicionamento do produto na embalagem é feito antes do cozimento, favorecendo uma maior vida de prateleira ao produto aliada a uma boa embalagem (Arima, 1995; Bressan; Perez, 2001). As peças são colocadas na embalagem cujo filme, composto basicamente de poliamida e surlyn® (Du Pont™), permite a termoformagem e termoencolhimento com a eliminação do ar, garantindo proteção ao produto durante as fases seguintes do fluxograma (Terra, 1998).

De acordo com Terra (1998), o processo *cook-in* oferece as seguintes vantagens: melhoria no rendimento, pois diminui a perda de peso pós cozimento; economia de trabalho, pois facilita os procedimentos de higienização das formas; eliminação da operação de embalagem pós cozimento; aumento da vida de prateleira, já que evita o manuseio do produto após o processamento e qualidade da cor, por oferecer barreiras ao oxigênio. As formas em que são acondicionadas as embalagens dão o formato ao presunto, que pode apresentar formatos diversos de acordo com a demanda do mercado.

3.2.6. Cozimento

A etapa de cozimento talvez seja a de maior criticidade, pois envolve a eliminação da maior parte de micro-organismos que possam existir na massa do presunto. Após serem lacradas, as formas são levadas, geralmente, para estufas onde ocorrerá o processo de cozimento, que é realizado de forma escalonada. Após a massa atingir a temperatura em torno de 72°C no seu centro geométrico, o processo é dado como finalizado. A finalidade desse processo consiste em atribuir uma certa vida de prateleira ao produto, associado a eliminação de micro-organismos que causam alteração de cor, eliminação das formas vegetativas dos micro-organismos patogênicos e inativação de enzimas que poderiam provocar alteração no produto (Prestes; Demiate; Carneiro, 2008). Caso o processo de cozimento seja ineficiente, alguns micro-organismos patogênicos podem permanecer no produto, representando um alto risco ao consumidor, pois se trata de um produto pronto para o consumo.

3.2.7. Resfriamento

Após o cozimento, as formas são submetidas ao resfriamento rápido, que normalmente é feito utilizando-se água com gelo durante 40 minutos. Em seguida, o produto é acondicionado em câmaras frias durante 24 horas (Slongo, 2009)

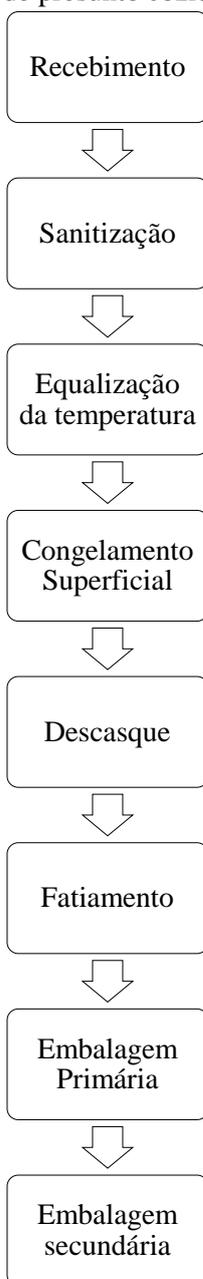
3.2.8 Desenformagem / embalagem

As formas são abertas e os produtos são acondicionados nas embalagens secundárias, que geralmente são de papelão. Não se deve desenformar presuntos ainda quentes, pois apesar do resfriamento, a peça continua com elevada temperatura interna, o que pode prejudicar a estrutura do produto, principalmente a fatiabilidade (Arima, 1995)

3.2.9. Estocagem

Os produtos são estocados em câmaras frias com temperatura de 0°C a 4°C. Algumas unidades industriais não contam com o ciclo completo do presunto cozido fatiado, participando somente da etapa de elaboração ou do fatiamento. A figura 2 representa um fluxograma de uma unidade de fatiamento de presunto cozido.

Figura 2. Fluxograma de presunto cozido fatiado. Fonte: Arquivo pessoal



3.2.10. Recebimento

As peças de presunto são recebidas e um dos procedimentos importantes é a aferição da temperatura dos produtos, que deve estar entre 0°C e 4°C. Na sequência as peças são encaminhadas às câmaras de resfriamento.

3.2.11. Sanitização

Devido do risco de contaminação durante o processo de armazenagem e transporte até as salas de fatiamento, as peças de presunto devem ter a superfície das embalagens sanitizadas antes de serem fatiadas. As indústrias adotam basicamente duas formas de sanitização: a primeira consiste na aspersão de solução sanitizante, à base de ácido peracético, por exemplo, em baixas concentrações nas peças e que não necessite de enxágue; ou a segunda, que consiste na passagem das peças por equipamentos em formato de “túnel” que emitem radiação ultravioleta, exercendo assim o papel de bactericida nessa etapa.

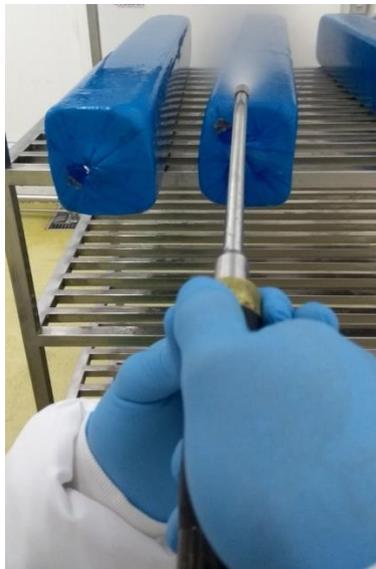


Figura 3. Procedimento de sanitização das peças de presunto. Fonte: Arquivo pessoal

3.2.12. Equalização da temperatura

As peças de presunto são direcionadas às câmaras de equalização que possuem uma temperatura em torno de 0°C. Essa etapa tem como objetivo a diminuição da temperatura interna das peças de presunto.

3.2.13. Congelamento superficial

As peças de presunto antes de serem fatiadas devem ser congeladas superficialmente, para que no momento do fatiamento sejam obtidas fatias uniformes. Esse processo pode ser realizado de diversas formas: câmaras ou túneis de congelamento. Essa camada de gelo superficial, geralmente apresenta uma temperatura menor que - 2°C para os presuntos. Deve se tomar o cuidado com o binômio tempo/temperatura nesse processo, pois caso haja congelamento por inteiro das peças, o produto estará condenado ao fatiamento.

3.2.14. Descasque

O descasque consiste em retirar a embalagem primária que envolve o produto, sendo realizado manualmente ou por meio de equipamentos específicos para esta finalidade (Vanin, 2013). Se ocorrer o descongelamento da camada superficial, as peças devem retornar ao congelamento. Se houver qualquer risco de contaminação cruzada durante o armazenamento e transporte das peças até o setor de fatiamento, estas devem ser novamente sanitizadas para entrar na sala de fatiamento.

3.2.15. Fatiamento

As peças de presunto passam por máquinas que possuem facas que executam os cortes para obtenção das fatias. Geralmente o contato manual dos operadores nesse momento é mínimo e as indústrias denominam essas áreas como de “alto risco”, devido ao risco elevado de contaminação, e não há etapa posterior que elimine esse perigo. Essas salas devem ser dotadas de pressão

positiva, para que não haja qualquer entrada de ar externo, e o ar insuflado deve ser filtrado. O acesso é restrito somente aos manipuladores daquele ambiente, evitando assim a contaminação cruzada de outras áreas da fábrica (Vanin, 2013).

3.2.16. Embalagem primária

Logo após o fatiamento, as porções seguem em esteira e são colocadas no filme inferior das embalagens, essas porções posteriormente recebem o filme superior. Nesse momento a máquina realiza a aplicação do vácuo nas embalagens (Vanin, 2013).

Figura 4. Etapa de embalagem primária. Fonte: Arquivo pessoal



3.2.17. Embalagem secundária

Após saírem da área de “alto risco”, os produtos são acondicionados nas embalagens secundárias, que podem ser de papelão ou caixas plásticas. Nesse momento é feita, por amostragem, a inspeção das embalagens, verificando a qualidade do vácuo exercido na embalagem e também a rotulagem. Algumas indústrias adotam ainda testes para verificar a existência de micro furos nas embalagens, chamado “teste de borracheiro”, que consiste em perfurar a embalagem e imprimir ar dentro da mesma numa cuba contendo água. Caso haja presença de bolhas na água é sinal que a embalagem está com saída de ar.

3.3. Legislações aplicadas a produção de presunto cozido fatiado

O Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) publicou, em 29 de março de 2017, o Decreto nº 9.013 que instituiu o novo Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. Este Decreto regulamenta a Lei nº 1.283, de 18 de dezembro de 1950, e a Lei nº 7.889, de 23 de novembro de 1989, que dispõem sobre a inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal. Esse decreto, em seu artigo nº 74 determina que é de responsabilidade dos estabelecimentos a implantação, manutenção, monitorização e verificação dos programas de autocontrole (PAC's); os programas devem contar com registros sistematizados e auditáveis que comprovem o atendimento aos requisitos higiênico-sanitários e tecnológicos. Esses programas incluem as Boas Práticas de Fabricação (BPF), os Procedimentos Padrões de Higiene Operacional (PPHO) e a Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC).

A Portaria nº 368 do MAPA (Brasil, 1997) aprovou o Regulamento Técnico sobre as Condições Higiênico-Sanitárias e de Boas Práticas de Fabricação para Estabelecimentos Elaboradores/Industrializadores de Alimentos. Essa legislação definiu os requisitos gerais de higiene e de boas práticas de elaboração para alimentos elaborados/industrializados, abrangendo desde os cuidados com matéria prima, o processamento e a distribuição desse produto.

As BPF dentro do âmbito da garantia da qualidade fazem parte de um programa de pré-requisitos que tem ainda, os Procedimentos Padrões de Higiene Operacional (PPHO) e Procedimentos

Operacionais Padronizados (POP's). Todos esses programas quando bem implementados na indústria podem conceber a implantação do sistema APPCC.

Em razão da necessidade de atendimento a tratados comerciais internacionais no âmbito da Organização Mundial do Comércio (OMC), em alinhamento ao *Codex Alimentarius*, bem como no MERCOSUL, o MAPA instituiu o APPCC por meio da Portaria nº 46 (Brasil, 1998), que determinou sua implantação de forma gradativa nas unidades industriais no país.

O APPCC foi desenvolvido para controlar perigos, entre os quais, os microbiológicos, principalmente os micro-organismos patogênicos ao ser humano, seja monitorando a sua presença ou a de indicadores de qualidade em diferentes fases do processo produtivo, sobretudo nos pontos críticos de controle (Hogue et al., 1998). Esse sistema foi utilizado pela primeira vez, nos anos 60, pela *Pillsburg Company*, de forma conjunta com a NASA (*National Aeronautics and Space Administration*) e o *U.S. Army Laboratories* em Natick, com o objetivo de desenvolver um programa de qualidade que, utilizando algumas técnicas, desenvolvesse o fornecimento de alimentos para os astronautas da NASA (Bennet, Steed, 1999). Esse sistema quando implementado nas indústrias de produtos de origem animal faz parte dos programas de autocontrole, que são procedimentos descritos, desenvolvidos, implantados, monitorados e verificados pelo estabelecimento, com vistas a assegurar a inocuidade, a identidade, a qualidade e a integridade dos seus produtos (Brasil, 1997).

No monitoramento microbiológico, as fábricas devem seguir os limites estabelecidos pela Resolução RDC nº12 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (Brasil, 2001). Essa Resolução estabeleceu como critérios microbiológicos para presunto cozido, a pesquisa de coliformes termotolerantes, clostrídios sulfito redutores, *Staphylococcus* coagulase positiva e de *Salmonella* spp. (Tab. 1).

Entretanto, além destes micro-organismos outro patógeno importante de origem alimentar que pode ocasionar surtos associados à ingestão de produtos cárneos é *L. monocytogenes*. Com o objetivo de monitorar e assegurar a qualidade e inocuidade dos produtos de origem animal prontos para o consumo, como o presunto cozido, o MAPA estabeleceu, por meio da Instrução Normativa nº 9, de 2009, os procedimentos de controle de *L. monocytogenes* nesses produtos (Brasil, 2009).

