



Viabilidade de *Escherichia coli* patogênica em linguiça frescal suína

Checking the viability of Escherichia coli pathogens in fresh pork sausage

Robson Maia Franco^[a], Samira Pirola Santos Mantilla^[b], Luiz Antônio Trindade de Oliveira^[a]

^[a] Médico veterinário, professor Doutor do Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Fluminense (UFF), Niterói, RJ - Brasil, e-mail: robsonmf@vm.uff.br; prof lato@vm.uff.br

^[b] Médica veterinária, Doutoranda de Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal da Universidade Federal Fluminense (UFF), Niterói, RJ - Brasil, e-mail: samiramantilla@yahoo.com.br

Resumo

A *Escherichia coli* patogênica pode ser veiculada por meio de alimentos contaminados, sendo capaz de ocasionar desde leve diarreia até doenças graves como a síndrome urêmica hemolítica, dependendo do sorogrupo incriminado. Os manipuladores de alimentos podem desempenhar importante papel na transmissão de enfermidades veiculadas por alimentos, tanto por hábitos inadequados de higiene pessoal, ou por serem portadores de microrganismos patogênicos. Os equipamentos e utensílios mal higienizados, assim como os vetores e pragas, também contribuem para a contaminação dos produtos industrializados. Essa pesquisa verificou a viabilidade experimental de seis cepas patogênicas de *E. coli* isoladas de carne e fezes suínas, em linguiça frescal tipo toscana, a partir de dois métodos de isolamento. Todas as cepas foram capazes de se desenvolver nas amostras, sendo delas isoladas experimentalmente pelos dois métodos utilizados. A contaminação de linguiças frescas com *E. coli* patogênicas pós-processamento é de suma importância na garantia da qualidade desse produto cárneo, devendo ser evitada com a implantação de sistemas que garantam a inocuidade dos produtos alimentícios.

Palavras-chave: Embutidos. Enteropatógeno. Contaminação pós-processamento.

Abstract

Pathogenic Escherichia coli can be spread through contaminated food and can lead from mild diarrhea to severe diseases such as hemolytic uremic syndrome, depending on the serogroup prosecuted. Food handlers can play an

important role in the transmission of foodborne illness, both by inadequate habits of personal hygiene, or because they are carriers of pathogenic microorganisms. Equipment and utensils cleaned badly, as well as vectors and pests, also contribute to contamination of manufactured products. This research verified the feasibility trial of six pathogenic strains of E. coli isolated from swine feces and meat, fresh sausage type in Tuscany, by two methods of isolation. All strains were able to develop in the samples, and their isolated experimentally by two methods. Contamination of fresh pork sausages with E. coli pathogenic post-processing is of paramount importance in ensuring the quality of meat product and should be avoided through implementation of systems to ensure the safety of food products.

Keywords: Sausages. Enteropathogen. Contamination post-processing.

Introdução

A espécie bacteriana denominada *Escherichia coli* é um bastonete Gram negativo, não esporulado, oxidase negativa, móvel por flagelos peritríquios ou não movel, anaeróbia facultativa capaz de fermentar a glicose e a lactose com produção de ácidos e gases, pertencente à família Enterobacteriaceae (ACHA; SZYFRES, 2001).

As linhagens causadoras de doenças são divididas em cinco grupos: enteropatogênicas (EPEC), enterohemorrágicas (EHEC), enteroinvasivas (EIEC), enterotoxigênicas (ETEC) e enteroagregativas (EaggEC) (JAY, 2005). Atualmente, em países desenvolvidos, EPEC é isolada em surtos esporádicos com frequência muito baixa em casos de diarreia endêmica. Entretanto, em países em desenvolvimento, principalmente nos localizados em zona tropical, EPEC está entre os principais agentes enteropatogênicos, especialmente na diarreia dos lactentes, com altos índices de mortalidade. No Brasil, EPEC é responsável por cerca de 30% dos casos de diarreia aguda em crianças pobres com idade inferior a 6 meses, com predominância dos sorotipos O111:[H-], O111:[H2], O119:H6 e O55:H6 (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

Em geral, o comportamento da *E. coli* em alimentos é semelhante aos de outros membros da família Enterobacteriaceae. Entretanto, alguns fatores podem diferir (VARNAM; EVANS, 1996). Tal como ocorre com todas as bactérias, a sobrevivência e crescimento da *E. coli* em alimentos é dependente da interação de vários parâmetros intrínsecos e extrínsecos, tais como temperatura, irradiação, pH, atividade de água, ingredientes de cura e competição com outros microrganismos (VARNAM; EVANS, 1996; BUCHANAN; DOYLE, 1997).

