



**CENTRO UNIVERSITÁRIO DE BRASÍLIA – UniCEUB
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA EDUCAÇÃO E DA SAÚDE – FACES**

PROGRAMA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

**IGOR RIBEIRO DO NASCIMENTO
THAÍS LIMA DE SENA**

**DOENÇAS VEICULADAS POR ALIMENTOS: ESTUDO DA
QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE AMOSTRAS DE LEITE, OVOS,
CARNES BOVINA E DE FRANGO ENCONTRADAS EM ALGUMAS
FEIRAS E AÇOUGUES NO DISTRITO FEDERAL.**

**BRASÍLIA-DF
2016**



**IGOR RIBEIRO DO NASCIMENTO
THAÍS LIMA DE SENA**

**DOENÇAS VEICULADAS POR ALIMENTOS: ESTUDO DA
QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE AMOSTRAS DE LEITE, OVOS,
CARNES BOVINA E DE FRANGO ENCONTRADAS EM ALGUMAS
FEIRAS E AÇOUGUES NO DISTRITO FEDERAL.**

Relatório final de pesquisa de Iniciação Científica
apresentado à Assessoria de Pós-Graduação e
Pesquisa pela Faculdade de Ciências da
Educação e da Saúde – FACES.

Orientação: Fabíola Fernandes Castro

**BRASÍLIA-DF
2016**

RESUMO:

Micro-organismos são encontrados em praticamente todos os lugares, seja na pele, ambiente e alimentos. Colonizam em alimentos muitas vezes pelo mau acondicionamento, falta de higienização no preparo e consumo dos mesmos, famílias inteiras morriam em decorrência de infecções pouco conhecidas causadas por contaminação nesses alimentos. Os alimentos podem ser contaminados por bactérias patogênicas. As intoxicações alimentares são ocasionadas pela ingestão de alimentos que apresentam toxinas, que são originadas pela alta proliferação dos microrganismos no alimento, que muitas das vezes não é identificado nem por odor e sabor. Dentre os patógenos mais comumente produtores de toxinas, podem se citar: *Staphylococcus aureus* e *Bacillus cereus*. É importante a identificação dos micro-organismos, pois assim, é possível tomar medidas de profilaxia visando declínio de sua positividade, conseqüentemente, melhorando a qualidade de vida da comunidade e investigando a incidência destas doenças. O trabalho tem como objetivo analisar alimentos comercializados em feiras livres e alguns açougues que produzem seus próprios produtos no Distrito Federal, com o intuito de investigar a presença de micro-organismos patogênicos causadores de doenças na comunidade como: gastroenterites, intoxicações, infecções e toxi-infecções, conscientizar tanto a população como os comerciantes aos perigos encontrados ao comercializar alimentos sem um devido controle microbiológico. Foi feita a obtenção dos alimentos de origem animal por meio de compra ou doação em feiras e açougues do DF, preparo das amostras líquidas e sólidas, com o seu pré-enriquecimento, Técnica do Plaqueamento em profundidade "Pour Plate", técnica do plaqueamento em superfície utilizando ágar cromogênico CPS e ágar sangue de carneiro, com posterior identificação de Cepas bacterianas através da metodologia de RUGAI para identificar espécies bacterianas da Família *Enterobacteriaceae* e para os gram positivos teste de oxidase, catalase e oxidase para cepas *Staphylococcus* spp. Após o período de incubação foram isolados diferentes tipos de bactérias gram positivas e gram negativas e dentre elas as mais prevalentes encontradas foram: *Echerichia coli* e *Staphylococcus aureus*, bactérias patogênicas de importância clínica causadoras de infecções na comunidade.

Palavras-chave: Intoxicações. Alimentos. Micro-organismo

SUMÁRIO

RESUMO	3
1 INTRODUÇÃO	5
2 OBJETIVO	6
3 REFERENCIAL TEÓICO	6
4 MATERIAIS E MÉTODOS	17
5 RESULTADOS	19
6 DISCUSSÃO	26
7 CONCLUSÃO	29
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	31

1 INTRODUÇÃO

Atualmente os micro-organismos estão presente em todos os lugares, na pele, ambiente e alimentos. Antes da descoberta dos microscópios os micro-organismos eram pouco conhecidos, milhares de pessoas morriam em epidemias devastadoras onde a causa muitas vezes não era conhecida. Também pelo mal acondicionamento de alimentos, falta de higienização no preparo e consumo dos mesmas famílias inteiras morriam em decorrência de infecções pouco conhecidas causadas por contaminação nesses alimentos (CARVALHO, 2010).

Os alimentos podem está sendo contaminados por bactérias patogênicas. As intoxicações alimentares geralmente são ocasionadas pela ingestão de alimentos que apresentam toxinas, que são originadas pela alta proliferação dos microrganismos no alimento, que muitas das vezes não é identificado nem por odor e sabor. Dentre os patógenos mais comumente produtores de toxinas, pode se citar: *Staphylococcus aureus* e *Bacillus cereus* (emética). Atualmente diversas infecções provocadas por bactérias que é proveniente de origem alimentar é geralmente identificada e caracterizada pela sintomatologia exclusiva do trato intestinal (BRASIL, 2010).

Muitas vezes os alimentos podem ser infectados através do processamento do mesmo, permitindo assim a contaminação e multiplicação do patógeno presente no alimento por alguma ausência de higiene, ou contato com animais e pessoas doentes. Os microrganismos mais isolados em intoxicações são: *Salmonella sp*;

Echerichia coli, *Shigella sp*; *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* e *Bacillus cereus*. A Sintomatologia entre os diversos patógenos são similares como: cefaleias, náuseas, vômitos, cólicas abdominais, diarreias, desidratação e podendo ocorrer o aparecimento de febre. Alguns casos graves pode lavar o paciente ao choque e morte. As intoxicações provocadas por bactérias são conhecidas em todo mundo, podendo afetar a economia, indústrias, turismo e saúde da sociedade. Os alimentos comercializados livremente são os de mais difícil controle para os órgãos de vigilância, pois muitas vezes, são comercializados sem as devidas boas práticas de fabricação (BRASIL, 2010).

Verifica-se que os alimentos mais frequentemente associados aos surtos são de origem animal, sendo os domicílios os locais de ocorrência de maior incidência. O número de surtos de Doença Transmitida por Alimentos (DTAs) aumenta a cada ano e grande parte dos consumidores desconhece os requisitos necessários para uma correta manipulação de alimentos, incluindo o armazenamento (locais, temperatura, tempo de armazenamento) e, principalmente os perigos que podem estar associados aos alimentos contaminados (FORSYTHE, 2005).

2 OBJETIVO

Analisar alimentos comercializados em feiras livres e alguns açougues que produzem seus próprios produtos no Distrito Federal com o intuito de investigar a presença de micro-organismos patogênicos causadores de doenças na comunidade como, gastroenterites, intoxicações, infecções e toxi-infecções, conscientizar tanto a população como os comerciantes aos perigos encontrados ao comercializar alimentos sem um devido controle microbiológico.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

Sabe-se que hoje em dia os micro-organismos são encontrados em praticamente todos os lugares, seja em nossa pele, ambiente e alimentos. Antes da descoberta dos microscópios os micro-organismos eram pouco conhecidos, milhares de pessoas morriam em epidemias devastadoras onde a causa muitas vezes não era conhecida. Também pelo mal acondicionamento de alimentos, falta de higienização no preparo e consumo dos mesmos famílias inteiras morriam em decorrência de infecções pouco conhecidas causadas por contaminação nesses alimentos (CARVALHO, 2010).

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), uma doença de origem alimentar é geralmente de natureza infecciosa ou tóxica, provocada por agentes que contactam com o organismo humano através da ingestão de alimentos ou da água contaminados (VEIGA et al., 2009). As diarreias associadas a este consumo são atualmente, e segundo dados da OMS, as principais causas de doença e morte nos países em desenvolvimento, matando cerca de 1,8 milhões de pessoas todos os anos, principalmente crianças (VEIGA et al., 2009). Nos países industrializados estima-se que, por ano, cerca de 30% da população sofra deste tipo de doença (NEWELL et al., 2010; VEIGA et al., 2009)

As doenças transmitidas por alimentos causam efeitos deletérios a nível coletivo e a nível individual (EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE CONTROL, 2011; EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY, 2011) quer diretamente na saúde humana e animal, quer indiretamente pelos custos económicos que essas imputam aos indivíduos, famílias, sistemas de saúde, setor produtivo e sociedade (NEWELL et al., 2010).

A incidência, a gravidade e a letalidade deste tipo de doenças é muito superior nalguns segmentos da população particularmente sensíveis, como crianças com idades inferiores a cinco anos, mulheres grávidas, imunodeprimidos e idosos (EUROPEAN CENTRE FOR DOENÇAS ALIMENTARES DE ORIGEM BACTERIANA DISEASE CONTROL, 2011; EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY JOURNAL, 2011; NEWELL et al., 2010).

As doenças alimentares adquiriram uma dimensão internacional associada a fatores como a globalização (trocas comerciais), alterações climáticas (aumento da temperatura, da poluição), hábitos socioculturais (hábitos alimentares), demográficos (aumento do número de indivíduos nas metrópoles), económicos e às tecnologias

alimentares (técnicas de preparação dos alimentos) (EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE CONTROL, 2011; OSTERHOLM, 2011; NEWELL et al., 2010).