Tabela 1. Padrões microbiológicos para presunto cozido fatiado

Micro-organismo	Tolerância para amostra indicativa	Tolerância para amostra representativa			
		n	c	m	M
Coliformes a 45°C/g	10 ³	5	2	10 ²	10 ³
Clostrídios sulfito redutores	5x10 ²	5	1	10 ²	5 x 10 ²
Estafilococos coagulase positiva/g	3x10 ³	5	1	10 ³	3 x 10 ³
<i>Salmonella</i> spp/25g	Ausente	5	0	Aus	-

Adaptado RDC n. ° 12 (Brasil, 2001). n: número de unidades a serem colhidas aleatoriamente de um mesmo lote e analisadas individualmente; c: número máximo aceitável de unidades de amostras com contagens entre os limites de m e M (plano de três classes). Nos casos em que o padrão microbiológico seja expresso por "ausência", c é igual a zero, aplica-se o plano de duas classes; m: limite que, em um plano de três classes, separa o lote aceitável do produto ou lote com qualidade intermediária aceitável; M: limite que, em plano de duas classes, separa o produto aceitável do inaceitável. Em um plano de três classes, M separa o lote com qualidade intermediária aceitável do lote inaceitável. Valores acima de M são inaceitáveis

3.3.1. Certificações em sistema de segurança dos alimentos

Em 2016, 416 empresas de alimentos possuíam algum tipo de certificação internacional no Brasil. Quatro certificações se destacaram nesse levantamento, sendo a *Food Safety System Certification* (FSSC) 2000 a norma com maior número de adesão com 59,9% das empresas, seguida pela *British Retail Consortium* (BRC) 32,9%, *International Featured Food* (IFS) 5,5% e o *Safe Quality Food* (SQF) com 1,7% (Food Safety Brasil, 2016).

3.3.1.1. *Food Safety System Certification* (FSSC) 22000

A Certificação FSSC 22000 fornece uma estrutura para gerenciar com eficácia as responsabilidades de segurança alimentar de uma determinada empresa de alimentos. A FSSC 22000 é totalmente reconhecida pela Iniciativa Global de Segurança Alimentar (GFSI) e baseia-se nas Normas ISO existentes. Essa norma está presente em mais de 18.000 organizações de mais de 140 países alcançaram a certificação FSSC 22000. Com mais de 110 auditores em todo o mundo, sua missão é fornecer uma plataforma de garantia de marca confiável para a indústria de bens de consumo (FSSC 22000, 2019).

3.1.1.2. *British Retail Consortium (BRC)*

Outra normativa que compõe os programas de qualidade no mundo é a norma *BRC Food (British Retail Consortium)*, que surgiu em 1998 no Reino Unido, a qual é considerada uma norma líder na certificação de programas de qualidade, presente em mais 21.000 fornecedores em 90 países. Essa certificação foi desenvolvida para estabelecer critérios de higiene dos alimentos, o que permite as empresas demonstrarem o controle e a responsabilidade legal para garantir a segurança nos produtos e nos consumidores (Canalis, 2014).

3.1.1.3. *International Featured Food (IFS)*

O IFS é uma norma padrão de qualidade muito difundida na União Europeia. O foco dessa norma está em certificar toda a cadeia de suprimentos de uma marca alimentícia, passando pela indústria, logística até chegar ao varejo. Bem como as normas anteriores, a empresa que adere a esse programa passa por auditorias de segurança e qualidade. Ocorrem ainda re-auditorias para a manutenção ou não da certificação a cada 12 meses (Global Food Safety Research, 2019)

3.1.1.4. *Safe Quality Food (SQF)*

A certificação SQF atende às necessidades de todos os fornecedores da indústria de alimentos por meio de um sistema de certificação reconhecido internacionalmente, com ênfase na aplicação sistemática de HACCP para o controle de riscos à segurança de alimentos. A implantação de um sistema de gerenciamento de SQF atende aos requisitos de segurança alimentar do comprador e fornece a solução para empresas que fornecem os mercados de alimentos locais e globais. (SQF Institute, 2019)

3.4. Micro-organismos de importância em indústrias de produtos cárneos

3.4.1 Micro-organismos mesófilos aeróbios

Micro-organismos mesófilos aeróbios são bactérias que necessitam de oxigênio para sobreviver e que crescem em temperaturas entre 10 a 45°C, sendo sua temperatura ótima em torno de 30 e 40 °C (Menezes, 2013).

A presença desses micro-organismos em altas contagens nos alimentos ou nas superfícies pode indicar falhas nos processos de higienização, de manutenção da cadeia de frio e de controle da matéria-prima. Por isso sua contagem fornece uma estimativa da população microbiana total. São empregados para indicar a qualidade sanitária do alimento e, portanto dependendo das quantidades, demonstram a insalubridade deste (Franco; Landgraf, 1996).

Além disso, vários agentes deteriorantes e patogênicos compõem esse grupo. Dessa maneira, grandes contagens podem indicar tanto diminuição da vida de prateleira do produto quanto um risco à saúde dos consumidores.

3.4.2 Coliformes totais e termotolerantes

Os micro-organismos do grupo dos coliformes, representados pelos gêneros *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter* e *Klebsiella*, são pertencentes à família Enterobacteriaceae e incluem bactérias Gram negativo na forma de bastonetes retos, não esporogênicas, anaeróbias facultativas e oxidase negativo.

Distribuídos amplamente na natureza, esses micro-organismos são encontrados no solo, água, plantas e no trato intestinal de seres humanos e animais e indicam possível contaminação por enteropatógenos (Franco; Landgraf, 1996). Sua presença em água e alimentos não representa, necessariamente, contaminação fecal, mas em alimentos processados indica contaminação pós-sanitização ou pós-processamento, sugerindo higienização insatisfatória na planta de processamento (Silva; Junqueira; Silveira, 2001).

Os coliformes podem ser divididos em dois grupos: os coliformes totais que são capazes de fermentar a lactose com produção de gás a 35°C, e os coliformes termotolerantes, também conhecidos como coliformes fecais, que fermentam a lactose com produção de gás a 45°C (Andrade, 2014).

A contagem de coliformes totais é utilizada para avaliar as condições sanitárias, sendo que altas contagens significam contaminação pós-processamento, limpezas e sanificações deficientes, ou multiplicação durante o processamento ou estocagem (Splittstoesser; Vanderzant, 1992; Frazier, 1993; Pardi; Santos; Souza, 1995; Silva, 1995; Silva et al., 2007). O grupo dos coliformes

termotolerantes é um subgrupo da família Enterobacteriaceae, sendo o gênero *Escherichia* o melhor indicador relacionado à contaminação fecal.

3.4.3 Gênero *Clostridium*

O gênero *Clostridium* compreende um grupo de micro-organismos pertencentes a família Clostridiaceae, possuem formato de bastonetes, são ubíquos, anaeróbios, Gram positivo, formadores de esporos (Jay, 2005). São habitantes naturais do solo e do trato intestinal de seres humanos e de outros animais de sangue quente (Brynstad; Granum, 2002). Algumas espécies são patogênicas, causando doenças chamadas de clostridioses, que são infecções e intoxicações que acometem animais e humanos devido à produção de toxinas (Hatheway, 1990). Duas espécies são relacionadas à doenças transmitidas por alimentos, *Clostridium botulinum* e *Clostridium perfringens*. Sendo a primeira relacionada à ingestão de uma exotoxina solúvel, altamente tóxica produzida pelo micro-organismo ao multiplicar-se no alimento. Com base na especificidade sorológica de suas toxinas, sete tipos são conhecidos: A, B, C, D, E, F e G. Os tipos de A a G causam doença em humanos. Já o *C. perfringens* é a espécie desse grupo mais relatada em surtos envolvendo alimentos. Com base na sua capacidade de produzir determinadas exotoxinas, cinco tipos são conhecidos: A, B, C, D e E. Dentre esses, *C. perfringens* do Tipo A e do Tipo C vem sendo mais evidenciados em intoxicações alimentares, principalmente em alimentos à base de carne preparados em um dia e consumidos no dia seguinte (Jay, 2005). A temperatura ótima para crescimento é de 37 a 45°C e o pH próximo à neutralidade, cerca de 7 (Blaschek; Solberg, 1981). Entretanto, na forma esporulada, os clostrídios podem sobreviver às extremas variações de temperatura e acidez.

3.4.4. Gênero *Staphylococcus*

As bactérias do gênero *Staphylococcus* pertencem ao filo Firmicutes, classe Bacilli, ordem Bacillales e família Staphylococcaceae. Possuem formato de cocos esféricos, não esporulados, imóveis, Gram positivo, catalase positivo. O gênero *Staphylococcus* possui 47 espécies e 24 subespécies, sendo que 17 delas podem ser isoladas de amostras biológicas humanas. Estes micro-

organismos estão amplamente distribuídos na natureza, sendo classificados como ubíquos, também fazem parte da microbiota autóctone da pele e mucosas do homem e de animais, além de serem encontrados também em outros sítios anatômicos. Existem cinco espécies a serem consideradas como potenciais patógenos humanos: *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. saprophyticus*, *S. haemolyticus* e *S. hominis*, entretanto os três primeiros são os mais isolados (Euzéby, 2019; Jay, 2005; Kloos; Schleifer; Götz, 1991; Koneman et al., 2001).

Os micro-organismos do gênero *Staphylococcus* estão divididos em dois grupos: *Staphylococcus* coagulase positiva (SCP) e *Staphylococcus* coagulase negativa (SCN). O primeiro grupo é capaz de produzir uma enzima chamada coagulase, que é responsável pela conversão do fibrinogênio do plasma sanguíneo em fibrina. Algumas espécies assumem papel de destaque nesse grupo como: *S. aureus*, *S. delphini*, *S. intermedius*, *S. schleiferi* e algumas linhagens de *S. hyicus*. Já o grupo SCN inclui todas aquelas espécies que não produzem a enzima coagulase, destacando-se *S. epidermidis*, *S. simulans* e *S. capiti*, entre outros (Bannerman; Peacock, 2007; Madigan; Martinko; Parker, 2004).

Na microbiologia de alimentos, *S. aureus* merece destaque pela sua frequência e devido às intoxicações alimentares causadas pelo consumo de alimentos contendo enterotoxinas termoestáveis (De Freitas, 2004). Durante muitos anos *S. aureus* foi considerado a única espécie do gênero *Staphylococcus* capaz de produzir enterotoxinas, bem como de produzir coagulase. Posteriormente outras espécies relacionadas a surtos de intoxicação alimentar foram identificadas e, em função disso, a legislação brasileira passou a estabelecer a pesquisa e quantificação de estafilococos coagulase positiva ao invés da enumeração de *S. aureus* (Silva; Gandra, 2004). Para identificar as cepas de *S. aureus* produtoras de enterotoxinas e causadoras de intoxicação estafilocócica, muitos laboratórios utilizam a prova de coagulase, apesar da relação entre produção de coagulase e de enterotoxinas não ser absoluta (ORDEN et al., 1992).

Entre as enterotoxinas estafilocócicas, SEA, SEB, SEC, SED e SEE são consideradas as mais importantes em ordem decrescente de ocorrência (BERGDOLL, 1990). Além dessas, que são denominadas clássicas, foram descritos na literatura novos tipos: SEG, SEH, SEI, SER, SES e SET. Outras enterotoxinas, que não possuem atividade emética ou que não foram testadas para tal característica, também foram descritas, e são denominadas enterotoxinas-like (SEIs), SEIJ, SEIK, SEIL, SEIM, SEIN, SEIO, SEIP, SEIQ, SEIU, SEIV e SEIX (Argudín; Mendoza; Rodicio, 2010; Podkowik et al., 2013).

Apesar da legislação brasileira estabelecer a pesquisa apenas de SCP, a produção de enterotoxinas por SCN, já foi relatada (Santana; Beloti, 2010). Além disso, micro-organismos SCN vêm sendo

relatados nas últimas décadas em doenças humanas, sendo causadores de infecções pediátricas, cutâneas, do trato urinário, endocardite, dentre outras (Koneman *et al.* 2010).