As linguiças constituem os derivados cárneos fabricados em maior quantidade no Brasil, pois sua elaboração, além de não exigir tecnologias sofisticadas, utiliza poucos e baratos equipamentos. Por ser um produto frescal, a linguiça não sofre tratamento térmico que reduza a sua microbiota e, aliada à sua alta atividade de água, possui pequeno prazo de validade comercial, apesar da utilização do frio para sua conservação (TERRA, 1998; BEZERRA et al., 2007).

As cepas de *E. coli* são importantes como possíveis patógenos transmitidos por alimentos, encontrando-se nas fezes, e em geral têm ampla distribuição, embora em pequenas quantidades, nos ambientes onde se encontram os alimentos (FRANCO, 2002). A qualidade microbiológica de carne e derivados é altamente influenciada pelas condições higiênicas durante sua produção e manipulação. Sem um controle higiênico adequado, o ambiente de abatedouros e açougues pode representar um importante ponto de contaminação (BARROS et al., 2007). Como microrganismo indicador, a presença de *E. coli* nos alimentos em quantidades elevadas é utilizada para indicar a possibilidade de contaminação fecal e a presença de outros microrganismos enteropatogênicos. Como microrganismo potencialmente patogênico transmitido por alimentos, ela adquire novo significado, em especial quando as condições do meio em que se encontra permitem sua multiplicação (FRANCO, 2002).

Pesquisas desenvolvidas no Brasil mostraram a importância dos coliformes fecais e *E. coli* como indicadores higiênico-sanitários na obtenção, nas fases tecnológicas, no processamento e/ou na comercialização de linguiças frescas e dos possíveis riscos que podem correr os consumidores (CHAVES et al., 2000; BARBOSA et al., 2003; CORTEZ et al., 2004; MARQUES et al., 2006; BEZERRA et al., 2007; DIAS et al., 2008).

Essa pesquisa objetivou verificar a viabilidade experimental de cepas patogênicas de *E. coli* isoladas de carne e de fezes suínas, em linguiça frescal tipo toscana, por meio de dois métodos de isolamento, enfatizando a importância da contaminação pós-processamento de derivados cárneos.

Materiais e métodos

A formulação da massa usada para a elaboração da linguiça frescal suína tipo toscana está disposta na Tabela 1.

Tabela 1 - Formulação da massa da linguiça frescal suína

Ingredientes	Quantidade (%)
Matéria-prima	
Carne suína	82,45
Papada	14,60
Condimentos	
Sal	2,41
Açúcar	0,095
Alho	0,19
Pimenta do reino preta	0,24
Aditivo	
Vitamina C ou eritorbato	0,025

No processo de elaboração do embutido, a matéria-prima foi moída em disco com 12 mm de diâmetro, seguida de pesagem e misturada por uma hora. Procedeu-se ao embutimento em tripa natural isenta de contaminação, formando-se gomos de \pm 15 cm, pesando de 30-40 g. Os gomos foram amarrados com barbante esterilizado para minimizar as variáveis contaminantes.

As seis cepas de *E. coli* patogênicas (EPEC - B O125, EPEC - C O86, EPEC - C O126, EPEC - C O128, EIEC - A 029, EHEC - O 157) utilizadas na pesquisa foram previamente isoladas de amostras de carne suína (papada, pleura e músculos intercostais, região subsacral próxima à base da cauda, linfonodos mesentéricos) e de fezes da região ileocecólica (FRANCO, 2002).

Antes da contaminação experimental do embutido com as seis cepas de *E. coli* patogênicas, o produto foi analisado com vistas à eventual presença deste microrganismo, seguindo-se as seguintes metodologias:

- 1) Isolamento e diferenciação de cepas enterohemorrágicas (EHEC) e *E. coli* O157:H7 (MERCK, 1996): pesaram-se 25 g de amostra que foram acondicionadas em bolsa plástica para “stomacher”, esterilizada, e adicionadas de 225 mL de caldo lauril sulfato, sendo homogeneizadas em “stomacher”, em baixa rotação por dois minutos. O homogeneizado foi incubado por 24 horas a 37 °C. Foram semeados 0,1 mL do subcultivo crescido no caldo, na superfície de ágar *E. coli* O157:H7 fluorocult em placas, de modo a obter colônias isoladas, incubando-as por 24 horas

a 37 °C. As colônias sorbitol negativas ou positivas foram analisadas mediante uma lâmpada ultravioleta (UV) com referência à formação de fluorescência. As colônias sorbitol negativas ou positivas, com ou sem fluorescência e isoladas, foram identificadas por biotipificação. Essa foi efetuada a partir da utilização dos meios SIM, TSI, MILI, EPM ágar citrato de Simmons, prova do vermelho de metila, prova de Voges Proskauer, teste de oxidação e fermentação do sorbitol, oxidação e fermentação do manitol, oxidação e fermentação da celobiose e descarboxilação da l-ornitina. Também foram realizados testes sorológicos de acordo com Ewing (1986).

- 2) Pesquisa de colônias de *E. coli* enteropatogênica (MEHLMAN; LOVETT, 1984): pesaram-se 25 g de amostra que foram acondicionadas em bolsa plástica para “stomacher”, esterilizada, e adicionadas de 225 mL de caldo infusão cérebro coração (BHI). O homogeneizado foi transferido para um frasco Erlenmeyer de capacidade de 500 mL e incubado por três horas a 35 °C, para a recuperação das células injuriadas. Após o período de recuperação, o subcultivo crescido em caldo BHI foi semeado por esgotamento em placas (semeadura direta) contendo ágar eosina azul de metileno lactose seg Levine - Levine EMB ágar, ágar MacConkey lactose, ágar MacConkey sorbitol, ágar telurito cefixima sorbitol MacConkey (ágar TC - SMAC), ágar *E. coli* O157:H7 fluorocult e ágar “Hemorrhagic colitis” (HC) isento de MUG, sendo todos os meios incubados por 18h-24h, a 35 °C. O meio HC foi incubado em duplicata, pois nele também se utilizou a temperatura de 44,5 °C, no mesmo período indicado anteriormente. Após o período de enriquecimento não seletivo (BHI), 100 mL do subcultivo de cada tipo de amostra foram transferidos asépticamente para um frasco Erlenmeyer de 250 mL contendo 100 mL de caldo triptona fosfato (TP) em dupla concentração (2N), sendo então incubados a 44 °C ± 0,2 °C por 20 horas, em estufa. Após o período de incubação, foi realizada a semeadura após enriquecimento, em que o subcultivo crescido no Caldo TP-2N foi semeado nos mesmos meios utilizados na semeadura direta.

Graças à variedade de biotipos enteropatogênicos de *E. coli*, foram selecionadas três colônias típicas e três colônias atípicas de cada um dos meios de plaqueamento, onde ocorreram crescimentos. Foram efetuados a biotipificação e testes sorológicos, conforme citado anteriormente.

Durante a realização das duas metodologias descritas anteriormente, o produto foi mantido congelado. Constatada a ausência do microrganismo em questão, o embutido foi descongelado tecnologicamente, procedendo-se à sua contaminação com as estirpes isoladas e estocadas. O preparo das suspensões bacterianas para inoculação no produto foi assim sequenciado: as seis cepas patogênicas estocadas em ágar semi-sólido SIM à temperatura de 5 °C foram semeadas em ágar caso inclinado incubado a 35 °C por 18h-24h, que foram suspensas em SFT de Butterfield e o número de células bacterianas por mL, padronizado, por meio do “The International Reference of Opacity”, de forma a obter-se a concentração de 10¹⁰ células por mL. As suspensões padrões foram diluídas sucessivamente em SFT de Butterfield, com o intuito de obterem-se concentrações aproximadas de 10² a 10³ bactérias por mL, complementadas com a técnica de contagem de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas, para demonstração do número de células viáveis nos inóculos. Estas diluições passaram a constituir as suspensões contaminantes para o produto. Cada gomo foi inoculado, separadamente, com cada uma das cepas, perfazendo um total de 24 gomos e seis cepas, com 3 mL de cada uma das suspensões (10², 10²) – respeitando-se a proporção de 500 g de massa para 50 mL de inóculo –, utilizando-se seringas esterilizadas, cujas inoculações foram feitas nas extremidades e na parte mediana de cada gomo, para distribuição mais uniforme. Em seguida, os gomos inoculados foram acondicionados separadamente em sacos de “stomacher” esterilizados ou sacos “plastistêril”, lacrados e estocados em refrigeração de 4 °C, controlada rigorosamente com termômetro de máxima e mínima, observando o mesmo nível encontrado no comércio varejista por um, dois, quatro e sete dias. Paralelamente às amostras de embutidos (linguiça toscana) inoculadas com os cultivos, foram mantidas, nas mesmas condições, unidades dos embutidos sem prévia inoculação (controle negativo) para observar-se as alterações de cor e odor em função do prazo de vida comercial, sendo as amostras analisadas quanto a estes aspectos no primeiro, segundo, quarto e sétimo dias de manutenção, a 4 °C, comparando-as com as amostras inoculadas. Em cada um dos intervalos do armazenamento, procedeu-se à análise bacteriológica dos gomos inoculados, com as duas diluições, na tentativa de se reisolar e se identificar as cepas de *E. coli* inoculadas, conforme as duas metodologias citadas anteriormente.