Aproximadamente mais de 250 tipos de doenças são ocasionados por origem alimentar e, dentre elas, muitas são causadas por micro-organismos patogênicos, os quais são responsáveis por sérios problemas de saúde pública e expressivas perdas econômicas. As síndromes, resultantes da ingestão de alimentos contaminados por esses micro-organismos são conhecidas como Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA). Entende-se por doenças transmitidas por alimentos (DTAs) todas as ocorrências clínicas consequentes à ingestão de alimentos que possam estar contaminados com micro-organismos ou alguma substância ou substrato que acometa um perigo biológico, químico ou físico ao consumidor (BRASIL, 2014).

Os alimentos podem ser contaminados em várias etapas: na higienização durante o processamento, pelo manipulador ou animal doente e a partir de fezes de animais infectados, algumas bactérias também podem produzir toxinas (exotoxinas e enterotoxinas) que contaminam o alimento, e podem ocasionar toxi-infecções em humanos. O Brasil não possui uma estatística realista, mas estima-se que como ocorre em outros países o número de doenças associadas a alimentos está em constante crescimento, mesmo com a inovação em métodos de processamento. Estimam-se nos EUA que em média 24 milhões de casos ocorram por ano, afetando um em cada dez habitantes (FRANCO et al., 1996).

É necessário ter em conta as propriedades dos alimentos que facilitam ou não o desenvolvimento de microrganismos (ex. características químicas, pH), a proveniência dos mesmos, o seu maior ou menor consumo em determinadas regiões geográficas e a presença ou ausência de processamento e métodos de conservação (CANGEM, 2011; EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE CONTROL, 2011; NEWELL et al., 2010).

Existem uma gama de microrganismos causadores de doenças de origem alimentar, a tabela a baixo representa os microrganismos mais prevalentes:

Tabela 1. Exemplos de alimentos e agentes causadores de doenças alimentares.

Alimentos	Exemplo de microrganismos
------------------	----------------------------------

causadores	
Ovos crus	<i>Salmonella sp</i>
Carnes pouco cozidas	<i>Salmonela sp, Campylobacter sp, Escherichia coli, Clostridium perfringens e Yersinia enterocolitica</i>
Leite ou sumos não pasteurizados	<i>Salmonella sp, Campylobacte sp, Yersinia enterocolitica e Escherichia coli</i>
Queijos moles não pasteurizados	<i>Salmonella sp, Campylobacter sp, Yersinia enterocolitica, Listeria monocytogenes e Escherichia coli.</i>
Conservas caseiras	<i>Clostridium botulinum</i>
Salsichas; fiambres, etc	<i>Listeria monocytogenes</i>

Fonte: (adaptado de Forsythe, 2002)

A segurança alimentar é de fato, de grande importância para a manutenção da saúde pública e apesar de práticas e sistemas de monitoramento avançados em vários países, as DVA's ou surtos de doenças transmitidas por alimentos continuam a ser comuns (THAKUR et al., 2010).

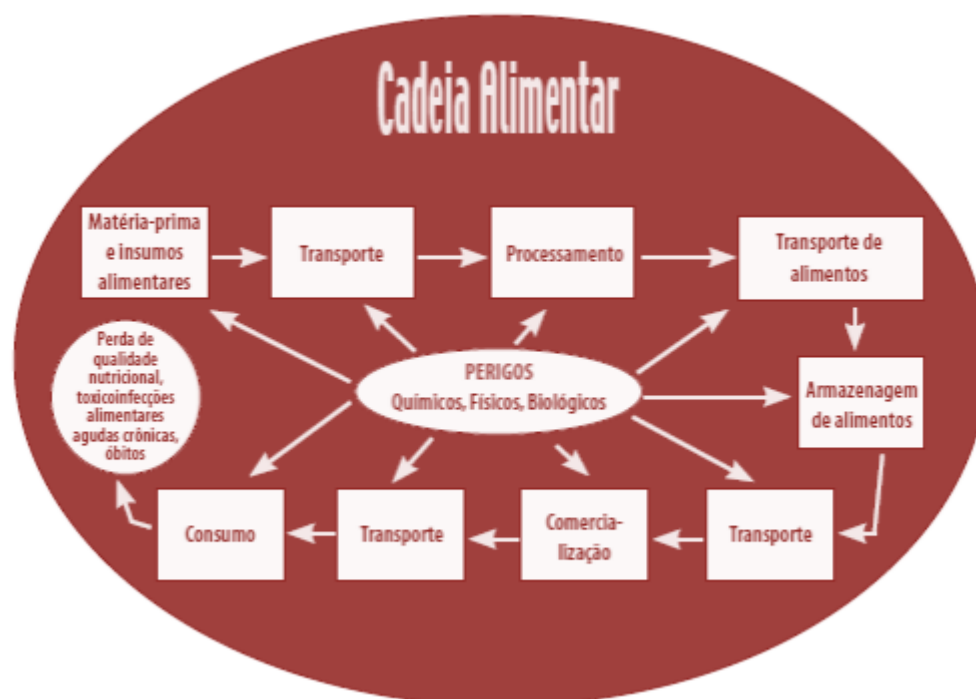
São conhecidos como mais suscetíveis a contrair DVA's ou como população de risco para DVA's, mulheres grávidas, recém-nascidos, crianças, idosos e imunocomprometidos (LITTLE et al., 2012).

Por outro lado, no que se refere ao micro-organismo, o período de incubação de uma DTA depende do agente etiológico envolvido na enfermidade, podendo variar de horas à meses. Dentre os tipos de doenças envolvidas, pode se apontar:

Infecções transmitidas por alimentos, que são doenças resultantes da ingestão de alimentos com presença do microrganismo patogênico vivo, como no caso de listerioses; intoxicação causada por alimentos, que ocorre quando houve ingestão de toxinas de origem bacteriana e/ou fúngica presente nos alimentos, como exemplo as infecções estafilocócicas; toxinfecção causada por alimentos, que se origina quando ocorre ingestão de alimentos com certa quantidade de microrganismos causadores de doenças os quais após ingeridos liberam toxinas, como no caso das salmoneloses (BARBOSA, 2009).

Em análise da cadeia de transmissão das DVA's, o alimento é caracterizado como veículo dos agentes etiológicos causadores das enfermidades e pode sofrer contaminação em qualquer ponto da cadeia alimentar (Figura 1). Os alimentos podem se contaminar pelos três tipos de perigos existentes: físicos, químicos e microbiológicos (SVS/MS, 2005).

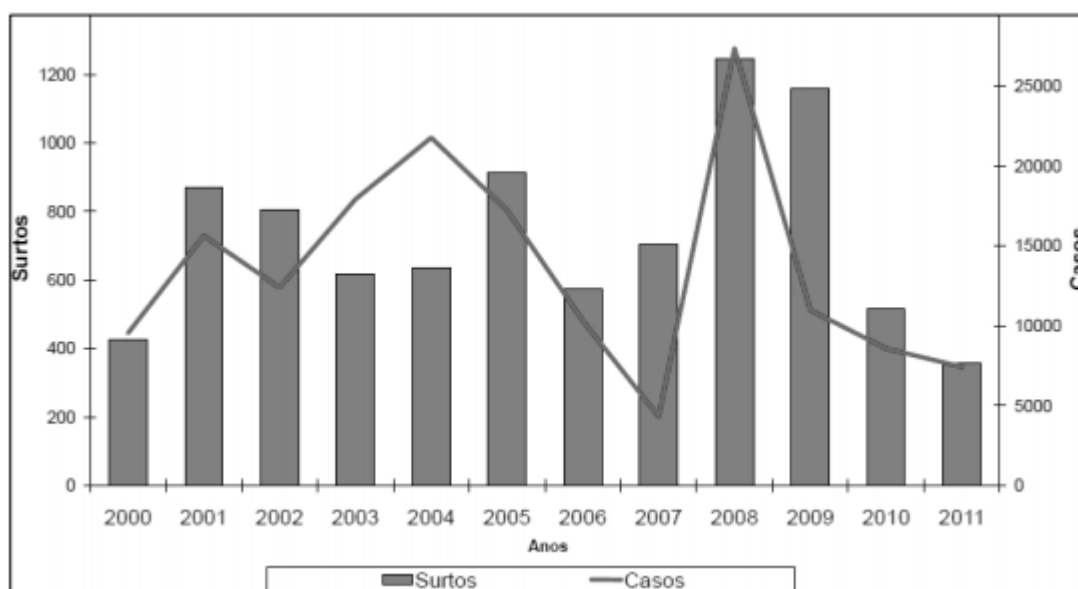
FIGURA 1. Contaminação dos alimentos na cadeia alimentar.



Fonte: Boletim eletrônico epidemiológico. Ano: 5, nº6, 28/12/2005.

No Brasil, entre os anos de 2000 e 2011 foram notificados 8.663 surtos de doenças veiculadas por alimentos (gráfico 1) com 163.425 pessoas doentes e 112 óbitos (SVS/MS, 2011).

Gráfico 1. Surtos de DVA no Brasil entre os anos de 2000 e 2011.



Fonte: UHA/CGDT/DEVEP/SVS/MS, 2011.

3.1 PRINCIPAIS AGENTES ETIOLÓGICOS ENVOLVIDOS EM SURTOS DE DOENÇAS VEICULADAS POR ALIMENTOS

1. *Salmonella* spp.