3.4.5. Gênero *Salmonella*

O gênero *Salmonella* pertence ao filo Proteobacteria, classe Gamaproteobacteria, ordem Enterobacteriales e família Enterobacteriaceae (Euzéby, 2019). São representados por bacilos Gram negativo pequenos (0,7 a 1,5 por 2,0 a 5,0 micras), mesófilos, com temperatura ótima de crescimento entre 35°C e 37°C.

De acordo com a técnica de hibridização de DNA, o gênero *Salmonella* é dividido em duas espécies: *Salmonella enterica* e *Salmonella bongori*. *Salmonella enterica* é subdividida em seis subespécies: *Salmonella enterica* subsp. *enterica*; *Salmonella enterica* subsp. *salamae*; *Salmonella enterica* subsp. *arizonae*; *Salmonella enterica* subsp. *diarizonae*; *Salmonella enterica* subsp. *houtenae*; *Salmonella enterica* subsp. *indica*. As salmonelas podem ser classificadas também de acordo com a especificidade do hospedeiro e as características clínicas da infecção. Neste caso, *Salmonella enterica* subsp. *enterica* pode ser dividida em três categorias: as que afetam exclusivamente o homem como os sorotipos *S. Typhi* e *S. Paratyphi*, as que afetam os animais como os sorotipos *S. Cholerasuis*, *S. Pullorum* e *S. Gallinarum* e os sorotipos *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, que são alguns dos sorotipos zoonóticos e atingem tanto homens como animais, podendo levar a quadros de gastroenterite (Lax *et al.*, 1995; Jay, 2005; Euzéby, 2019;)

Salmonella spp. está presente em diversos ambientes, como no solo, água, ar e equipamentos, mas é no trato intestinal dos seres humanos e animais que encontra seu habitat natural (Silva; Ramalho, L.S.; Figueiredo, 2004). Quando a temática é o ambiente industrial, *Salmonella* spp. representa um perigo importante, pois é capaz de estabelecer biofilmes nos equipamentos (Joseph *et al.*, 2001). A transmissão para o homem ocorre, normalmente, pela ingestão de água e alimentos contaminados. Diversos alimentos estão incriminados na transmissão desse patógeno, como alimentos crus, processados, mal cozidos ou com presença de contaminação cruzada.

3.4.6. Gênero *Listeria*

O gênero *Listeria* contém 17 espécies: *L. monocytogenes*, *L. seeligeri*, *L. ivanovii*, *L. welshimeri*, *L. marthii*, *L. innocua*, *L. grayi*, *L. fleischmannii*, *L. floridensis*, *L. aquatica*, *L. newyorkensis*, *L. cornellensis*, *L. rocourtiae*, *L. weihenstephanensis*, *L. grandensis*, *L. riparia*, and *L. booria* (Orsi e Wiedmann, 2016). Dessas espécies, somente *L. ivanovii* e *L. monocytogenes*, são consideradas patogênicas para o homem e outros animais (Orsi e Wiedmann, 2016), sendo *L. monocytogenes* comumente associada à listeriose humana (Hitchins, 2003). Essas são bacilos Gram positivos não formadores de esporos, comuns no ambiente, têm habilidade de crescer em uma ampla faixa de pH (4,3 a 9,6) e temperatura (1 a 45°C) e concentração de sal acima de 10% (Seeliger; Jones, 1986). A listeriose tem como agente causal *L. monocytogenes*, e a quantidade mínima de bactérias capaz de gerar a doença não está claramente definida, visto que pode variar em função da linhagem e da susceptibilidade do indivíduo exposto. A transmissão dessa bactéria por alimentos foi demonstrada por Schlech et al. 1983, que relataram um surto de listeriose humana que ocorreu em 1981, em Halifax, no Canadá, provocado por ingestão de salada de repolho contaminada (Schlech et al., 1983). É um patógeno de característica ubíqua, com isso representa um risco por toda cadeia alimentar.

A listeriose humana possui características muito particulares, como longo período de incubação, variando de 1 a 3 semanas em média, podendo chegar de 3 a 70 dias e o tropismo pelo sistema nervoso central o que representa um risco com relação à epidemiologia dos casos (Mccollum et al., 2013). *Listeria* spp., em específico *L. monocytogenes* apresenta habilidade de sobreviver e crescer em produtos embalados a vácuo e com atmosfera modificada sob temperatura de refrigeração, e tem sido reportada mundialmente nos produtos prontos para o consumo (Huss; Jørgensen; Vogel, 2000).

Embora a infecção por *L. monocytogenes* seja relativamente rara, ela tem a segunda maior taxa de fatalidade 21% e a maior taxa de hospitalização 90% de todos os patógenos de origem alimentar (Zhang et al., 2004). A probabilidade de uma gestante ser infectada por *L. monocytogenes* é quatorze vezes maior do que uma mulher não gestante pertencente à população saudável, sendo que este aspecto está relacionado à diminuição do mecanismo de imunidade requerida para manter a gravidez, é o que relata Lenhart et al., (2008).

Mccollum et al. (2013) retrataram a gravidade da listeriose humana em surto envolvendo melão, nos Estados Unidos em 2013, o qual envolveu 28 estados, infectando 147 pessoas, com 33 óbitos

e um aborto espontâneo. A maioria dos pacientes tinha mais de 60 anos e 99% dos pacientes foram hospitalizados. Todos os pacientes compraram melões inteiros oriundos de uma fazenda do estado do Colorado.

Os alimentos considerados de risco elevado para a transmissão de listeriose são aqueles que têm potencial para contaminação e multiplicação por *L. monocytogenes*, como alimentos prontos para o consumo que possuem vida de prateleira longa em temperatura de refrigeração (Rocourt; Jacquet; Reilly, 2000).

Por isso, várias políticas voltadas ao controle de *Listeria* nesse grupo de alimentos têm sido adotadas. Nos Estados Unidos, existe uma política de “tolerância zero” para *L. monocytogenes* em alimentos de pronto consumo (Shank et al., 1996). Da mesma forma, no Brasil, o MAPA estabeleceu o critério de ausência de *L. monocytogenes* em alimentos de pronto consumo (Brasil, 2009). No Canadá e em alguns países europeus, as normas variam entre produtos alimentícios: <100 unidades formadoras de colônia (UFC) por grama são toleradas em alimentos que não são adequados para o crescimento de *Listeria* spp., e um padrão de tolerância zero foi adotado para alimentos que sustentam o crescimento e que possuem vida útil prolongada (Comissão Europeia et al., 2007; Canada Health, 2011).

A presença de *L. monocytogenes* em produtos cárneos pode advir desde a matéria-prima já contaminada, passando pelo processamento ou tratamento térmico inadequado e por contaminação cruzada com alimentos crus não processados (Chasseignaux et al., 2001). Vários estudos no mundo relatam a ocorrência de *L. monocytogenes* em alimentos, seja nas unidades industriais processadoras, seja no ponto de venda no comércio.

Entre os anos de 1989 a 1999, os índices de *L. monocytogenes* monitorados pelo Serviço de Inspeção e Segurança de Alimentos (Food Safe and Inspection Service, FSIS) dos Estados Unidos revelaram os seguintes dados: 2% a 3% de positividade em carne bovina cozida, 2% a 5% em salsichas, 1% a 3% em carne de aves cozida e 1% a 5% em saladas com carnes. Para produtos fatiados, esse mesmo estudo revelou taxas de 4,2% a 7,8% (Tompkin, 2002).

A capacidade de *L. monocytogenes* multiplicar-se em alimentos prontos para o consumo mantidos sob refrigeração é também motivo de atenção, uma vez que, de acordo com o modelo preditivo desenvolvido conjuntamente pelo *Health and Human Services* (HHS) e pelo USDA (USDHHS, 2003), a maioria (82,9%) dos casos de doença está associada ao consumo de alimentos que contêm elevadas populações do patógeno.

3.5. Qualidade microbiológica de presunto cozido fatiado

A avaliação microbiológica dos produtos, por parte da unidade produtora, é uma prática que deve estar contemplada nos programas de autocontrole instituídos pelo MAPA. Para isso deve-se estabelecer um cronograma de coletas para análises microbiológicas durante o ano. A frequência, os produtos e os pontos que devem ser avaliados ficam a cargo do Controle de Qualidade de cada estabelecimento. É importante que tanto os produtos quanto os processos estejam sendo monitorados.

Diversos autores realizaram estudos de qualidade microbiológica de presunto cozido, havendo variações acerca dos micro-organismos pesquisados, dos locais que foram coletadas as amostras (indústria ou varejo), da apresentação do produto (peças de matéria prima ou fatiado) e quais amostras foram coletadas (produtos ou de superfícies).

Em um estudo realizado em supermercados da Bélgica, nos anos de 1997 a 1998, foram avaliados diversos produtos cárneos, incluindo 1069 amostras de peças de presunto cozido antes do fatiamento e 879 após esse processo. *L. monocytogenes* foi detectada em 1,4% e 6,14% das amostras antes e após o fatiamento, respectivamente, evidenciando possíveis falhas de boas práticas de fabricação durante o fatiamento do produto (Uyttendaele; De Troy; Debevere, 1999).

Cordano e Rocourt (2001), entre os anos de 1990 e 1997, avaliaram a presença de *L. monocytogenes* em amostras recebidas para controle de rotina no Instituto de Saúde Pública do Chile. Foram analisadas 31 amostras de presunto cozido e o micro-organismo foi encontrado em uma (3,22%) amostra de presunto.

Em Portugal, no período de 1998 a 2000, foram avaliadas 429 amostras de produtos prontos para consumo e alimentos não processados, e os resultados revelaram 9,0% (39/429) de positividade de *L. monocytogenes* para o total de amostras, sendo que os tipos que apresentaram maior positividade foram: 25,0% (16/65) frango cru, 24,0% (8/34) queijos e 21,0% (10/47), produtos cárneos prontos para consumo, sendo o presunto incluído nesse grupo. Os autores reforçaram que a contaminação dos produtos ocorreu antes da chegada ao varejo, uma vez que os produtos já chegaram fatiados e embalados, e que esses dados devem servir de incentivo para a implementação de programas como o APPCC na produção de alimentos naquele país (Guerra, Mclauchlin e Bernardo, 2001)

Araujo et al. (2002) realizaram a pesquisa de *L. monocytogenes* em 40 amostras de produtos cárneos a base de peru, sendo 10 amostras de blanquet inteiro, 10 amostras de blanquet fatiado, 10 amostras de presunto inteiro e 10 de presunto fatiado. Nas peças inteiras não foi encontrada a presença do patógeno, entretanto o micro-organismo foi encontrado em 50% (5/10) e 60% (6/10) das amostras de blanquet e presunto fatiados, respectivamente.

Willis e Greenwood (2003) avaliaram a qualidade microbiológica de 2037 amostras de alimentos diversos, sendo 439 de produtos cozidos fatiados no varejo da região de Wessex na Inglaterra durante 30 meses. A frequência de amostras de produtos fatiados com contagens acima de 100 UFC/g foi de 2,2% para *E. coli* e de 0,2% para *Clostridium perfringens*. Ao avaliar as contagens de *S. aureus*, 0,2% das amostras apresentaram contagens acima de 10^4 UFC/g e nas contagens de *L. monocytogenes*, 0,2% das amostras apresentaram níveis superiores a 100 UFC/g.

Gianfranceschi et al., (2003) relataram a presença de *L. monocytogenes* em 12,8% de 4.185 amostras de alimentos diversos na Itália. Dessas, nos produtos prontos para o consumo a positividade foi de 17,3%. Nesse mesmo estudo, foram avaliadas também 958 amostras ambientais de superfícies de plantas processadores de alimentos e o micro-organismo foi encontrado em 6,1% das amostras.

Outro estudo que avaliou a qualidade de diversos produtos prontos para o consumo, inclusive presunto cozido fatiado foi realizado no Reino Unido e relatado em 2004. Foram avaliadas 2984 amostras de carnes refrigeradas, dentre essas 1423 de presunto fatiado. As amostras foram coletadas de 2288 estabelecimentos (630 restaurantes, 1658 lojas), e enviadas para 38 laboratórios. Diversas análises foram realizadas, incluindo a contagem de coliformes termotolerantes (*E. coli*), detecção presuntiva de *L. monocytogenes* e *Salmonella* spp. O autor estabeleceu critérios de avaliação dos resultados (satisfatório, aceitável, insatisfatório e inaceitável) das amostras com base nas contagens dos micro-organismos, entretanto esses critérios diferiam dos padrões estabelecidos na legislação brasileira. Como resultado, obteve-se 16% das amostras de presunto impróprias para o consumo (Elson et al., 2004).