Resultados

A linguiça fresca suína elaborada nessa pesquisa não se apresentou contaminada com *E. coli* patogênicas. Os seis sorogrupos inoculados foram recuperados em todas as concentrações nos diferentes períodos de armazenamento e nas condições de frigidificação.

Quando aplicada a metodologia de isolamento Merck (1996), todos os sorogrupos testados foram recuperados e apresentaram no plaqueamento colônias esverdeadas, embora MUG positivas, comportamento bioquímico e sorológico idêntico ao primo isolamento.

Ao aplicar-se a metodologia de Mehlman e Lovett (1984), na semeadura direta, todos os sorogrupos foram recuperados, só não ocorrendo crescimento no meio ágar TC-SMAC. Nos demais meios, as colônias foram características; entretanto no ágar *E. coli* O157:H7 fluorocult, apesar de MUG positivas, as colônias apresentaram-se esverdeadas. Nesta mesma metodologia, utilizando-se o enriquecimento para isolar EPEC, a recuperação, o comportamento e os resultados encontrados foram os mesmos da semeadura direta. Tanto as amostras de embutidos inoculados com os cultivos de *E. coli* quanto as mantidas como controle negativo apresentaram cor e odor “sui generis” no primeiro, segundo e quarto dias de manutenção a 4 °C; entretanto, no sétimo dia tanto as amostras inoculadas quanto as isentas da microbiota de inoculação, apresentaram coloração esverdeada na superfície interna e odor característico de alteração incipiente.

Discussão

De acordo com os resultados do presente estudo, observou-se que o processo de fabricação da linguiça fresca suína foi realizado de acordo com as Boas Práticas de Fabricação, pois não houve detecção de *E. coli* patogênicas. Bezerra et al. (2007) também não isolaram *E. coli* de linguiças frescas mistas comercializadas na Paraíba, e ainda verificaram que todas as amostras apresentaram-se de acordo com os parâmetros máximos permitidos pela legislação vigente para coliformes termotolerantes. Entretanto, diversos autores relataram a presença de coliformes termotolerantes e de *E. coli* em linguiças adquiridas nos pontos de venda para o consumidor. Chaves et al. (2000) verificaram que 33% das amostras de linguiça fresca comercializadas no município do Rio de Janeiro apresentaram valores de coliformes termotolerantes até dez vezes superiores aos padrões. Barbosa et al. (2003), ao avaliarem a qualidade microbiológica de 22 linguiças frescas de carne suína em Sete Lagoas, MG, constataram que 15 (68,2%) amostras apresentaram nível de contaminação para esse grupo bacteriano superiores ao permitido pela legislação vigente. Cortez et al. (2004) analisaram 106 amostras de linguiça fresca de frango, mista e suína fabricadas artesanalmente em Jaboticabal, SP, e constataram a presença de coliformes fecais em 73,6% das amostras e de *E. coli* em 38,7% das linguiças. Marques et al. (2006) avaliaram a qualidade higiênico-sanitária de linguiças tipo fresca, de linguiças coletadas em Três Corações e em Lavras, MG. De 40 amostras analisadas, 35% encontraram-se fora do padrão vigente para coliformes termotolerantes. Das 16 amostras de linguiça fresca suínas analisadas por Dias et al. (2008), duas (12,5%) apresentaram-se fora dos padrões microbiológicos para coliformes fecais. Essa diferença de resultados encontrados pela maioria dos pesquisadores pode ser explicada pela produção em larga escala, que pode ter contribuído com o aumento da contaminação microbiana, seja pelo contato com equipamentos mal higienizados, seja por manipulação inadequada. Em contrapartida, as linguiças utilizadas nesse experimento foram elaboradas em menor quantidade, o que dificulta a contaminação durante o processamento. Além disso, as linguiças analisadas pelos pesquisadores citados foram coletadas em estabelecimentos comerciais, onde nem sempre é mantida a cadeia de frios, facilitando a multiplicação bacteriana. O comportamento bioquímico e sorológico apresentado pelas cepas reisoladas foram os mesmos do primo isolamento, nos dois métodos utilizados, não ocorrendo modificação fenotípica do microrganismo pela ação das substâncias químicas, adicionadas no preparo dos embutidos, como também pela ação na estocagem do produto. No sétimo dia de armazenamento das amostras controle e inoculadas houve a percepção de odores e coloração característicos de deterioração, indicando que até o quarto dia as amostras de linguiça fresca tipo toscana, quando mantidas nestas condições, apresentaram características visuais e olfativas (sensoriais) próprias para