A veiculação de *Salmonella* sp. para o homem ocorre geralmente pelo consumo de alimento contaminado. Produtos alimentícios de origem animal, como carne, leite e ovo, constituem os veículos mais comumente associados na transmissão desse microrganismo para o homem (FERREIRA e CAMPOS, 2008).

FINSTAD et al. (2011) afirmaram em trabalho publicado que mais de 95% dos casos ocorridos de salmonelose foram transmitidos por consumo de alimentos impróprios ou que foram contaminados no momento de seu preparo por práticas indevidas de manuseio. Afirma ainda que somente nos Estados Unidos, mais de 40.000 casos de salmonelose são notificados anualmente.

Salmonella sp pertence à família *Enterobacteriaceae*. É um bacilo de Gram-negativo de 0,5 a 0,7 μ m de largura por 2,0 a 5,0 μ m de comprimento. Movem-se com o auxílio de flagelos peritricos, são não esporulados e anaeróbios facultativos com metabolismo respiratório e

fermentativo (ORDÓNEZ *et al.*, 2011). *Salmonella sp* é adquirida pela via fecal-oral e é composta por seis subespécies que são subdivididas em mais do que 2500 serótipos (HEITOFF *et al*, 2012). Ocorrem como agentes patogénicos intestinais do Homem e de animais domésticos e selvagens, sendo frequentemente encontrados em animais, alimentos e no ambiente. (SHINOHARA *et al*, 2008).

A ampla adaptabilidade da *Salmonella sp* permite-lhe sobreviver fora do hospedeiro animal/humano, facilitando a sua dispersão no ambiente, aumentando o número de reservatórios onde está presente e a probabilidade de infeção dos animais. O grau de virulência exibida pelas diferentes estirpes de *Salmonella sp* pode ser significativamente diferente entre diferentes hospedeiros, bem como durante diferentes estados de infeção (infeção fulminante versus infeção subclínica) e de exposição a diferentes meios (diversos parâmetros podem influenciar este microrganismo como os níveis de humidade, calor, stress, sais e nutrientes) (HEITOFF *et al*, 2012; SHINOHARA *et al.*, 2008). A salmonelose é uma das principais zoonoses em todo o mundo (ex. Europa e Estados Unidos da América), geralmente transmitida aos seres humanos através do consumo de alimentos contaminados de origem animal, principalmente carnes, aves, ovos e leite Doenças Alimentares de Origem Bacteriana(CANGEM, 2011; EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY E EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE CONTROL, 2011; FATICA *et al.*, 2011; ORDÓNEZ *et al.*, 2011; SHINOHARA *et al.*, 2008).

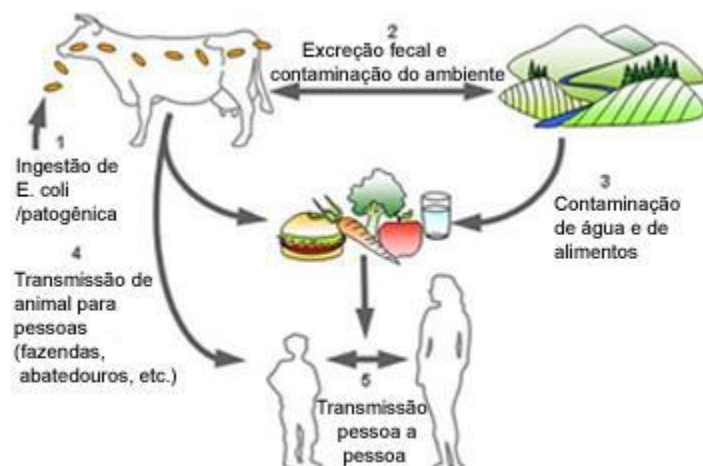
Salmonella é das bactérias mais frequentemente associadas a doenças veiculadas por alimentos em todo o mundo, nomeadamente na UE (EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY E EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE CONTROL, 2011; SHINOHARA *et al.*, 2008). Segundo o mais recente relatório oficial do ECDC(EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE CONTROL), registou-se uma diminuição na ocorrência deste tipo de infeções nos países da UE devido, fundamentalmente, à implementação de políticas eficazes de controlo por parte destes países. No entanto, a salmonelose continua a ser das infeções gastrointestinais mais comuns na UE/EEA (EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY E EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE CONTROL, 2011). A faixa etária entre os 0-4 anos de idade é a mais afetada por este tipo de infeção (cerca de 124 casos por cada 100 000 pessoas), apresentando uma taxa de incidência semelhante em ambos os gêneros. É nos meses de verão que se verifica um maior número de ocorrências de infeção por *Salmonella*, diminuindo nos meses de inverno (EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY E EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE CONTROL, 2011).

2. *Escherichia coli*

Escherichia coli faz parteda família *Enterobacteriaceae*. São bactérias Gram-negativas, não esporuladas, podendo ser imóveis ou móveis, são anaeróbias facultativas, fermentadoras de glicose (CHAURET, 2011; ELSA et al., 2011; FERENS e HOVDE, 2011).

Escherichia coli crescem em temperaturas entre 8 e os 48°C. Só que a sua temperatura adequada de crescimento é de 39°C e o pH melhor é de 6,0 a 8,0 (CHAURET, 2011; ELSA et al., 2011). Estas bactérias ocorrem em diversas formas na natureza, desde cepas comensais a cepas patogênicas para os seus hospedeiros podendo ser humanos e animais. O trato gastrointestinal dos seres humanos de sangue quente é colonizado pela *E. coli* logo após o nascimento (ELSA et al., 2011). Todos os alimentos que sejam de origem vegetal ou animal que não sofreu o processamento de forma adequada, podem veicular *E. coli*, mas isso só pode acontecer se em algum momento os alimentos tenham sido sujeitos contaminação fecal. Os alimentos crus, especificamente os de origem animal como exemplo: o leite não pasteurizado, são comumente contaminados com *E. coli*. A Figura 3 mostra o ciclo de transmissão da bactéria (FERENS, 2011).

Figura 2. Ciclo de transmissão de *Escherichia coli*.



(Disponível em: < <http://www.not1.xpg.com.br/nova-bacteria-europa-surto-de-escherichia-coli-causas-e-tratamento/>>, consultado em 22/08/2016).

A família enterobactérias produzem uma gama de fatores de virulência comprovados e potentes. A *E. coli* possui várias linhagens e algumas dessas linhagens especiais desse microrganismo tem a capacidade de causar doenças no homem e também em animais. Existem quatro classes diferentes de *E. coli* que tem o poder de desenvolver infecções gastrointestinais: *E. coli* enteropatogénica (EPEC), *E. coli* enterotoxigénica (ETEC), *E. coli* enterohemorrágica (EHEC), *E. coli* enteroinvasiva (EIEC) (CARNEIRO, 2008).

Existem vários surtos por conta desta bactéria, onde o mais atual caso foi o ocorrido no ano de 2011 na Europa causado por uma linhagem enterohemorrágica O104:H4 de *E. coli*. Este surto em 2011 levou um número muito significativo de mortes em vários países europeus (48 mortes na Alemanha), permitindo um aumento da vigilância e de alerta com alimentos (ex. pepinos, alfaces, tomates, sementes de vegetais), que são potentes transportadores de *E. coli* (WU et al., 2011; MUNIESA et al., 2012).

3 *Campylobacter* sp

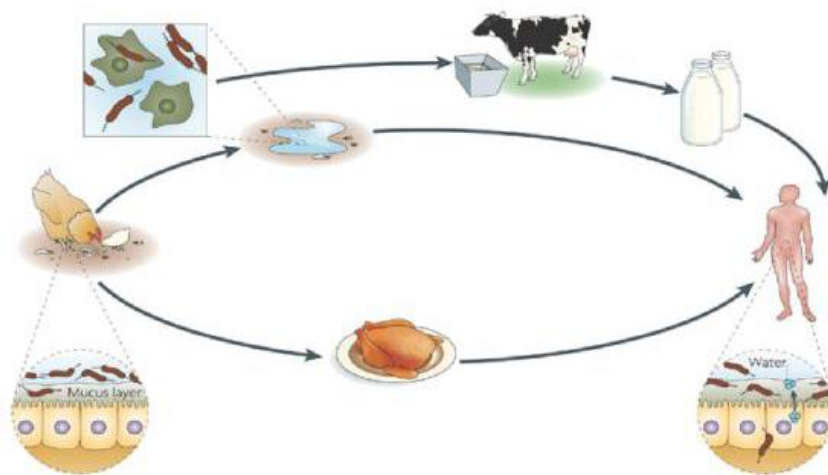
A *Campylobacter* sp faz parte da família *Campylobacteraceae*. São bastonetes curvos em formato de espiral que possuem entre 0,2 a 0,8µm de comprimento. São bactérias Gram-negativo, não formadoras de esporos. Possuem um flagelo polar, em uma ou nas duas extremidades, que lhe permite motilidade. As muitas espécies possuem características microaerófilas e possuem a presença da enzima oxidase. Entre outras características reduzem os nitratos, são incapazes de oxidar ou fermentar hidratos de carbono e a maior parte das espécies reduz os nitritos. A temperatura melhor de crescimento está entre 35 e os 37°C (ALLOS,2001; SAHIN et al., 2011; SILVA et al., 2011).