Em estudo realizado na cidade de Navarra na Espanha, foram coletadas 3685 amostras de diversos alimentos em indústrias e mercados da cidade para a pesquisa de *L. monocytogenes*. Deste total foram coletadas 396 amostras de produtos cozidos fatiados (presunto, presunto de peru, mortadela). Os autores detectaram o micro-organismo em 35 amostras (8,8%) e relataram

que o fatiamento foi um ponto crítico, pois nessa etapa pode ocorrer a transferência do patógeno de produtos contaminados para presuntos inócuos (Vitas; Garcia-Jalon, 2004).

Wong et al. (2005) coletaram 104 amostras de presunto embalado no comércio varejista de três cidades da Nova Zelândia entre abril de 2003 e março de 2004. Dessas, apenas em uma amostra foi observada a presença de *L. monocytogenes*. O autor justifica ainda que a presença de qualquer espécie de *Listeria* em um produto cozido, como presunto, indica falha nos pontos críticos de controle no processamento (Wong et al., 2005).

Fai et al. (2007) adquiriram 40 amostras de presunto cozido de oito marcas distintas em 26 supermercados na cidade de Fortaleza para realização de análises para pesquisa de *Salmonella* spp. e *L. monocytogenes*. Os resultados encontrados por esses autores foram de 30 % (12) de amostras positivas para *Salmonella* spp. e 42,50% (17) para *L. monocytogenes*.

Mottin (2008), avaliou 300 amostras de apresuntados fatiados oriundos de três supermercados no município de Porto Alegre. Foram encontradas 18 amostras (6%) com contagens acima do estabelecido em lei para coliformes termotolerantes e 48 amostras (16%) *Staphylococcus* coagulase positiva. Para avaliação da presença de *Salmonella* spp. e *L. monocytogenes* foram utilizadas 60 amostras, dentre essas nenhuma apresentou positividade para *Salmonella* spp, entretanto foi detectada a presença de *L. monocytogenes* em 7 amostras (11,66%).

Em outro estudo, foram coletadas 13 amostras de presunto fatiado no varejo da cidade de Pelotas – RS, para realização das análises de coliformes termotolerantes, estafilococos coagulase positiva, *Clostridium* sulfito redutores e *Salmonella* spp. Os autores observaram que 3,2 % (1) das amostras estavam impróprias para o consumo na análise de coliformes; entretanto as contagens para cada micro-organismo não foram apresentadas pelos autores (Volcan; Lima; Silva, 2008).

Com objetivo de avaliar as contagens de coliformes termotolerantes e vários outros micro-organismos em presunto cozido fatiado, Serio et al. (2009) coletaram amostras de 10 estabelecimentos do comércio varejista de Fortaleza. Não foram detectadas contagens de coliformes a 45°C nesses produtos, atendendo então a legislação vigente.

Em estudo realizado no município de São Paulo, Martins (2009), avaliou a presença de *L. monocytogenes* em 65 amostras de presunto cozido fatiado embalados à vácuo em hipermercados e supermercados da cidade. Esses produtos eram processados e embalados em indústrias com

regimento de inspeção federal. Os autores encontraram uma (1,6%) amostra de presunto fatiado positiva para *L. monocytogenes*.

Menezes, Coelho e Costa (2010) avaliaram 30 amostras de presuntos fatiados no varejo de São Luís/Maranhão. A pesquisa teve como objetivo determinar a contagem de coliformes termotolerantes e clostrídios sulfito redutores e também avaliar a presença de *Staphylococcus* coagulase positiva e *Salmonella* spp. Todos os parâmetros dessas análises estavam em acordo com o exigido pela RDC n°12/2000.

Pérez-Rodríguez et al. (2010) avaliaram a condição higiênica de diversos supermercados na cidade de Córdoba na Espanha, bem como a qualidade microbiológica de presunto cozido nesses locais. Foram coletadas 68 amostras e a presença de coliformes termotolerantes (*E. coli*) foi observada em 11,76% (8) das amostras, com contagens abaixo de $1,0 \times 10^1$ UFC/g; 4,41% (3) das amostras foram positivas para *L. monocytogenes* e a contagem média de *Staphylococcus* coagulase positiva foi de $3,88 \pm 1,06$ log UFC/g. Os autores relacionaram a sazonalidade e a variação de temperatura durante o ano para as diferenças de contagens de coliformes, sendo que nas épocas com temperaturas altas as contagens para esses indicadores estiveram maiores. A presença de *L. monocytogenes* nas amostras foi associada a falhas de boas práticas de fabricação. Já as altas contagens de *Staphylococcus* coagulase positiva decorreram principalmente da pouca frequência de higienização das mãos dos colaboradores durante a manipulação.

Em estudo realizado por Wanderley et al. (2016), foram realizadas análises de coliformes totais e termotolerantes, de 56 amostras de presunto cozido fatiado, de nove marcas distintas em quatro supermercados de Francisco Beltrão no Paraná. Dessas, 10,52% estavam contaminadas por coliformes termotolerantes e 40,35% por coliformes totais. Com exceção das amostras contaminadas por coliformes termotolerantes, impróprias para consumo, as demais estiveram dentro dos parâmetros preconizados pela legislação vigente (Brasil, 2001). Apesar da legislação vigente não estabelecer padrões para coliformes totais neste produto, esses micro-organismos são considerados indicadores de condições higiênico-sanitárias inadequadas (Franco; Langraf, 2005). Com base nesses resultados os autores concluíram que as más condições de processamento e higiene favoreceram a multiplicação desses micro-organismos.

Salvagni Neto (2018) avaliou as condições das instalações dos estabelecimentos, nível de conhecimento dos manipuladores e a qualidade microbiológica de 30 amostras de presunto e mussarela em uma rede de supermercados no estado de São Paulo. Dentre as análises, foram

realizadas a pesquisa de *Salmonella* spp, contagem de coliformes termotolerantes, e *Staphylococcus* coagulase positiva. Nas 30 amostras analisadas, não foi detectada a presença de *Samonella* spp. e a contagem de coliformes termotolerantes foi <3 NMP em todas as amostras avaliadas. Nas análises para a pesquisa de *Staphylococcus* coagulase positiva não foram encontrados valores acima do estabelecido na RDC nº 12 da ANVISA para presunto, que é de 10^3 UFC/g.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Obtenção das amostras

Para a realização das análises, foram coletadas 30 amostras de presunto cozido fatiado embalado a vácuo, de 30 lotes distintos de produção, diretamente de uma unidade de beneficiamento de carne e produtos cárneos, registrada no Serviço de Inspeção Federal (SIF). As coletas foram realizadas uma hora após o início do fatiamento do presunto.

Figura 5. Amostras de presunto cozido fatiado. Fonte: Arquivo pessoal



Além das amostras de presunto cozido fatiado, foram coletados também *swabs* de superfícies de equipamentos e utensílios utilizados no processo de fatiamento do presunto cozido. As coletas de amostras de *swabs* foram realizadas sempre imediatamente antes do início da produção de cada um dos 30 lotes de presunto cozido fatiado para avaliar as condições higiênico-sanitárias do ambiente industrial e a eficiência do PPHO da indústria. Os *swabs* foram coletados em cinco locais considerados críticos do ponto de vista da higienização (esteira da termoformadora, esteira da fatiadora, faca, garra e ralo), utilizando gabaritos estéreis de 100 cm² para as superfícies das esteiras e ralos de 20 cm² para as superfícies das facas e garras, totalizando 150 amostras.

Figura 6. Amostras de *swabs* coletadas de superfícies de equipamentos. Fonte: Arquivo pessoal



Após as coletas, as amostras foram acondicionadas em caixas isotérmicas e mantidas sob refrigeração com gelo reciclável durante o transporte para o laboratório onde foram realizadas as análises.

4.2. Análises microbiológicas

4.2.1. Enumeração de coliformes termotolerantes

Para as análises de coliformes termotolerantes foi empregada a técnica descrita no Manual de Métodos Oficiais para Análise de Alimentos de Origem Animal do MAPA (Brasil, 2018). Uma alíquota de 25g ± 0,2g do produto foi pesada e adicionada à 225 mL de solução salina peptonada 0,1%. Em seguida, a amostra foi homogeneizada durante 60 segundos em “stomacher”, obtendo-

se a diluição de 10^{-1} . A partir dessa diluição, foram preparadas diluições seriadas para a obtenção das demais diluições utilizadas nas análises (10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3}). Após esta etapa foi feito o plaqueamento em sobrecamada, transferindo-se 1 mL de cada diluição para placas de Petri estéreis que foram adicionadas de aproximadamente 15 mL de ágar VRBA fundido. As placas foram homogeneizadas e após a solidificação do meio foram adicionados mais 10 mL de Ágar Violeta Vermelho de Dextrose Bile (VRBA) fundido. Em seguida, as placas foram incubadas em posição invertida a temperatura de $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 horas. Após esta etapa, placas contendo entre 15 e 150 colônias foram selecionadas para a realização de provas confirmativas. De cada placa, foram selecionadas de três a cinco colônias típicas e atípicas que foram transferidas para tubos contendo caldo verde brilhante bile 2% lactose (VB). Os tubos foram incubados a $36^\circ \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 a 48 horas e aqueles que apresentaram formação de gás no tubo de Durham ou efervescência quando agitados foram inoculados em tubos contendo caldo EC, que foram incubados a $45 \pm 0,2^\circ\text{C}$ por 24 a 48 horas em banho maria, para confirmação da presença de coliformes termotolerantes.

4.2.2. Enumeração de bactérias sulfito redutoras

Para as contagens de clostrídios sulfitos redutores foi utilizada a metodologia descrita na ISO 15213:2003 (ISO, 2003). Foram pesados $25\text{g} \pm 0,2\text{ g}$ de amostra que foram adicionados de 225 mL de solução salina peptonada 0,1% e homogeneizados para a obtenção das diluições 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} . Em seguida, transferiu-se 1 mL de cada diluição para placas de Petri que foram adicionadas de aproximadamente 15 mL de Ágar Tryptose Sulfito Cicloserina (TSC). Após a solidificação do meio, adicionou-se mais uma camada de aproximadamente 10 mL do mesmo meio e, após a secagem desta segunda camada, as placas foram incubadas em jarras de anaerobiose em estufa a 37°C durante 48 horas.

4.2.3. Contagem de *Staphylococcus coagulase positiva*

As análises de *Staphylococcus coagulase positiva* foram realizadas com base na metodologia descrita na norma ISO 6888-1:1999 (ISO, 1999). Foram pesados $25\text{g} \pm 0,2\text{ g}$ de presunto que foram diluídas em 225 mL de solução salina peptonada a 0,1% e homogeneizados para a obtenção das diluições 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} . Em seguida, 0,1 mL de cada diluição foi inoculado em ágar Baird

Parker e incubadas por 48 ± 2 horas a $37 \pm 1^\circ\text{C}$. Passado o período, realizou-se a leitura das placas, selecionando cinco colônias típicas e cinco atípicas para a realização dos testes bioquímicos. Cada colônia foi transferida para tubos de ensaios contendo caldo *Brain Heart Infusion* (BHI) que foram incubados por 24 ± 2 horas à temperatura de $37 \pm 1^\circ\text{C}$. Posteriormente adicionou-se 0,1 mL de cada cultura à 0,3 mL de plasma de coelho e os tubos foram incubados novamente por um período de 4 a 6 horas a $37 \pm 1^\circ\text{C}$. Após esse período, a leitura final foi realizada, levando em consideração, como resposta positiva a coagulação do plasma, ou a não coagulação como resultado negativo.

4.2.4. Pesquisa de *Salmonella* spp.

A pesquisa de *Salmonella* spp., foi realizada de acordo com a metodologia descrita na ISO 6579-1:2017 (ISO, 2017). Uma alíquota de $25 \text{ g} \pm 0,2 \text{ g}$ de presunto cozido fatiado foi adicionada à 225 mL de água peptonada tamponada 1 %. As amostras foram homogeneizadas e incubadas em estufas a $37 \pm 1^\circ\text{C}$ por 18 ± 2 horas. A partir do procedimento de pré-enriquecimento estabelecido, alíquotas de 0,1 mL e 1 mL de cada amostra foram inoculadas em tubos contendo 10 mL de caldo Rappaport Vassiliadis (Difco) e 10 mL de caldo Tetrionato Muller-Kauffmann, respectivamente. Os tubos contendo Rappaport Vassiliadis foram incubados a $41,5 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 ± 3 horas e os tubos de caldo Tetrionato foram incubados a $37 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 ± 3 horas. Após esta etapa de enriquecimento seletivo, estriaram-se alíquotas de cada tubo em placas contendo ágar xilose lisina desoxicolato (XLD) (Oxoid) e ágar Hektoen (Oxoid), que foram incubadas de forma invertida por 24 ± 3 horas a $37 \pm 1^\circ\text{C}$ com a finalidade de obter colônias isoladas. As colônias típicas e atípicas de *Salmonella* spp., foram transferidas para placas contendo ágar nutriente (Difco) para a realização das provas de identificação bioquímica presuntiva, utilizando os meios de triagem Ágar Ferro Triplo Açúcar (TSI), Ágar Lisina Ferro (LIA) e Ágar Ureia.

4.2.5. Pesquisa de *Listeria monocytogenes*

A pesquisa de *Li. monocytogenes* foi realizada segundo a metodologia descrita na IN nº 62/2003 do MAPA (Brasil, 2003). Uma alíquota de $25 \pm 0,2 \text{ g}$ de amostra foi adicionada de 225 mL de caldo Universidade de Vermont modificado (UVM) e, após a homogeneização, incubada a $30 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 horas. Em seguida, transferiu-se 0,1 mL para um tubo contendo 10 mL de caldo Fraser.

Em seguida, foi realizada a incubação a 30 ± 1 °C por 24 a 48 horas. Após esta etapa, as amostras foram repicadas para placas contendo ágar triptose com ácido nalidíxico e ágar Palcam, que foram incubadas a 30 ± 1 °C por 24 a 48 horas. Para confirmação da presença de *Listeria* sp. foram realizadas a coloração de Gram, as provas da catalase, motilidade, redução de nitrato e a prova de Vermelho de Metila e Voges Proskauer (VM-VP). A diferenciação de *L. monocytogenes* foi realizada por meio das provas bioquímicas de produção de α -hemólise, CAMP teste e fermentação de carboidratos.

4.2.6. Enumeração de mesófilos aeróbios e enterobactérias

Para as análises de micro-organismos mesófilos aeróbios e enterobactérias foi utilizada a técnica de Petrifilm™. Para as contagens de micro-organismos mesófilos foram utilizadas placas Petrifilm™ *Aerobic Count Plate* (3M Company, St. Paul, Minnessota, EUA), segundo a AOAC (1990) e para enumeração de enterobactérias adotou-se o Petrifilm™ EB (3M Company, EUA), segundo a (AOAC, 2006). Para enumeração de mesófilos transferiu-se 1 mL da suspensão do teste para o centro da base do filme. Após distribuída a suspensão em todo o filme, esses foram mantidos em repouso durante um minuto para permitir que o gel se solidificasse. Em seguida, as placas foram incubadas a 35 ± 1 °C por 48 ± 3 h e foi realizada a contagem das colônias presentes nas amostras. Já para as análises de enterobactérias, adicionou-se 1 mL no Petrifilm™ *Enterobacteriaceae (EB) Count Plates*, após um minuto o mesmo foi incubado por 24 ± 2 h a 37 ± 1 °C.

4.3. Delineamento experimental e análise estatística

O ensaio das análises foi conduzido no delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC), sendo que para análises de *swabs* foram utilizados cinco tratamentos (esteira da termoformadora, esteira da fatiadora, faca, garra e ralo) com trinta repetições (dia de produção). Para as análises da qualidade microbiológica das amostras de presunto cozido fatiado foram coletadas 30 amostras, provenientes de 30 lotes distintos (dia de produção).

Para avaliar os resultados das análises das amostras de swabs de superfícies, foram testados os pressupostos de normalidade e homocedasticidade e como estes não foram atingidos, foi realizada

a transformação logarítmica dos dados. Como as variáveis não apresentaram distribuição normal e/ou homocedasticidade mesmo após a transformação logarítmica, foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis em nível de significância de 5% para a comparação dos resultados, segundo Sampaio (2002). Os dados obtidos nas análises microbiológicas das amostras de presunto foram discutidos através de estatística descritiva.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das análises para contagem de micro-organismos mesófilos aeróbios e enterobactérias de amostras de *swabs* de superfícies de equipamentos estão apresentados na Tab. 2

Tabela 2. Valores mínimos, máximos e medianas das contagens de micro-organismos mesófilos aeróbios e enterobactérias de amostras de *swabs* de superfícies de equipamentos

Local	Micro-organismos mesófilos aeróbios (UFC/cm ²)			Enterobactérias (UFC/cm ²)		
	Mínimo	Máximo	Mediana	Mínimo	Máximo	Mediana
Esteira da termoformadora	< 1,0	8,0	< 1,0	< 1,0	4,0	< 1,0
Esteira da fatiadora	< 1,0	250,0	< 1,0	< 1,0	84,0	< 1,0
Faca	< 1,0	53,0	< 1,0	< 1,0	11,0	< 1,0
Garra	< 1,0	230,0	< 1,0	< 1,0	77,0	< 1,0
Ralo	< 1,0	> 300,0	< 1,0	< 1,0	> 150,0	< 1,0

Médias semelhantes pelo teste de Kruskal-Wallis ($p > 0,05$)

Conforme apresentado na Tab. 2 as medianas das contagens de mesófilos e enterobactérias nas superfícies analisadas foram menores que 1 UFC/cm². Entretanto, foram observados casos isolados de amostras que apresentaram altas contagens de mesófilos e enterobactérias, que resultaram em valores máximos variando entre 8 e >300 UFC/cm² para micro-organismos mesófilos aeróbios e de 4 a >150 UFC/cm² para as contagens de enterobactérias. Vale salientar que a legislação federal vigente no Brasil não estabelece padrões para a contagem destes micro-organismos nas superfícies de equipamentos e utensílios utilizados durante o processamento tecnológico dos produtos de origem animal, entretanto, por serem considerados indicadores de condições higiênico-sanitárias inadequadas (Franco; Landgraf, 2005) seu monitoramento nos

procedimentos de controle de qualidade é essencial. Apesar da legislação brasileira, não definir um padrão, Organização Mundial da Saúde (OMS) e a Organização Panamericana da Saúde (OPAS) estabelecem valores máximos de 50 UFC/ cm² para contagem de micro-organismos aeróbios mesófilos em áreas de processamento de alimentos.

O monitoramento microbiológico das superfícies dos ambientes produtivos nas indústrias auxilia na prevenção da ocorrência de possíveis contaminações ao produto. Nesse contexto, a contagem padrão em placas de bactérias aeróbias mesófilas é um bom método para avaliar eficiência em procedimentos de higienização nas indústrias. Seu índice, nesse caso, visa verificar se há risco de contaminação ambiental ao produto. A temperatura ótima de crescimento desses micro-organismos encontra-se entre 30°C a 40°C, entretanto pode haver crescimento em temperaturas menores. Valores altos desses micro-organismos podem indicar a presença de patógenos nas linhas de produção, cuja presença não é sensorialmente perceptível no produto final.

Já a ocorrência de enterobactérias nas amostras é indicativo da presença de coliformes totais e/ou bactérias potencialmente patogênicas que podem causar surtos de toxi-infecções alimentares. A presença desses micro-organismos pode ser decorrente de processamento inadequado, recontaminação pós-processamento, sendo os equipamentos sujos ou a manipulação sem cuidados de higiene as causas mais frequentes (Banwart, 1989; Franco; Landgraf, 2005).

Os resultados das análises para contagem de coliformes termotolerantes, clostrídios sulfito redutores e *Staphylococcus* coagulase positiva nas amostras de presunto cozido fatiado estão apresentados na Tab. 3

Tabela 3. Valores mínimos, máximos e medianas das contagens de micro-organismos em presunto cozido fatiado em ambiente industrial

Micro-organismo	Valores das contagens		
	Mínimo	Máximo	Mediana
Coliformes termotolerantes (UFC/g)	< 1,0 x 10 ¹	< 1,0 x 10 ¹	< 1,0 x 10 ¹
Clostrídios sulfito redutores (UFC/g)	< 1,0 x 10 ¹	< 1,0 x 10 ¹	< 1,0 x 10 ¹
<i>Staphylococcus</i> coagulase positiva (UFC/g)	< 1,0 x 10 ¹	< 1,0 x 10 ¹	< 1,0 x 10 ¹

De acordo com estes resultados, todas as amostras apresentaram contagens de acordo com os parâmetros estabelecidos pela Resolução - RDC n°12 da ANVISA, a qual determina o limite máximo de 10³ UFC/g para coliformes termotolerantes, 5,0 x 10² UFC/g para clostrídios sulfito

redutores e de $3,0 \times 10^3$ UFC/g para *Staphylococcus* coagulase positiva em amostras indicativas nessa categoria de produto.

Outros autores também identificaram baixas contagens desses micro-organismos em estudos avaliando a qualidade microbiológica de produtos cárneos cozidos. Em relação à pesquisa de coliformes termotolerantes, Serio et al. (2009), ao avaliarem a qualidade microbiológica de presunto fatiado comercializado em 10 estabelecimentos do comércio varejista de Fortaleza, Ceará, também não detectaram contagens de coliformes termotolerantes nesses produtos, atendendo, portanto, a legislação vigente. Menezes, Coelho e Costa (2010) avaliaram 30 amostras de presuntos fatiados no varejo de São Luís, Maranhão e todas amostras analisadas estavam de acordo com o exigido pela RDC nº12/2000 em relação às contagens de coliformes termotolerantes. Salvagni Neto (2018) ao avaliar a qualidade microbiológica de 30 amostras de presunto em uma rede de supermercados no estado de São Paulo, observou que todas as amostras apresentaram resultados para coliformes termotolerantes < 3 NMP. Willis e Greenwood (2003) ao avaliarem a qualidade microbiológica de produtos cozidos fatiados em supermercados da Inglaterra detectaram a presença de clostrídios sulfito redutores em apenas 0,2% das amostras, em um universo de 439 amostras. Em relação às análises de *Staphylococcus* coagulase positiva, Salvagni Neto (2018), avaliando a qualidade microbiológica de 30 amostras de presunto coletadas em uma rede de supermercados no estado de São Paulo, não encontraram amostras com contagens desse micro-organismo acima do estabelecido pela RDC nº 12/2000, que é de $3,0 \times 10^3$ UFC/g. Menezes; Coelho e Costa (2010) não detectaram contagens de *Staphylococcus* coagulase positiva em 30 amostras de presunto cozido fatiados coletas no comércio de São Luís, Maranhão.

Em outros trabalhos, porém, foram encontradas contagens acima do estabelecido na legislação vigente. Mottin (2008), em um estudo realizado no Rio Grande do Sul, utilizando 300 amostras de apresuntado, encontrou 6% das amostras contendo coliformes termotolerantes em contagens acima dos valores permitidos pela RDC nº 12/2000, que é de 10^3 UFC/g. Pérez-Rodríguez et al., (2010) detectaram, em um estudo realizado na Espanha, a presença de coliformes termotolerantes (*E. coli*) em 11,76% das amostras avaliadas. Wanderley et al. (2016) encontraram contagens de coliformes termotolerantes acima do valor estabelecido pela legislação (10^3) em 10,52% das amostras de presunto cozido fatiado. Quanto à pesquisa de clostrídios sulfito redutores, Voidarou et al. (2006) encontraram 8% de amostras de presunto cozido contaminados com *Clostridium perfringens*. Em relação às contagens de *Staphylococcus* coagulase positiva, Mottin (2008) encontrou 16% das amostras de apresuntado com contagens acima do estabelecido pela legislação vigente. Pérez-Rodríguez et al. (2010) encontraram o valor médio de 3.88 ± 1.06 log UFC/g na

contagem de *Staphylococcus* coagulase em um universo de 68 amostras de presunto fatiado. Micro-organismos do gênero *Staphylococcus* estão naturalmente presentes nas vias áreas, garganta, cabelos e pele de pessoas saudáveis, portanto deve-se atentar para os cuidados e hábitos higiênicos dos manipuladores no momento da produção.