São identificadas 16 espécies de *Campylobacter* sp. Destas, a maioria são conhecidas por poderem causar patologia no ser humano, mas as espécies termotolerantes, *C. jejuni*, *C. coli* e *C. lari* são consideradas

as mais importantes (EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY, 2011).

A campilobacteriose pode afetar o ser humano tanto pelo contato direto com animais infectados ou carcaças de animais contaminadas e por meio da ingestão de alimentos como: carne de aves e água contaminada (Figura 3) (GARDNER et al., 2011; YOUNG et al., 2007).

Figura 3. Vias de transmissão da campilobacteriose



Fonte: (YOUNG et al., 2007).

Comumente os indivíduos mais afetados por este tipo de infecção está na faixa etária entre os 0-4 anos de idade, existe também uma percentagem de ocorrência em crianças mais velhas, podendo neste caso levar a complicações crônicas (síndrome de Guillan-Barré) (EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY E EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE CONTROL, 2011). Como acontece com outros microrganismos que podem causar graves problemas ao ser humano, a *Campylobacter sp.* tem um período de maior ocorrência durante os meses de verão (EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY E EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE CONTROL, 2011).

4 *Listeria monocytogenes*

O género *Listeria* é pertencente á família *Listeriaceae* e possui 6 espécies, onde a *Listeria monocytogenes* a que possui maior importância clínica para os humanos (MANTILLA et al., 2007; LINDSAY, 1997). A descrição de *L. monocytogenes* possui repercussão aos inícios do século XX e reflete as mudanças que foram ocorrendo durante este século, o foco é no processamento, distribuição e armazenamento dos alimentos, que resultou num aumento em muito o risco de ocorrência deste tipo de infeção (BURALL et al.,2012; CAMEJO et al, 2011; ROSSI et al, 2008; SCHLECH, 2000). *L. monocytogenes* é uma bactéria Gram-positivo, em forma de bacilo pequeno, anaeróbia facultativa, móvel e não formadora de esporos (CAMEJO et al., 2011; JANAKIRAMAN, 2008). Cresce bem com pH entre 5,6 e 9,6. Cresce em ambientes com temperaturas entre 1°C e 45°C, onde a melhor temperatura de crescimento é entre 30°C e 37°C. Todas estas características, incluindo outras como: crescimento em ambientes ácidos, na ausência ou em baixos níveis de O₂, permitem a persistência da *Listeria* em vários ambientes, confirmando que este microrganismo possui grande importância entre os patógenos transmitidos por alimentos (BURALL et al., 2012; ROSSI et al., 2008; ALLERBERGER e WAGNER, 2010).

A infeção por *L. monocytogenes* é uma zoonose envolvendo animais como: bovinos, ovinos e caprinos. Esta bactéria é frequentemente encontrada nas fezes de animais, no solo, na vegetação em decomposição, nas plantas e na água corrente. A contaminação de matérias-primas e de alimentos não processados é frequente, sendo os alimentos não sujeitos a tratamentos térmicos mais suscetíveis de permitir a presença desta bactéria. Assim, esta bactéria tem sido isolada em vários alimentos, como: saladas, nos queijos feitos a partir de leite não pasteurizado, nos cogumelos, na carne, no salmão, nos molhos e nos patês (ALLERBERGER e WAGNER, 2010; BURALL et alii, 2012; CHENAL-FRANCISQUE et al., 2011; JANAKIRAMAN, 2008; LAMONT et al., 2011; ROSSI et al., 2008).

5. *Clostridium botulinum*

Clostridium botulinum é um bacilo que produz a toxina botulínica responsável por causar a doença conhecida como botulismo. O botulismo clássico já não pode ser relacionado exclusivamente ao consumo de alimentos preparados em casa, pois o botulismo é o frequentemente relacionado a surtos em restaurantes pelo consumo de tubérculos, vegetais, carnes, enlatados ou até mesmo em alimentos não enlatados (FERREIRA & DOMINGUES, 2008).

Botulismo ainda é uma doença considerada rara, porém é de considerável gravidade. Nos Estados Unidos ocorrem por ano em torno de 100 casos. Em Taiwan em um período de 20 anos foram confirmado cinco casos que estavam em sua maioria associados ao consumo de comida fermentada, alimento característico do país (TSENG et al., 2009).

O botulismo é uma doença de distribuição no mundo todo e afeta pessoas em casos isolados ou em surtos familiares. É considerado um problema de saúde pública por sua alta gravidade e letalidade. De ocorrência súbita, se caracteriza por manifestações neurológicas e alta mortalidade (BARBOZA et al., 2011).

BARBOZA et al. (2011) relataram um surto familiar de botulismo no estado do Ceará, onde três pessoas da mesma família foram acometidas após ingestão de torta de frango caseira. Os sintomas eram característicos de botulismo o que fez com que a equipe médica optasse imediatamente pelo tratamento dos acometidos com soro antibotulínico, mesma com a conduta adotada sendo a correta não pode-se evitar que um dos pacientes viesse à óbito.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

A- Obtenção dos alimentos de origem animal e vegetal.

- compra ou doação de alimentos (leite e derivados, carnes, ovos, legumes e verduras) em feiras e açougues do DF.

- condicionar em sacos estéreis condições de temperatura ambiente, simulando como quando o consumidor irá trazê-lo a sua residência.

B- Preparo das amostras

-Pré-enriquecimento: As amostras antes de serem passadas para o meio de cultura atribuído passará por um pré-enriquecimento, onde utilizaremos 25g de amostra, 225mL de água peptona 1%, incubando a 36°C por 16 a 20 hrs. Este pré-enriquecimento visa melhoria na quantidade de bactérias para plaqueamento.

Amostras líquidas

-Amostras líquidas em frascos com espaço suficiente para agitação devem ser misturadas antes da retirada da unidade analítica, invertendo-se a embalagem 25 vezes.

- Antes de abrir a embalagem, limpar a área externa com etanol 75%, para remoção dos contaminantes presentes.

Amostras sólidas

- Antes de abrir a embalagem, limpar a área externa com etanol 75%, para remoção dos contaminantes presentes.

- Pesar 25g. Retirar assepticamente a amostra e transferir para um liquidificador, contendo 225 mL do diluente (água peptonada 1%). Triturar e homogeneizar por 60 segundos. Transferir o material diluído (10^{-1}) para um erlenmeyer de 500mL e proceder às diluições subsequentes (10^{-2} , 10^{-3} etc.) utilizando tubos com 9,0mL do diluente.
- Amostra direta – transferir assepticamente 1,0 mL ou 10 mL das amostras para o meio em questão.
- Amostra diluída - diluições seriadas: 10^{-1} – transferir assepticamente uma porção de 1,0mL da amostra para 9,0 mL de diluente (água salina peptonada 0,1%), para a preparação da segunda diluição (10^{-2}), transferir assepticamente 1,0 mL da diluição 10^{-1} para 9,0 mL de diluente. As diluições subsequentes (10^{-3} , 10^{-4} etc.) são obtidas de maneira similar, transferindo-se 1,0 mL da diluição anterior para 9,0 mL de

diluyente. Antes de retirar o volume a ser transferido, agitar o tubo no agitador tipo "vortex" ou inverter o tubo 25 vezes.

- As diluições serão utilizadas para sequenciar o crescimento, como não temos estimativas do crescimento dos micro-organismos, iremos realizar semeio de amostras 10^0 a diluição 10^7 .

C- Técnica do Plaqueamento em profundidade -"Pour Plate"

- Selecionar três diluições adequadas da amostra e inocular 1,0mL de cada diluição em placas de Petri estéreis. (realizar este procedimento em duplicatas)
- Verter nas placas inoculadas \pm 20 mL do ágar requerido para a análise PCA, previamente fundido e resfriado a 45° C. Misturar o inóculo com o meio de cultura movimentando suavemente as placas, numa superfície plana e seca, em movimentos circulares (4 vezes no sentido horário, 4 vezes no sentido anti-horário e 4 vezes na forma de oito).
- Esperar solidificar o meio.
- Inverter as placas e incubar nas temperaturas requeridas.

D-Técnica do Plaqueamento em superfície

- Do material pré-enriquecido pipetar 0,1 ml, adicionar o inóculo em placa de petri contendo meio sólido.
- Espalhar o inóculo em toda a superfície da placa.
- Incubar em estufa bacteriológica.

E- Identificação de Cepas bacterianas

- Provas de identificação pelo método de RUGAI para identificar espécies bacterianas.
- Kit de soroaglutinação para identificar enterotoxinas de *Staphylococcus aureus*.

5 RESULTADOS

Todo o experimento foi realizado no laboratório de Microbiologia do Centro Universitário de Brasília, UniCEUB. As amostras foram obtidas em forma de doação e processadas no mesmo dia visando o impedimento de contaminação cruzada das mesmas.

A partir da metodologia de Pour plate de cada diluição utilizou-se 1,0 ml como inóculo, em duplicata, e ao final da incubação, usualmente 48 horas, as colônias foram contadas e o resultado médio de cada diluição foi registrado e multiplicado pelo fator da diluição, que é a recíproca da diluição. As placas adequadas para contagem devem ter entre 30 a 300 colônias. Como por exemplo, 100 colônias na diluição 1/100, o resultado é 10.000 UFC/ml ou grama da amostra. Usualmente o resultado final é registrado em UFC que significa unidades formadoras de colônias isto porque em algumas situações não é uma única célula que dá origem a uma colônia, mas um agregado de células.