Mais de 700 surtos de doenças alimentares foram investigados entre os de 1961 a 1972 por Bryan (1974), no que se refere a fatores que contribuíram para a sua ocorrência. Esse autor relacionou 16 fatores, sendo os cinco principais os seguintes: 1) Refrigeração inadequada, 2) Alimentos preparados com muita antecedência, 3) Manipuladores infectados com hábitos de higiene pessoal insuficientes, 4) Cozimento ou processamento inadequado e 5) Alimentos mantidos sob aquecimento em temperaturas que favoreceram o crescimento bacteriano. Menezes, Coelho e Costa (2010) reforçaram os cuidados que devem ser seguidos nos ambientes de produção de alimentos como uso de vestimentas adequadas, luvas, máscaras, e outros equipamentos de proteção, assim como a higienização constante das mãos dos colaboradores que trabalham diretamente com o produto.

Os valores encontrados nas contagens de coliformes termotolerantes, clostrídios sulfito redutores e *Staphylococcus* coagulase positiva nas amostras de presunto cozido avaliadas indicam que os procedimentos referentes à higienização e higiene dos colaboradores estavam sendo cumpridos de forma satisfatória. Esses micro-organismos são considerados indicadores das condições higiênico-sanitárias dos ambientes de processamento de alimentos, onde os processos de limpeza e sanitização tanto dos ambientes, equipamentos e utensílios quando não são bem executados, normalmente revelam a presença dessas bactérias. Entretanto, apesar das baixas contagens de *Staphylococcus* coagulase positiva obtidas no presente estudo, os resultados encontrados na pesquisa desse micro-organismo não afastam o risco de ocorrência enterotoxinas estafilocócicas no alimento, uma vez que *Staphylococcus* coagulase negativa também podem produzir essas toxinas (Menezes, Coelho e Costa, 2010) e levar à casos de intoxicação alimentar (Omori, G.; Kato, Y. 1959; Breckinridge; Bergdoll, 1971). Em um estudo com 88 amostras de diferentes tipos de alimentos (leite, carne, lanches entre outros), identificou-se a presença de genes para a produção de enterotoxinas de algumas linhagens de *Staphylococcus* coagulase negativa (Cunha et al., 2006).

Na indústria onde o estudo foi realizado, o PPHO era contemplado no PAC de nº8, o qual descreve toda a sistemática de higienização de todos os ambientes da unidade fabril, com a indicação dos responsáveis pelos processos de higienização, dos ambientes, equipamentos e utensílios a serem higienizados, a descrição de forma detalhada das etapas do procedimento de higienização (pré-

lavagem, lavagem e sanitização). Esse programa ainda contemplava planilhas de monitoramento a serem preenchidas diariamente pela equipe de Controle de Qualidade nos momentos de higienização pré-operacional e operacional.

O fato do processo do presunto cozido não contemplar, geralmente, após o cozimento, uma etapa que elimine ou diminua as contagens de possíveis micro-organismos, revela um risco à recontaminação. Para diminuir essa possibilidade o controle de temperatura da cadeia de frio como um todo se torna uma ferramenta essencial. Na indústria em questão, constava no PAC de nº 5, o controle de temperatura de toda a fábrica, onde por meio de planilha de monitoramento, a temperatura era registrada em quatro oportunidades durante o dia (manhã, tarde, noite e madrugada); esse monitoramento revelou uma temperatura média ambiental de $10 \pm 1^\circ\text{C}$, já em relação à temperatura do presunto em processo, revelou valores de $2 \pm 2^\circ\text{C}$.

Das 150 amostras de *swabs* coletadas, não foi detectada a presença de *L. monocytogenes*. Este resultado pode ter sido influenciado pelo método de coleta empregado, o *swab* de algodão. Em estudo realizado na Bélgica no de 2013, Lahou e Uyttendaele compararam diversos métodos de amostragem ambiental após inoculação do patógeno, o bastão de espuma apresentou 11,1% de detecção, espátula com espuma 7,4% e o esfregão ambiental 3,7%. Esses autores ainda reforçam, que apesar de não existir um método de amostragem ideal, o USDA recomenda esponjas como a técnica de amostragem ambiental (USDA, 2019), e que a seleção cuidadosa de materiais de limpeza pode aumentar a sensibilidade da análise microbiológica tradicional (Lahou; Uyttendaele, 2014). Gómez endossa essa diretriz, pois ao avaliar a eficiência de nove procedimentos de amostragem ambiental para recuperação de *L. monocytogenes* de superfícies em contato com alimentos, o *swab* com algodão apresentou eficiência de 1,01 % e 0,09 % para presença do patógeno de origem humana e do alimento respectivamente. Já a esponja apresentou taxas de eficiência de 2,81 % e 0,97 % (Gómez et al., 2012)

Os resultados das análises da pesquisa de *Salmonella* spp. e *L. monocytogenes* nas amostras de presunto cozido fatiado estão apresentados na Tab. 3.

Tabela 3. Resultados das análises da pesquisa de *Salmonella* spp. e *L. monocytogenes* nas amostras de presunto fatiado

Micro-organismo	Presença em 25 g de amostra		Ausência em 25 g de amostra	
	Frequência absoluta (n)	Frequência relativa (%)	Frequência absoluta (n)	Frequência relativa (%)
<i>Salmonella</i> spp.	1	3,3	29	96,7
<i>Listeria monocytogenes</i>	8	26,7	22	73,3

De acordo com os resultados apresentados, foi detectada a presença de *Salmonella* spp. em uma (3,3%) das 30 amostras de presunto cozido fatiado avaliadas (Tab. 4). Segundo a legislação vigente, esse micro-organismo deve estar ausente no tipo de produto avaliado. Portanto, a amostra positiva estava imprópria ao consumo.

Em estudo realizado na cidade de Fortaleza no Ceará, Fai et al. (2007) detectaram a presença de *Salmonella* spp. em 30% das amostras de presunto fatiado. Os autores reforçaram que os processos de cozimento do presunto são suficientes para destruição desse e de outros micro-organismos patogênicos. Entretanto, pode ocorrer a contaminação do produto nas etapas pós processamento, principalmente no momento do fatiamento, devido à contaminação cruzada. Faustini et al., 2003 relataram que produtos prontos para o consumo, como no caso do presunto cozido, têm sido reportados como contaminados por *Salmonella* spp., enfatizando o risco desses alimentos para a ocorrência de DTAs.

Mottin (2008), ao avaliar 60 amostras de apresuntado fatiado, também relatou a presença de *Salmonella* spp. em produtos cozidos fatiados em 3,74% das amostras avaliadas. Christison et al. (2008) encontraram uma taxa de positividade de 16% para *Salmonella* spp. em produtos prontos para o consumo na África. Porém, em estudos realizados por outros autores para avaliar a qualidade microbiológica de produtos cozidos fatiados, este patógeno não foi detectado (Menezes, Coelho e Costa, 2010; Wanderley et al., 2016; Salvagni Neto, 2018).

Nadvorny et al., (2004) analisaram a ocorrência de surtos de salmonelose transmitidas por alimentos ocorridos no Rio Grande do Sul no ano de 2000, destacando os principais alimentos envolvidos e os fatores implicados nestes surtos. Esses autores avaliaram 99 relatórios finais de investigação de surtos e verificaram que a salmonelose representou 74,4% dos surtos confirmados. Os autores observaram ainda que em 73% dos surtos, a utilização de matéria-prima sem inspeção sanitária e a manipulação incorreta dos alimentos constituiu-se em fator predisponente à contaminação por *Salmonella*.

Os resultados da pesquisa de *L. monocytogenes* nas 30 amostras de presunto cozido fatiado indicaram uma frequência de 26,6% (8) de amostras positivas (Tab. 3).

O registro da ocorrência de *L. monocytogenes* em alimentos de pronto consumo na literatura é muito variado e esse fato pode ser explicado por diversos fatores, tais como a metodologia utilizada para o isolamento, o número amostral e o local onde as amostras foram adquiridas (Farber; Peterkin, 1991).

Os primeiros relatos da presença de *L. monocytogenes* em alimentos de pronto consumo no Brasil ocorreram na década de 1990, quando Destro et al. (1991) detectaram a presença do micro-organismo em produtos cárneos, como salsicha. Guerra et al. (2001), encontraram uma frequência de 21% de amostras de produtos cárneos fatiados de pronto consumo positivas para *L. monocytogenes*. Em estudo realizado na cidade de Niterói, no qual foi avaliada a qualidade microbiológica de peças de produtos cozidos e produtos fatiados, Araújo et al. (2002) detectaram o micro-organismo em 60% das amostras de presunto fatiado avaliadas. Gianfranceschi et al. (2003) relataram a presença de *L. monocytogenes* em 17,3% das amostras de alimentos de pronto consumo na Itália e em 6,1% das amostras de superfícies de plantas processadores desses produtos. Em outro estudo avaliando a presença desse patógeno em produtos cozidos fatiados na Espanha, *L. monocytogenes* estava presente em 8,8% das amostras (Vitas; Garcia-Jalon, 2004). No Reino Unido, Elson et al. (2004) identificaram, de um total de 1423 amostras de presunto fatiado, 16% de produtos impróprios para o consumo devido à presença de *L. monocytogenes*. Gómez et al. (2015) identificaram uma taxa de 17,14% de amostras positivas para *L. monocytogenes* em produtos cozidos fatiados. Estudos realizados no país também revelaram a presença desse micro-organismo em alta frequência nos produtos fatiados. Fai et al., (2007) ao avaliarem 40 amostras de presunto cozido fatiado detectaram a presença de *L. monocytogenes* em 42,50% das amostras em supermercados no Ceará, enquanto Mottin (2008) encontrou a prevalência de 11,66%.

Outros autores, porém, relataram baixas prevalências de *L. monocytogenes* em produtos cozidos fatiados. Uyttendaele, De Troy e Debevere (1999) encontraram uma taxa de amostras positivas de 1,56% em peças de presunto e de 6,65% após o fatiamento do produto em supermercados na Bélgica, o que sugere uma contaminação ocorrida no procedimento de fatiamento. Willis e Greenwood (2003) detectaram a presença *L. monocytogenes* em 0,2% das amostras de produtos cozidos fatiados na Inglaterra. Pérez-Rodríguez et al. (2010), avaliaram 68 amostras de presunto fatiado e encontraram 4,41% de amostras positivas para esse micro-organismo. Os autores salientaram que a maioria das amostras positivas eram originadas de peças que foram fatiadas no

ponto de venda. Wong et al., 2005 avaliaram 104 amostras de presunto fatiado na Nova Zelândia e encontraram o micro-organismo em apenas uma amostra. Em pesquisa realizada por Cordano e Rocourt (2001) 3,22% das amostras de presunto fatiado foram positivas para *L. monocytogenes*. A alta prevalência do patógeno no presente trabalho revela uma preocupação com relação ao consumo desses produtos, uma vez que determinados grupos da população, tais como indivíduos imunocomprometidos, gestantes, idosos, ou qualquer pessoa com alguma enfermidade, estão mais propensos a desenvolver doenças de origem alimentar, como a listeriose. Segundo Lenhart et al. (2008), a chance de uma gestante ser infectada por *L. monocytogenes* é quatorze vezes maior que uma não gestante pertencente à população saudável, sendo que este aspecto está associado à redução do mecanismo de imunidade requerida para manter a gravidez.

Para isso, controles rigorosos de qualidade devem ser adotados e monitorados nas indústrias de produtos de origem animal. Em trabalho publicado por Tompkin (2002) foram evidenciados seis estratégias para o controle de *L. monocytogenes* no ambiente industrial: 1) prevenção do estabelecimento e crescimento de *Listeria* em “nichos” ou outros locais que possam levar à contaminação de alimentos de pronto consumo; 2) implementação de um programa de amostragem que possa avaliar antecipadamente se o ambiente em que os alimentos estão expostos está sob controle; 3) resposta tão rápida e eficaz quanto possível a cada amostra de contato positiva do produto; 4) verificação por amostragem de acompanhamento de que a fonte foi detectada e corrigida; 5) uma avaliação de curto prazo (por exemplo, envolvendo as últimas quatro a oito amostragens) para facilitar a detecção de problemas e tendências e 6) uma avaliação de longo prazo (por exemplo, trimestral, anualmente) para detectar locais positivos amplamente dispersos em uma linha de embalagem e para medir o progresso geral em direção à melhoria contínua.

No caso da indústria onde o estudo foi realizado, as salas eram dotadas de pressão positiva com insuflamento de ar filtrado para evitar a entrada de ar contaminado de outras áreas da fábrica, com temperaturas inferiores a 10°C no ambiente, piso de material poliuretano monolítico e tetos e paredes de isopainel frigorífico. Toda matéria prima utilizada era oriunda de estabelecimento inspecionado. Os colaboradores que manipulavam os presuntos fatiados utilizam uniformes com segregação de cor específica, faziam uso de luvas, mangotes e máscaras no momento da manipulação. Os procedimentos de higienização eram realizados sempre ao final dos turnos de trabalho, com acompanhamento e inspeção de um funcionário do controle de qualidade.

Em trabalho realizado por Vanin (2013), foi utilizada a expressão área de “alto risco” para as salas que fazem esse tipo de operação, devido ao risco elevado de contaminação durante essa etapa e

que esses produtos, após o fatiamento e embalagem, não sofrerão qualquer processamento que possa mitigar esses micro-organismos.

Indústrias que operam nesse tipo de atividade devem estabelecer uma área de “alto risco”, seja e delimitada somente à sala que ocorrerá o fatiamento, implantando, por exemplo, uma barreira sanitária exclusiva para essa sala, com troca de uniformes completa e higienização pessoal; ou que esse zoneamento seja mais amplo, envolvendo toda a unidade fabril, com construção de todas as estruturas de suporte da fábrica no mesmo prédio, como vestiários, banheiros, refeitório, etc, fazendo com que o colaborador não tenha contato com a parte externa da fábrica em nenhum momento durante o turno de trabalho.

A higienização de equipamentos e utensílios é outro ponto que não deve ser negligenciado nos ambientes fabris. O contato dos alimentos com utensílios, equipamentos na linha de processamento, deve receber atenção especial em programas de controle de higiene para obtenção de alimentos seguros ao consumo. A equipe de colaboradores dedicados à higienização deve, portanto, receber treinamento adequado, o qual demonstre a importância dessa etapa dentro de uma indústria de alimentos, fazendo com que o tempo de ação com as superfícies e a concentração dos produtos químicos sejam rigorosamente respeitados. Procedimentos de higienização mal conduzidos podem gerar graves consequências como a transmissão de agentes causadores de doenças, prejuízos econômicos como perdas totais de lotes produzidos e interrupção de processos de produção (Simões e Vieira, 2010).

6. CONCLUSÃO

O fatiamento ou processamento de produtos prontos para o consumo, como no caso o presunto, deve atender o mais alto quesito de segurança dos alimentos, pois após o fatiamento, geralmente, não haverá uma etapa posterior que elimine uma possível contaminação microbiológica.

Para isso as empresas devem investir tanto em estrutura, com a construção de áreas que favoreçam a não multiplicação de micro-organismos. A capacitação do seu quadro de colaboradores é outro item fundamental para a produção de um produto inócuo ao consumidor, pois as principais falhas em Boas Práticas de Fabricação decorrem de erros operacionais durante o fatiamento dos produtos.

Conforme demonstrado no trabalho as condições higiênico-sanitárias no ambiente de processamento tecnológico do presunto cozido fatiado da indústria estudada são satisfatórias,

entretanto, mesmo com todos os procedimentos de qualidade implantados houve positividade de micro-organismos patogênicos no produto, o que reforça a necessidade de atenção redobrada por parte de órgãos fiscalizadores e pelas empresas, que devem adotar em seus procedimentos de controle de qualidade, protocolos extremamente rigorosos de higienização nos processos produtivos, além de medidas como o estabelecimento de áreas restritas à etapa de fatiamento e o treinamento constante dos colaboradores com base em levantamento de possíveis perigos abordados no programa APPCC.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABPA. Relatório Anual 2018 Associação Brasileira de Proteína Animal. 2018.
- ALMEIDA, R. C. DE C. et al. Avaliação e controle da qualidade microbiológica de mãos de manipuladores de alimentos. **Rev. Saúde Pública**, v. 29, n. 4, p. 290–294, 1995.
- ANDRADE, M. C. G. **Avaliação da qualidade microbiológica de carnes de peito de frangos de corte submetidas a diferentes temperaturas do ambiente de processamento**. Belo Horizonte: UFMG, 2014.
- ANGELILLO, I. F. et al. Food Handlers and Foodborne Diseases: Knowledge, Attitudes, and Reported Behavior in Italy. **Journal of Food Protection**, v. 63, n. 3, p. 381–385, 2000.
- ANTONI, I. **Influencia dos microorganismos Staphylococcus xylosum, Lactobacillus plantarum e Staphylococcus carnosus no perfil aromático de salames de peru**. Campinas: Univesidade Estadual de Campinas, 2005.
- AOAC. Official Method 990.12 Aerobic count plate, dry rehydratable film Petrifilm™ aerobic plate method. **J. AOAC Int.**, v. 83, p. 635, 1990.
- AOAC. Official Method 2003.01 Enumeration of Enterobacteriaceae in Selected Foods. **J. AOAC Int.**, v. 802, n. April, 2006.
- ARAÚJO, P. C. C. et al. Ocorrência de *Listeria monocytogenes* em produtos de carne de peru comercializados na cidade de Niterói-RJ-Brasil. v. 30, n. December 2001, p. 19–25, 2002.
- ARGUDÍN, M. Á.; MENDOZA, M. C.; RODICIO, M. R. Food poisoning and *Staphylococcus aureus* enterotoxins. **Toxins**, v. 2, n. 7, p. 1751–1773, 5 jul. 2010.
- ARIMA, H. K. **Curso sobre qualidade e processamento de presunto cozido e apresuntado**. Campinas: Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL) – Centro de Tecnologia de Carnes

(CTC), 1995.

BANNERMAN, T. L.; PEACOCK, S. J. *Staphylococcus, Micrococcus, and Other Catalase-Positive cocci*. In: MURRAY, P. R. et al. (Eds.). . **Manual of Clinical Microbiology**. ASM Press ed. Washington: [s.n.]. v. 1p. 390–411.

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

BENNET, W. L.; STEED, L. L. An integrated approach to food safety. **Quality Progress**, v. 32, n. 2, p. 37–42, 1999.

BERGDOLL, M. S. *Staphylococcal food poisoning*. In: RIEMMAN, H.; CLIVER, D. O. (Ed.). . **Foodborne infections and intoxications**. New York: Academic Press, 1990. p. 85–106.

BLASCHEK, H. P.; SOLBERG, M. Isolation of a plasmid responsible for caseinase activity in *Clostridium perfringens* ATCC 3626B. **Journal of Bacteriology**, v. 147, n. 1, p. 262–266, 1981.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 368, de 4 de setembro de 1997.BPF. p. 1–12, 1997.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento.Instrução Normativa nº 20 .Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Presunto Cozido., 2000.

BRASIL. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001 do. 2001.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Nº 62, de 26 de Agosto de 2003. p. 1–2, 2003.

BRASIL. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). **Pesquisa de orçamentos familiares: aquisição alimentar domiciliar per capita: Brasil e grandes regiões, Coordenação de Índices de Preços**. Disponível em: <<http://https://sidra.ibge.gov.br/tabela/2393>>. Acesso em: 20 de fev. 2020.

BRASIL. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº9 de 8 de abril de 2009**, 2009.

BRASIL. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Manual de métodos oficiais para análise de alimentos de origem animal** / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. – Brasília : MAPA, 2017.

BRECKINRIDGE, J. C.; BERGDOLL, M. S. Outbreak of Food-Borne Gastroenteritis Due to a Coagulase-Negative Enterotoxin-Producing *Staphylococcus*. **New England Journal of Medicine**, v. 284, n. 10, p. 541–543, 11 mar. 1971.

BRESSAN, M. C. et al. Influência da embalagem na vida útil de presuntos fatiados. **Ciencia e**

- Agrotecnologia**, v. 31, n. 2, p. 433–438, 2007.
- BRESSAN, M. C.; PEREZ, J. R. O. **Tecnologia de carnes e pescados**. Lavras: Centro de Editoração/FAEPE, 2001.
- BRYAN, F. L. Microbiological food hazards today - based on epidemiological information. **Food Technol.**, p. 52–59, 1974.
- BRYNESTAD, S.; GRANUM, P. E. *Clostridium perfringens* and foodborne infections. **International Journal of Food Microbiology**, v. 74, p. 195–202, 2002.
- CANALIS, A. **A filosofia da qualidade total aplicada a uma empresa do sector alimentar**. Lisboa: Instituto Politécnico de Lisboa, 2014.
- CHASSEIGNAUX, E. et al. Molecular epidemiology of *Listeria monocytogenes* isolates collected from the environment, raw meat and raw products in two poultry- and pork-processing plants. **Journal of Applied Microbiology**, v. 91, n. 5, p. 888–899, 2001.
- CHRISTISON, C. A.; LINDSAY, D.; VON HOLY, A. Microbiological survey of ready-to-eat foods and associated preparation surfaces in retail delicatessens, Johannesburg, South Africa. **Food Control**, v. 19, n. 7, p. 727–733, 2008.
- COMISSÃO, P. et al. Regulamento (CE) n.º 1441/2007 da Comissão. n. 8, p. 12–29, 2007.
- CORDANO, A. M.; ROCOURT, J. Occurrence of *Listeria monocytogenes* in Food in Chile. **International Journal of Food Microbiology**, v. 70, p. 175–178, 2001.
- COSTA, M. DE R. et al. Perfil sensorial e aceitação de presuntos crus produzidos por métodos tradicionais e acelerado. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos (Campinas)**, v. 27, n. 1, p. 170–176, 2007.
- CUNHA, M. DE L. R. DE S. DA et al. Detection of enterotoxins genes in coagulase-negative *Staphylococci* isolated from foods. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 37, n. 1, p. 70–74, 2006.
- DE FREITAS, M. F. L. ET AL. Ocorrência de *Staphylococcus aureus* em carcaças de frango. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, p. 271–282, 2004.
- DESTRO, M. T.; SERRANO, A. DE M.; KABUKI, D. Y. Isolation of *Listeria* species from some Brazilian meat and dairy products. **Food Control**, v. 2, n. 2, p. 110–112, 1991.
- DIRECTORATE, F.; PRODUCTS, H.; BRANCH, F. Policy on *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods bureau of microbial hazards food directorate health products and food branch. p. 1–49, 2011.
- ELSON, R. et al. Microbiological examination of ready-to-eat cold sliced meats and pâté from catering and retail premises in the UK. **Journal of Applied Microbiology**, v. 96, n. 3, p. 499–

509, 2004.

EUZÉBY, J. P. **List of prokaryotic names with standing in nomenclature**. Disponível em: <<http://www.bacterio.net/index.html>>. Acesso em: 10 fev. 2019.

FAI, A. E. C. et al. *Salmonella* sp e *Listeria monocytogenes* em presunto suíno comercializado em supermercados de Fortaleza (CE , Brasil): fator de risco para a saúde pública. **Departamento de Ciências de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas**, v. 1, p. 06, 2007.

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

FOUNDATION FSSC 22000. **Ensuring consumer trust in the supply of safe food & drinks**. Disponível em: <<http://www.fssc22000.com/documents/home.xml?lang=en>>. Acesso em: 23 maio. 2019.

FRANCO, B. D. G. M.; LANGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2005.

FRANCO, B. D. M. .; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1996.

FRAZIER, W. C. **Microbiologia de los Alimentos**. Zaragoza: Acribia, 1993.

GIANFRANCESCHI, M. et al. Incidence of *Listeria monocytogenes* in food and environmental samples in Italy between 1990 and 1999 : serotype distribution in food , environmental and clinical samples. p. 1001–1006, 2003.