O quadro abaixo demonstra os resultados obtidos após a contagem das colônias de bactérias após a metodologia de Pour Plate. As placas onde não foi possível a contagem devido ao número excessivo de UFC (>300), foi aplicado a legenda de NC (não conclusivo) e NI (número inferior), quando o número de colônias contados é inferior a 30 UFC.

Quadro 2- número de UFC encontradas nas diluições seriadas

AMOSTRA		CONCENTRAÇÃO			
		1:10	1:100	1:1000	1:10000
1	CARNE BOVINA 1	NC	NC	56	31
2	CARNE BOVINA 2	NC	NC	76	32
3	CARNE BOVINA 3	NC	NC	289	83
4	QUEIJO RALADO 1	NC	NC	237	75
5	QUEIJO RALADO 2	234	121	45	NI
6	QUEIJO CURADO 1	245	145	31	NI
7	QUEIJO CURADO 2	NC	NC	245	121
8	QUEIJO FRESCO 1	134	76	30	NI
9	QUEIJO FRESCO 2	234	139	54	NI
10	OVO 1	NC	234	123	39
11	OVO 1- GEMA	178	47	NI	NI
12	OVO 1- CLARA	45	NI	NI	NI
13	OVO 2	NC	257	132	35
14	OVO 2- GEMA	32	NI	NI	NI
15	OVO 2- CLARA	49	NI	NI	NI
16	OVO 3	NC	154	42	NI

17	OVO 3- GEMA	34	NI	NI	NI
18	OVO 3- CLARA	67	45	NI	NI
19	LEITE 1	NC	298	159	NI
20	LEITE 2	234	168	78	30
21	LEITE 3	SC	SC	SC	SC
22	LEITE 4	267	66	32	NI
23	LEITE 5	NC	269	76	NI
24	CARNE DE FRANGO 1	NC	NC	121	NI
25	CARNE DE FRANGO 2	NC	NC	167	31
26	CARNE DE FRANGO 3	NC	NC	78	NI
27	CARNE DE FRANGO 4	NC	NC	278	43
28	CARNE DE FRANGO 5	NC	NC	247	32
29	CARNE BOVINA 4	NC	289	45	NI
30	CARNE BOVINA 5	NC	230	76	NI

Fonte: dos autores, 2016

LEGENDA:

NC- Não conclusivo (número de colônias superior a 300 UFC)

NI- Número inferior (número inferior a 30 UFC)

SC- Sem crescimento

Para ser avaliado o número de unidades formadoras de colônias foi realizado o cálculo a partir da última diluição onde foi possível contagem, este número é necessário para que se obtenha o total de UFC/mL. O que denomina se um alimento é apto ou não para consumo de acordo com a legislação vigente.

Quadro 3- Número absoluto de UFC/ML

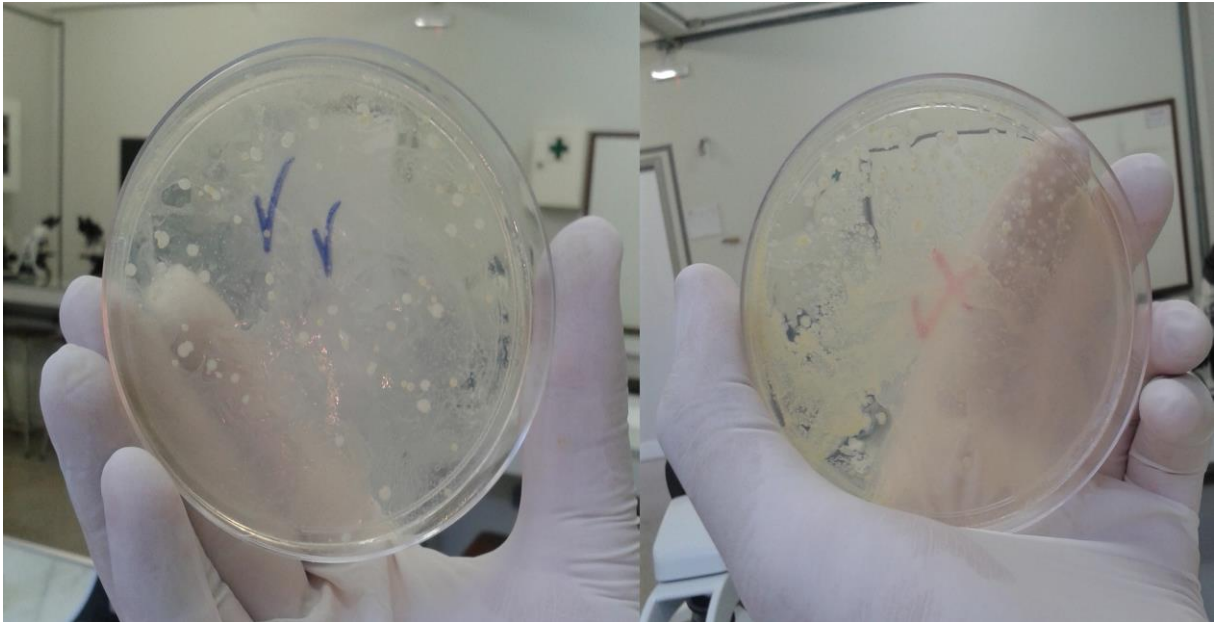
AMOSTRA		TOTAL DE UFC/mL			
		1:10	1:100	1:1000	1:10000
1	CARNE BOVINA 1	NC	NC	56000	310000
2	CARNE BOVINA 2	NC	NC	76000	320000
3	CARNE BOVINA 3	NC	NC	289000	830000
4	QUEIJO RALADO 1	NC	NC	237000	750000
5	QUEIJO RALADO 2	2340	12100	45000	NI
6	QUEIJO CURADO 1	2450	14500	31000	NI
7	QUEIJO CURADO 2	NC	NC	245000	1210000
8	QUEIJO FRESCO 1	1340	7600	30000	NI

9	QUEIJO FRESCO 2	2340	13900	54000	NI
10	OVO CASCA 1	NC	23400	123000	390000
11	OVO 1- GEMA	1780	4700	NI	NI
12	OVO 1- CLARA	450	NI	NI	NI
13	OVO CASCA 2	NC	25700	132000	350000
14	OVO 2- GEMA	320	NI	NI	NI
15	OVO 2- CLARA	490	NI	NI	NI
16	OVO CASCA 3	NC	15400	42000	NI
17	OVO 3- GEMA	340	NI	NI	NI
18	OVO 3- CLARA	670	4500	NI	NI
19	LEITE 1	NC	29800	159000	NI
20	LEITE 2	2340	16800	78000	300000
21	LEITE 3	SC	SC	SC	SC
22	LEITE 4	2670	6600	32000	NI
23	LEITE 5	NC	26900	76000	NI
24	CARNE DE FRANGO 1	NC	NC	121000	NI
25	CARNE DE FRNAGO 2	NC	NC	167000	310000
26	CARNE DE FRANGO 3	NC	NC	78000	NI
27	CARNE DE FRANGO 4	NC	NC	278000	430000
28	CARNE DE FRANGO 5	NC	NC	247000	320000
29	CARNE BOVINA 4	NC	28900	45000	NI
30	CARNE BOVINA 5	NC	23000	76000	NI

Fonte: dos autores, 2016

A figura abaixo é possível observar algumas amostras do experimento onde foi possível a contagem das colônias e onde não foi possível visualizar devido ao número exacerbado de microorganismos.

Figura 4- Amostras utilizadas na contagem de UFC, a esquerda onde é possível contagem a direita onde não é possível contagem.

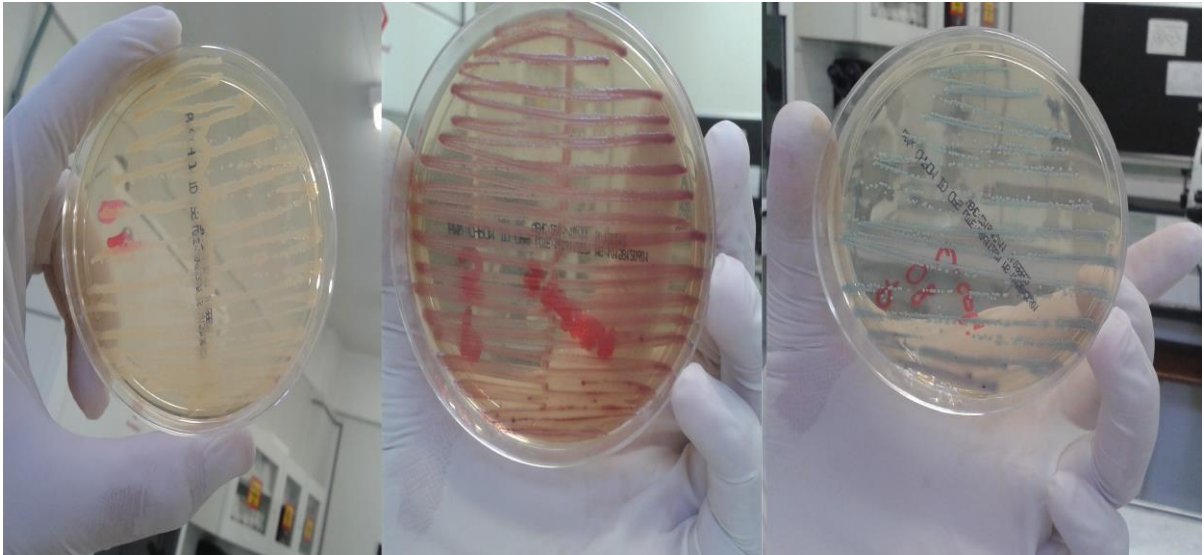


Fonte: dos autores, 2016

Foi realizado a coloração de Gram e a utilização de Ágar cromogênico para diferenciação dos microorganismos para posterior identificação com metodologia específica: os micro-organismo Gram positivos foram submetidos aos testes de catalase e coagulase para identificação do gênero *Staphylococcus aureus*. Não foi realizada a pesquisa de enterotoxinas pois o kit diagnostico solicitado ao início do projeto não foi adquirido.

A figura 5 abaixo demonstra o crescimento em ágar cromogênico CPS da marca Biomerieux utilizado no projeto como uma identificação de algumas cepas específicas, como a bactéria *Escherichia coli*.

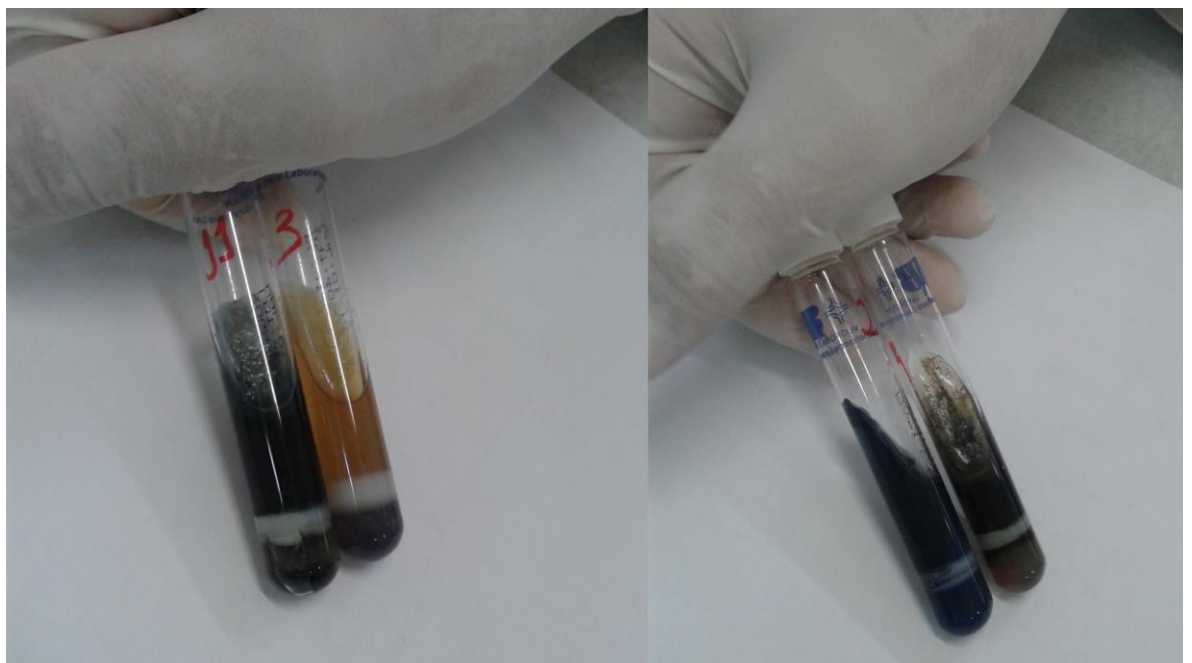
Figura 5- Ágar CPS com crescimento de colônias de *Staphylococcus* sp. (à esquerda) *Escherichia coli* (centro) e grupo KECS (*Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter* e *Serratia*).



Fonte: dos autores, 2016

As tidas como Gram Negativos foram identificados através de provas bioquímicas através da metodologia de Rugai com lisina, onde através de provas bioquímicas é observado o comportamento da bactéria quando exposta a diferentes substratos, e por alteração de pH a mudança de cor como demonstrado na figura 6 abaixo.

Figura 6- Identificação de enterobactérias pelo método de Rugai com Lisina



O quadro abaixo correlaciona a amostra primária, o micro-organismo isolado e o número absoluto de UFC/mL obtida através do último valor em que foi possível contagem a partir da metodologia empregada.

Quadro 4- Microorganismos isolados e UFC/mL observadas

	AMOSTRA	Micro-organismo isolado	UFC/mL
1	CARNE BOVINA 1	<i>Pseudomonas sp.</i>	3,1x10 ⁵
2	CARNE BOVINA 2	<i>Salmonella sp.</i>	3,2x10 ⁵
3	CARNE BOVINA 3	<i>Enterobacter</i>	8,3x10 ⁵
4	QUEIJO RALADO 1	<i>Salmonella sp.</i>	7,5x10 ⁵
5	QUEIJO RALADO 2	<i>Proteus mirabilis</i>	4,5x10 ⁴
6	QUEIJO CURADO 1	<i>Citrobacter sp.</i>	3,1x10 ⁴
7	QUEIJO CURADO 2	<i>Citrobacter sp.</i>	1,2x10 ⁶
8	QUEIJO FRESCO 1	<i>Citrobacter sp.</i>	3x10 ⁵
9	QUEIJO FRESCO 2	<i>Enterobacter sp.</i>	5,4x10 ⁴
10	OVO CASCA 1	<i>Providencia sp.</i>	1,2x10 ⁵
11	OVO 1- GEMA	<i>Proteus vullgaris</i>	4,7x10 ³
12	OVO 1- CLARA	<i>Proteus vullgaris</i>	4,5x10 ²
13	OVO CASCA 2	<i>Proteus mirabilis</i>	3,5x10 ⁵
14	OVO 2- GEMA	<i>Proteus mirabilis</i>	3,2x10 ¹
15	OVO 2- CLARA	<i>Proteus mirabilis</i>	4,9x10 ¹
16	OVO CASCA 3	<i>Klebisiella sp.</i>	4,2x10 ⁴
17	OVO 3- GEMA	<i>Shigella sp.</i>	3,4x10 ¹
18	OVO 3- CLARA	<i>Proteus mirabilis</i>	4,5x10 ³
19	LEITE 1	<i>Proteus mirabilis</i>	1,5x10 ⁵
20	LEITE 2	<i>Pseudomonas sp.</i>	3x10 ⁵
21	LEITE 3	NÃO HOUE CRESCIMENTO	-
22	LEITE 4	<i>Staphylococcus sp.</i>	3,2x10 ⁴

23	LEITE 5	<i>Citrobacter sp.</i>	7,6x10 ⁴
24	CARNE DE FRANGO 1	<i>Staphylococcus sp.</i>	1,2x10 ⁵
25	CARNE DE FRANGO 2	<i>Escherichia coli</i>	1,6x10 ⁵
26	CARNE DE FRANGO 3	<i>Escherichia coli</i>	7,8x10 ⁴
27	CARNE DE FRANGO 4	<i>Staphylococcus sp.</i>	2,7x10 ⁵
28	CARNE DE FRANGO 5	<i>Proteus sp.</i>	2,4x10 ⁵
29	CARNE BOVINA 4	<i>Pseudomonas sp.</i>	4,5x10 ⁴
30	CARNE BOVINA 5	<i>Staphylococcus sp.</i>	2,3x10 ⁴

Fonte: dos autores, 2016

As espécies bacterianas patogênicas foram confirmadas por sorologia específica, como no caso dos microorganismos *Shigella sp.*, *Salmonella sp.* e *Escherichia coli*. O gênero *Staphylococcus* não foi possível a identificação de enterotoxinas pois o kit reagente não foi adquirido, sendo só possível a identificação do gênero *S. aureus* devido ao teste de coagulase, no caso, com resultado positivo.

6 DISCUSSÃO

Dos resultados encontrados nas análises microbiológicas das amostras de produtos e comercializados nas feiras e alguns açougues do Distrito Federal, indicam que o controle sobre estes estabelecimentos pelo órgão responsável apresenta algumas discrepâncias, segundo a Legislação Brasileira, os alimentos comercializados devem estar dentro dos padrões de normalidade microbiológico estabelecidos em resoluções específicas para cada alimento (Site: ANVISA.gov, 2016).

Os resultados encontrados neste projeto para as amostras de ovos em relação ao patógeno de maior importância (*Salmonella sp.*), está de acordo com a Resolução N° 12, de 2001, com ausência do isolamento do patógeno, o que indica que estas amostras estão dentro do padrão de qualidade microbiológico. O que condiz com os resultados encontrados por Leite et al.; em 2016, sobre um estudo realizado na Paraíba sobre a qualidade microbiológica de ovos caipiras.

Em um estudo realizado por Vaz et al. (2012), onde se avaliou o grau de contaminação microbiana de ovos oriundos de criação caipira e de estabelecimentos de produção comercial, com N amostral de 120 amostras, foi relatados pelos autores que o grau de contaminação no ovo oriundo da criação do caipira foi maior do que o proveniente de produção comercial, mas, o trabalho também não apresentou o isolamento de *Salmonella* spp. No presente estudo, foram realizadas análises de 3 ovos de estabelecimentos diferentes, diluindo estas amostra para maior acurácia do estudo, totalizando 9 amostras.