GLOBAL FOOD SAFETY RESEARCH. **IFS – The International Featured Standards**. Disponível em: <<https://globalfoodsafetyresource.com/ifs-certification/>>. Acesso em: 27 maio. 2019.

GÓMEZ, D. et al. Comparison of Sampling Procedures for Recovery of *Listeria monocytogenes* from Stainless Steel Food Contact Surfaces. **Journal of Food Protection**, v. 75, n. 6, p. 1077–1082, 2012.

GÓMEZ, D. et al. Occurrence of *Listeria monocytogenes* in Ready-to-Eat Meat Products and Meat Processing Plants in Spain. **Foods**, v. 4, n. 4, p. 271–282, 2015.

GUERRA, M. M.; MCLAUCHLIN, J.; BERNARDO, F. A. *Listeria* in ready-to-eat and unprocessed foods produced in portugal. **Food Microbiology**, v. 18, n. 4, p. 423–429, 2001.

HALL, R. M. **Estudo de caso: Ampliação da Capacidade de Refrigeração na Produção de Presunto em uma Unidade Industrial**. Lavras: Centro de Editoração/FAEPE, 2014.

HATHEWAY, C. L. Toxigenic Clostridia. **Clin. Microbiol. Rev.**, v. 3, n. 1, p. 66–98, 1990.

HITCHINS A.D. *Listeria monocytogenes*. In: **Bacteriological Analytical Manual**. 8. ed. [s.l.:

s.n.].

HONIKEL, K. O. The use and control of nitrate and nitrite for the processing of meat products. **Meat Science**, v. 78, n. 1–2, p. 68–76, 2008.

HUSS, H. H.; JØRGENSEN, L. V.; VOGEL, B. F. Control options for *Listeria monocytogenes* in seafoods. v. 62, p. 267–274, 2000.

INSTITUTE, S. **SQF Food Safety Programme**. Disponível em: <<https://www.sqfi.com/what-is-the-sqf-program/sqf-food-safety-program/>>. Acesso em: 27 maio. 2019.

JAY, J. M. **Microbiologia dos Alimentos**. 6 ed ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

JOSEPH, B. et al. Biofilm formation by *Salmonella* spp. On food contact surfaces and their sensitivity to sanitizers. **International Journal of Food Microbiology**, v. 64, n. 3, p. 367–372, 2001.

KLOOD, W. E.; SCHLEIFER, K. H.; GÖTZ, F. The genus *Staphylococcus*. In: BLOWS, A. & T.; H.G., S. (Eds.). . **The prokaryotes**. New York: [s.n.]. p. 1369–1420.

KONEMAN, E. et al. Diagnóstico microbiológico. In: 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. p. Parte I.

KONEMAN, E.; ET AL. **Diagnóstico microbiológico – Texto e atlas colorido**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010.

LAHOU, E.; UYTENDAELE, M. Evaluation of three swabbing devices for detection of listeria monocytogenes on different types of food contact surfaces. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 11, n. 1, p. 804–814, 2014.

LAWRIE, R. A. **Meat Science**. New York: Pergamon Press, 1998.

LAX, A. J. et al. Current perspectives in salmonellosis. **British Veterinary Journal**, v. 151, n. 4, p. 351–377, 1995.

LENHART, J. et al. Consumer Assessment of Safety and Date Labeling Statements on Ready-to-Eat Meat and Poultry Products Designed To Minimize Risk of Listeriosis. **Journal of Food Protection**, v. 71, n. 1, p. 70–76, 2008.

LEVORATO, J. **Perfil das empresas certificadas em segurança de alimentos no Brasil – Atualização**. Disponível em: <<http://foodsafetybrazil.org/perfil-das-empresas-certificadas-em-seguranca-de-alimentos-no-brasil-atualizacao/#ixzz4HWXXwZM7>>. Acesso em: 27 maio. 2019.

MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; PARKER, J. **BROCK: Biology of microorganisms**. 10th. ed. Nwe Jersey: Prentice Hall, 2004.

MARTINS, E. A. *Listeria monocytogenes* em produtos fatiados do tipo ready-to-eat, presunto cozido e salame, comercializados no município de São Paulo: ocorrência, quantificação e

sorotipagem. p. 60, 2009.

MCCOLLUM, J. T. et al. Multistate outbreak of listeriosis associated with cantaloupe. **New England Journal of Medicine**, v. 369, n. 10, p. 944–953, 2013.

MENEZES, L. D. M. **Caracterização microbiológica de ovos de consumo e de carcaças de frangos produzidos no Estado de Minas Gerais**. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, 2013.

MENEZES, P. M. S.; COELHO, L. M.; COSTA, F. N. Avaliação da qualidade higiênico-sanitária dos presuntos fatiados comercializados na cidade de São Luís , MA. **Biológico**, v. 72, n. 1, p. 11–17, 2010.

MOTTIN, V. D. **Avaliação Microbiológica de apresuntados, fatiados e comercializados em supermercados de Porto Alegre, RS**. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2008.

NADVORNY, A. et al. Ocorrência de *Salmonella* sp. em surtos de doenças transmitidas por alimentos no Rio Grande do Sul em 2000. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 32, n. 1, p. 47–51, 2004.

OMORI, G.; KATO, Y. A Staphylococcal food-poisoning caused by a coagulase - negative strain. **Bilken's Journal** 2, v. 92, 1959.

ORDEN, J. et al. **Production of Staphylococcal Enterotoxins and TSST-1 by coagulase negative *Staphylococci* isolated from ruminant mastitis**. [s.l: s.n.]. v. 39

ORSI, R. H.; WIEDMANN, M. Characteristics and distribution of *Listeria* spp., including *Listeria* species newly described since 2009. **Appl. Microbiol. Biotechnol.**, v. 100, p. 5273-5287, 2016

PARDI, M. C. **Ciência, Higiene e Tecnologia da Carne - Vol. 1**. Goiânia: Universidade Federal de Goiás, 2006.

PARDI, M. C.; SANTOS, I. F.; SOUZA, E. R. **Ciência, higiene e tecnologia da carne: riscos microbiológicos da carne**. Goiânia: UFG, 1995.

PÉREZ-RODRÍGUEZ, F. et al. Evaluation of hygiene practices and microbiological quality of cooked meat products during slicing and handling at retail. **Meat Science**, v. 86, n. 2, p. 479–485, 2010.

PIRES, A. C. DOS S. et al. Condições Higiênicas de Fatiadores de frios avaliadas por ATP-bioluminescência e contagem microbiana: sugestão de higienização conforme RDC 275 da ANVISA. **Alimentos e Nutrição, Araraquara**, v. 16, n. 2, p. 123–129, 2005.

PODKOWIK, M. et al. Enterotoxigenic potential of coagulase-negative staphylococci.

- International Journal of Food Microbiology**, v. 163, n. 1, p. 34–40, 2013.
- PRESTES, R. C.; DEMIATE, I. M.; CARNEIRO, E. B. B. **Avaliação da adição de colágeno hidrolisado, amido modificado e goma guar em presunto cozido de peru**. [s.l.] Universidade Estadual de Ponta Grossa, 2008.
- PRICE, J. F.; SCHWEIGERT, B. S. **Ciencia de la Carne y de los Productos Carnicos**. Zaragoza: Acribia, 1994.
- ROCOURT, J.; JACQUET, C.; REILLY, A. Epidemiology of human listeriosis and seafoods. **International Journal of Food Microbiology**, v. 62, n. 3, p. 197–209, 2000.
- SALVAGNI NETO, E. **Avaliação da qualidade do presunto e muçarela fatiados e perfil dos manipuladores nos supermercados no interior de São Paulo**. [s.l.] Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho” - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Campus Jaboticabal - UNESP, 2018.
- SANTANA, E. H. W. DE; BELOTI, V. Estafilococos em Alimentos. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 77, p. 545–554, 2010.
- SCHLECH, W. F. et al. Epidemic Listeriosis — Evidence for Transmission by Food. **New England Journal of Medicine**, v. 308, n. 4, p. 203–206, 27 jan. 1983.
- SEELIGER, H. P. R.; JONES, D. *Listeria*. In: **Bergey’s Manual of Systematic Bacteriology**. Baltimore: Williams & Wilkins, 1986. p. 1235–1245.
- SERIO, J. et al. Avaliação microbiológica e microscópica de presuntos fatiados refrigerados. **Alim. Nutr.**, v. 20, n. 1, p. 135–139, 2009.
- SHANK, F. R. et al. US position on *Listeria monocytogenes* in foods. **Food Control**, v. 7, n. 4–5, p. 229–234, 1996.
- SILVA, N. DA et al. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 3 ed ed. São Paulo: Varela, 2007.
- SILVA, E. N. *Salmonella Enteritidis* em aves e saúde pública. **Higiene Alimentar**, p. 7–13, 1995.
- SILVA, M. C. D. ; RAMALHO, L.S.; FIGUEIREDO, E. T. *Salmonella* sp. em ovos e carcaças de frango “in natura” comercializadas em Maceió, AL. **Higiene Alimentar**, v. 18, p. 80–84, 2004.
- SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 2 ed ed. São Paulo: Livraria Varela, 2001.
- SILVA, W. P.; GANDRA, E. A. E. **Estafilococos coagulase positiva: patógenos de importância em alimentos** **Higiene Alimentar**. São Paulo: [s.n.].
- SIMÕES, M.; SIMÕES, L. C.; VIEIRA, M. J. A review of current and emergent biofilm control strategies. **LWT - Food Science and Technology**, v. 43, n. 4, p. 573–583, 2010.

- SLONGO, A. P. Uso de alta pressão hidrostática em presunto fatiado: Avaliação físico-química e sensorial e modelagem do crescimento microbiano. **Dados**, p. 173, 2009.
- SPLITTSTOESSER, D. F.; VANDERZANT, C. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 3rd ed. ed. [s.l.] Washington (D.C.): American public health association, 1992.
- TERRA, N. N. **Apontamentos de Tecnologia de Carnes**. [s.l.] Unisinos, 1998.
- TOMPKIN, R. B. Control of *Listeria monocytogenes* in the food-processing environment. **Journal of Food Protection**, v. 65, n. 4, p. 709–725, 2002.
- UDAETA, J. E. M. **Fatores que influenciam no processamento do presunto “cook-in”**. Santa Maria / RS: [s.n.].
- USDA. **Isolation and Identification of Listeria monocytogenes from Red Meat, Poultry, Ready-To-Eat Siluriformes (Fish) and Egg Products, and Environmental Samples**, 2019.
- UYTTENDAELE, 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**, v. 53, n. 1, p. 75–80, 1999.
- VANIN, N. G. Aplicação de Alta Pressão Hidrostática em presuntos fatiados embalados a vácuo: uma revisão. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 53, n. 9, p. 1689–1699, 2013.
- VITAS, A. I.; GARCIA-JALON, V. A. E. I. Occurrence of *Listeria monocytogenes* in fresh and processed foods in Navarra (Spain). **International Journal of Food Microbiology**, v. 90, n. 3, p. 349–356, 2004.
- VOIDAROU, C.; TZORA, A.; ALEXOPOULOS, A. BEZIRTZOGLU, E. **Hygienic quality of different ham preparations. In.: World Congress Food Science and Technology: food is life**. Nantes, France, 2006.
- VOLCAN, D. S.; LIMA, A. S.; SILVA, W. P. Avaliação microbiológica de presuntos e apresuntados comercializados em Pelotas-RS. p. 25–27, 2008.
- WANDERLEY, L. A. DOS S. et al. Avaliação microbiológica de presunto fatiado comercializado em supermercados da cidade de Francisco Beltrão – PR. **Revista de Divulgação Científica da ULBRA Torres**, v. I, 2016.
- WILLIS, C.; GREENWOOD, M. Wessex shopping basket survey - A structured approach to local food sampling. **International Journal of Environmental Health Research**, v. 13, n. 4, p. 349–359, 2003.
- WONG, T. L. et al. Microbiological survey of prepackaged pâté and ham in New Zealand. **Letters in Applied Microbiology**, v. 41, n. 2, p. 106–111, 2005.

ZHANG, W. et al. Multi-Virulence-Locus Sequence Typing of *Listeria monocytogenes*. v. 70, n. 2, p. 913–920, 2004.