Em um estudo realizado por Gomes Filho, Et al. (2014), pela na análise de 14 ovos coletados em feiras livres foram isoladas algumas espécies de enterobactérias dentre elas *Escherichia coli*, *Citrobacter* spp., *Enterobacter* spp., *Proteus* spp., *providencia* spp., *Klebsiella* spp., *Shigella* spp. E no conteúdo interno, *Escherichia coli*, *Shigella* spp., *Citrobacter* spp., *Yersinia* spp. e *Klebsiella* spp. O que condiz com os resultados do presente estudo. Dos micro-organismos isolados, o de maior relevância clínica isolado foi *Shigella* sp. Uma das doenças infecciosas causadas por esta bactéria é a shigelose, e tem sintomas que incluem dor retal, febre, diarreia e cólicas abdominais. Existem vários tipos de bactéria *Shigella*, sendo o sorotipo D os mais patogênicos. Ao fazer a sorotipagem da amostra do experimento, foi identificado o sorotipo D, o que potencialmente poderia ocasionar uma infecção no consumidor.

Para ser garantida a qualidade do ovo é válido ressaltar a importância da orientação tanto do produtor, do comerciante e do consumidor dos critérios e condições higienico-sanitárias para se obter a segurança do produto, estas medidas devem ser adotadas com o objetivo do aumento da qualidade do produto em virtude da diminuição de sua contaminação. O ovo está exposto a uma série de contaminantes que interferem diretamente em sua qualidade, seja funcionários, equipamento, manejo inadequado e até a própria ave, que quando contaminada pode passar os intitulados coliformes fecais, onde se concentram bactérias provenientes do trato gastrointestinal de humanos e animais e são tipos como os principais agentes etiológicos isolados em gastroenterites (ANDRADE, et al. 2004).

No ano de 2008, Musgrove Et al. isolaram *E. coli*, assim como *Enterobacter*, e estes foram os patógenos mais prevalentes em amostras de cascas dos ovos desinfetados e destinado ao comércio. Em relação ao conteúdo interno de ovos de feiras livres, Andrade et al. (2004) observaram que *E. coli* e *Citrobacter* sp., estavam

presentes em pequena porção das amostras, sendo ainda menores os números de isolamento.

Foram analisadas no presente estudo 5 amostras de carne bovina, onde foram identificadas bactérias dos gêneros: *Pseudomonas sp.*, *Citrobacter sp.* e *Staphylococcus sp.* Com relação a RDC nº 12/20013, o Brasil não dispõe de padrões microbiológicos para coliformes totais e coliformes termotolerantes na carne bovina in natura. Em um estudo realizado por Matos Et al.,2012, a quantidade de coliformes totais variou de 3×10^1 a $3,5 \times 10^4$ UFC/mL, e de *Staphylococcus aureus* variou de 6×10^2 a $2,9 \times 10^4$. O que segundo sua pesquisa e a literatura indicavam que condições higienico-sanitarias destes estabelecimentos encontram-se insatisfatórias durante o processamento da carne e inexistência de boas práticas de manipulação.

No presente estudo a quantidade de UFC/mL para o gênero *Staphylococcus* teve média de $2,4 \times 10^4$, e para coliformes totais o menor número encontrado foi de $3,2 \times 10^5$, o que condizente com o estudo de Matos Et al., 2012 e colaboradores, o que indica que as condições higienico-sanitarias dos estabelecimentos selecionados de modo aleatório para o estudo estão insatisfatórias.

O dado mais preocupante encontrado no estudo foi o isolamento do gênero *Salmonella sp.*; agente altamente patogênico causador de gastroenterite salmonelose o sorotipo encontrado no experimento classifica o patógeno como *Salmonella enteritidis*, no estudo realizado por Cardoso e Tessari no ano de 2013, retratam a *S. enteritidis* como o patógeno mais comumente isolado nas ocorrências de toxinfecções em humanos, tendo uma prevalência significativa e de distribuição mundial, geralmente encontrada em cortes de frango contaminados. O que leva a consideração de contaminação devido ao manejo inadequado nos estabelecimentos.

O leite cru segundo Instrução normativa Nº 51, de 2002, deve apresentar contagem de micro-organismo entre os valores máximo de $1,0 \times 10^5$ (provenientes de uma única unidade de processamento) e máximo de $3,0 \times 10^5$ (quando oriundo de várias unidades de processamento). Foram analisadas 5 amostras de leite cru, onde foram isolados micro-organismos dos gêneros *Proteus sp.*, *Pseudomonas sp.*; *Staphylococcus sp.* e *Citrobacter sp.*, sendo que nenhuma das amostras apresentou número de micro-organismos superior ao descrito da RDC.

O maior número absoluto de micro-organismos observado foi do gênero *Pseudomonas sp.* 3×10^5 , trata-se de um patógeno de ambiente amplamente disseminado e capaz de transmitir doenças inespecíficas em imunocomprometidos.

No estudo de Pinto Et al. 2006, onde foi avaliado a qualidade microbiológica em leite cru refrigerado observaram que o número de micro-organismos isolados variou entre $1,4 \times 10^6$ UFC/mL e $5,5 \times 10^6$ UFC/mL e este número está acima do padrão estabelecido na legislação vigente. Observa-se que a contaminação elevada que conta no estudo pode estar associada a manipulação humana, ou seja, o manuseio ou higienização inadequada em algum ponto do processo de produção.

Segundo a RDC N°12 de 2001, o número máximo de coliformes é de $< 5 \times 10^2$, para queijo com alto teor de umidade, no presente estudo foi encontrado o valor de 3×10^5 , o que o torna inapto para consumo de acordo com a legislação vigente, a contaminação de queijos merece destaque quando está associada a bactérias patogênicas, como *Salmonella* e *Staphylococcus aureus* produtores de toxinas, o isolamento destes microorganismos é preocupante pois são altamente virulentos.

A presença de bactérias do grupo coliformes fecais ou coliformes termotolerantes em alimentos é tida como um indicador de contaminação fecal, indicando assim que as condições higienico-sanitárias são insatisfatórias, indicando uma possível ocorrência de patógenos entéricos (BRASIL, 2001), para carnes de aves, deve-se pesquisar obrigatoriamente coliformes a 45°C/g e a tolerância para amostra indicativa é de 10^4 UFC/g (se obtido por contagem em placa) ou 10^4 NMP/g (se obtido por metodologia do número mais provável) . No presente estudo se observou que em todas as amostras onde foram isolados coliformes, o número máximo foi ultrapassado, destacando que as condições higienico-sanitárias estão insatisfatórias. Num estudo descrito por Cardoso et al. (2005) se observa contagens que variam de 3×10^2 e $7,4 \times 10^3$ UFC/g. Dentro dos padrões de normalidade. A contagem deste grupo tem sido usada na literatura como indicador de qualidade higiênica, indicando se a limpeza, a desinfecção e o controle da temperatura durante os processos de tratamento industrial, transporte e armazenamento foram realizados de forma adequada.

7 CONCLUSÃO

Conclui-se com este estudo que a avaliação microbiológica e as boas práticas de produção e manipulação são fundamentais para que o produto final seja ofertado com qualidade e livre de micro-organismo potencialmente causadores de infecções.

Nossos resultados mostraram ainda que as contagens dos micro-organismos indicadores da qualidade higienico-sanitárias inferiores àquelas estabelecidas na legislação atualmente em vigor em relação as amostras de carne de frango, e bovina, devido ao gênero de micro-organismo isolado e a quantidade observada, o que revela que a qualidade destes produtos em algumas feiras e açougues do Distrito Federal não tem boa qualidade.

É necessário um treinamento com a equipe que trabalha nesses estabelecimentos, no intuito de conscientizar a importância da biossegurança e boas práticas, em vista da saúde da comunidade que se beneficia com estes alimentos. A correta lavagem de utensílios, higienização de mãos e bancadas contribuem grandemente para a diminuição destes índices.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADESIYUN, A.; OFFIAH, N.; SEEPERSADSINGH, N.; RODRIGO, S.; LASHLEY, V.; MUSAI, L. Frequency and antimicrobial resistance of enteric bacteria with spoilage potential isolated from table eggs. **Food Research International**, Toronto, v. 39, n. 2, p 212- 219, 2006.

ALLOS, B. M. *Campylobacter jejuni* infections: update on emerging issues and trends. **Clinical Infectious Diseases**, v. 32, n.1, p. 1201-1206. 2001.

ALLERBERGER, F; WAGNER, M. Listeriosis: a resurgent foodborne infection. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 16, n.1, p. 17-23. 2010.

ANDRADE, M. A., CAFÉ, M. B., JAYME, V. S., ROCHA, P. T., LEANDRO, N. S. M., STRINGHINI, J. H. Avaliação da qualidade bacteriológica de ovos de galinha comercializados em Goiânia. Goiás. Brasil. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v.5, n. 4, p.221-228, 2004.

BARBOSA, T. C. R. **Surtos de algumas doenças transmitidas por alimentos no Brasil**. [online]. 28 f. Monografia (Pós Graduação em Microbiologia) - Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais. 2009.

BARBOZA, M.M.O.; SANTOS, N.F.; SOUSA, O.V. Surto familiar de botulismo no Estado do Ceará: relato de caso. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** [online], v. 44, n. 3, p. 400-402, 2011.

BRASIL, Ministério da Saúde, "Portal do Ministério da Saúde", disponível em: <<http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/o-ministerio/principal/secretarias/svs/doencas-transmitidas-por-alimentos-dta>> acesso em: 10/04/2015. 2010.

BRASIL, ANVISA- Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/alimentos/legis/especifica/regutec.htm>; acesso em 12/08/2016.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretária de Vigilância em Saúde. Vigilância epidemiológica das doenças transmitidas por alimentos no Brasil, 1999 – 2004. **Boletim eletrônico epidemiológico**, ano 05, n. 6, dezembro 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretária de Vigilância em Saúde/UHA/CGDT. **Dados epidemiológicos** – DTA período de 2000-2011, 2011.

BURALL, L. S. et al. *Listeria monocytogenes* Mutants with Altered Growth Phenotypes at Refrigeration Temperature and High Salt Concentrations. **Journal ASE.org**, v.78,n.4, p. 1265-1272. 2012.

CAMEJO, A. et al. The arsenal of virulence factors deployed by *Listeria monocytogenes* to promote its cell infection cycle. **Virulence**, v. 2, n.5, p. 379-394. 2011.

CANGEM, J. R. Food Poisoning and Diarrhea: Small Intestine Effects. **Curr Gastroenteral Rep**, v.1, n.3, p. 442-448. 2011.

CARDOSO, A.L. S.P.; TESSARI, E.N.C; *Salmonella enteritidis* em aves e na saúde pública: revisão de literatura. **Revista Eletrônica de Medicina Veterinária** –ISSN: 1679.7353, Ano XI, n. 21 junho, 2013.

CARNEIRO, L. C. Avaliação de *Escherichia coli* em manipuladores de alimentos. **Tindade/Go**, v. 2, n.2, p. 31-42. 2008.

CARVALHO, I.T. Microbiologia dos alimentos- **Programa Escola Técnica do Brasil (ETEC-Brasil)**- Recife: EDUFRPE, 2010.

CHAURET, C. et al. Survival and control of *Escherichia coli* O157:H7: in foods, beverages, soil and water. **Virulence**, v. 2, n.6, p. 593-601. 2011.

CHENAL-FRANCISQUE, V. et al. Worldwide Distribution of Major Clones of *Listeria monocytogenes*. **Emerging Infectious Diseases**, v. 17, n.6, p. 1110-1112. 2011.

(Disponível em: < <http://www.not1.xpg.com.br/nova-bacteria-europa-surto-de-escherichia-coli-causas-e-tratamento/>>, consultado em 22/08/2016).

ELSA, J. D. et al. Survival of *Escherichia coli* in the environment: fundamental and public health aspects. **The ISME Journal**, v. 5, n.1, p. 173–183. 2011.

European Food Safety Authority e European Centre for Disease Prevention and Control. The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses,

Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2009. **EFSA Journal**, v.9, n.3, p. 1-238. 2011.

European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and Control. The European Union Summary Report on antimicrobial resistance in Doenças Alimentares de Origem Bacteriana 65 zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in the European Union in 2009. **EFSA Journal**, v.9, n.7, p. 1-2154. 2011.

European Food Safety Authority. Scientific opinion on the public health risks of bacterial strains producing extended-spectrum β -lactamases and/or AmpC β -lactamases in food and food-producing animals. **EFSA Journal**, v.9, n. 8, p. 1-95. 2011.

FERREIRA, E. O.; CAMPOS, L. C. *Salmonella*. In: TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. 5. ed. Ed.Atheneu, 2008. Cap, 43, p. 329-338.

FERREIRA, M. C.S.; DOMINGUES, R.M.C.P.; *Clostridium*. In: TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. 5.ed. Ed.Atheneu, 2008. Cap. 52, p. 397-403.

FERENS, W. A; HOVDE C. J. *Escherichia coli* O157:H7: Animal Reservoir and Sources of Human Infection. **Foodborne Pathogens and Disease**, v.8, n. 4, p.465-487. 2011.

FINSTAD, S.; O'BRYAN, C.A.; MARCY, J.A.; GRANDALL, P.G.; RICKE, S.C. Salmonella and broiler processing in the United States: Relationship to foodborne salmonellosis. **Food Research International** [online], v. 45, p. 789-794, 2012.

FORSYTHE, S.J. Microbiologia da Segurança Alimentar. Brasil, **Artmed**. 2002.

FRANCO, B. D. G.; LANDGRAF, M. Microbiologia dos Alimentos. São Paulo, **Editora Atheneu**, 1996.

GARDNER, T. J. et al. Outbreak of Campylobacteriosis Associated with Consumption of Raw Peas. **Clinical Infectious Diseases**, v. 53, n.1, p. 26-32. 2011.

GOMES FILHO, V.J.R.; Pesquisa de *Salmonella* spp. em galinhas criadas em fundo de quintal (*Gallus gallus domesticus*) e ovos comercializados nas feiras livres na

cidade de Fortaleza, Ceará, Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v. 35, n. 4, p. 1855-1864, jul. /ago. 2014.

HEITHOFF, D. M. *et al.* Intraspecies Variation in the Emergence of Hyperinfectious Bacterial Strains in Nature. **PLoS Pathogens**. v.8, n.4, p. 1-17. 2012.

JANAKIRAMAN, V. Listeriosis in Pregnancy: Diagnosis, Treatment, and Prevention. **Reviews in Obstetrics & Gynecology**, v. 1, n.4, p. 179-185. 2008.

LAMONT, R. F. *et al.* Listeriosis in Human Pregnancy: a systematic Review. **J. Perinat. Med**, v. 39, v.1, p. 227-236. 2011.

LINDSAY, J. A. Chronic sequelae of foodborne disease. **Emerging Infectious Diseases**, v.3, n.4, p. 443-452. 1997.

LITTLE, C.L.; AMAR, C.F.L.; AWOFISAYO, A.; GRANT, K.A. Hospital-acquired listeriosis associated with sandwiches in the UK: a cause for concern. **Journal of Hospital Infection** [online], v. 82, p. 13-18, 2012.

LEITE, *et al.*; Qualidade microbiológica de ovos de galinhas caipira comercializados no interior da Paraíba, **Revista AGROTEC** – v. 37, n. 1, p. 32-35, Porto, Portugal, 2016.

MANTILLA, S. P. S. *et al.* Importance of *Listeria monocytogenes* on foods from animal origin. **Revista da FZVA**, v. 14, n.1, p. 180-192. 2007.

MUSGROVE, M. T.; NORTHCUTT, J. K.; JONES, D. R., COX, N. A.; HARRISON, M. A. Enterobacteriaceae and related organisms isolated from shell eggs collected during commercial processing. **Poultry Science**, Champaign, v. 87, n. 6, p.1211-1218, 2008.

NEWELL, D. G. *et al.* Food-borne diseases- The challenges of 20 years ago still persist while new ones. **International Journal of Food Microbiology**, v.139, n. 2, p. S3-S15. 2010.

ORDÓNEZ, A. A. *et al.* *Salmonella* spp. survival strategies within the host gastrointestinal tract. **Microbiology**, v.1 n. 57, p. 3268–3281. 2011.

OSTERHOLM, M.T. Foodborne disease in 2011- The resto of the story. **The New England Journal of Medicine**, v. 364, n. 10, p. 889-891. 2011.

PINTO, C. L. O; Et al.; Qualidade microbiológica de leite cru refrigerado e isolamento de bactérias psicotróficas e proteolíticas. **Ciências e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, 26(3): 645-651, jul.-set. 2006.

ROSSI, M. L. et al. Brotes de infección por *Listeria monocytogenes*: Una revisión de las vías que llevan a su aparición. **Rev Chil Infect**, v. 25, n.5, p. 328-335. 2008.

SAHIM, O. et al. Molecular Evidence for Zoonotic Transmission of on Emergent, Highly Pathogenic *Campylobacter jejuni* Clone in the United States. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 50, n.3, p.680-687. 2011.

SHINOHARA, N. K. S. et al. *Salmonella* spp., important pathogenic agent transmitted through foodstuffs. **Ciência & Saúde Coletiva**, v.13, n.5, p. 1675-1683. 2008.

SILVA, J. S. et al. *Campylobacter* spp. as a foodborne pathogen: a review. **Frontiers in Microbiology**, v. 2, n.20, p. 1-12. 2011.

VIEGAS, S.J. Alterações do Estado de Saúde Associadas à Alimentação: contaminação microbiológica. Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge. **Departamento de Alimentação e Nutrição**. Unidade de Observação e Vigilância, Lisboa. 2009.

THAKUR, M.; OLAFSSON, S.; LEE, J.S.; HURBURG, C.R. Data mining for recognizing patterns in foodborne disease outbreaks. **Journal of Food Engineering** [online], v. 97, p. 213-227, 2010.

TSENG, C.K.; TSAI, C.H.; TSENG, C.H.; TSENG, Y.C.; LEE, F.Y.; HUANG, W.S. An outbreak of foodborne botulism in Taiwan. **International Journal of Hygiene and Environmental Health** [online], v. 212, p. 82-86, 2009.

WU, C. J. et al. A new health threat in Europe: Shiga toxine producing *Escherichia coli* O104:H4 infections. **Journal of Microbiology, Immunology and Infection**, v. 44, n.1, p.390-393. 2011.

YOUNG, K. et al. *Campylobacter jejuni*: molecular biology and pathogenesis. **Nature Reviews Microbiology**. V. 5, n.1, p. 665-679. 2007.