o consumo – corroborando o que ocorre em nível de comercialização nas redes dos grandes supermercados, que estabelecem o prazo de validade comercial de quatro dias, quando este alimento é mantido nas condições mencionadas.

Os resultados apresentados na viabilidade da microbiota patogênica em linguiça frescal tipo toscana demonstraram que, embora dos embutidos utilizados como controle negativo estivessem isentos de *E. coli*, estes deveriam possuir outros microrganismos que possivelmente foram determinantes das alterações sob o ponto de vista visual e olfativo. É importante salientar que as cepas patogênicas de *E. coli* utilizadas nessa pesquisa foram capazes de se desenvolver na linguiça frescal suína. Esse fato é de suma importância quando se pensa em contaminação pós-processamento desse embutido cárneo, visto que durante a elaboração do produto, se não forem satisfeitas as Boas Práticas de Fabricação, este alimento será um potencial veiculador de patógenos aos consumidores. Zandonadi et al. (2007) também relataram que a contaminação dos alimentos se inicia na produção da matéria-prima e se estende às etapas de transporte, recepção e armazenamento, e que durante a manipulação pode haver contaminação por condições precárias de higiene de manipuladores, equipamentos, utensílios, ambiente e condições inadequadas de armazenamento dos produtos prontos para consumo. Litz et al. (2007) enfatizaram que a adequada antisepsia das mãos dos manipuladores é etapa de fundamental importância do ponto de vista da inocuidade alimentar, já que podem veicular, aos produtos em elaboração, microrganismos deteriorantes e patogênicos. Jay (2005) adverte que os microrganismos causadores de doenças alimentares podem ser transmitidos a partir das mãos de manipuladores de alimentos contaminadas com material fecal, quando os hábitos de higiene são insatisfatórios, ou por insetos e também pela água. Segundo Castro (2008), a higienização nas indústrias alimentícias visa basicamente a preservar a qualidade microbiológica dos alimentos manipulados, auxiliando na obtenção de produtos que, além das qualidades nutricionais e sensoriais, apresentem também boa qualidade higiênico-sanitária e garantam o menor risco para a saúde do consumidor. Além disso, a higiene pessoal é também de extrema importância na garantia da qualidade microbiológica dos alimentos, dado que todas as pessoas, mesmo as saudáveis, são portadoras naturais de uma grande variedade de microrganismos, os quais podem ser transferidos para os alimentos. Essas afirmações demonstram a importância do controle da pós-contaminação de produtos derivados cárneos na indústria alimentícia, corroborando os achados da presente pesquisa, pois, se não fossem atendidas essas condições, o produto poderia ser contaminado durante o processamento, representando um risco em potencial para o consumidor, uma vez que poderá veicular *E. coli* patogênicas viáveis.

Conclusões

Todas as seis cepas patogênicas de *E. coli* apresentaram viabilidade em amostras de linguiça frescal tipo toscana. Os dois métodos utilizados para o isolamento de *E. coli* a partir de linguiças frescas suínas foram eficientes, e não alteraram o comportamento bioquímico e sorológico das cepas isoladas. A contaminação de linguiças frescas com *E. coli* patogênicas pós-processamento é de suma importância na garantia da qualidade desse produto cárneo, e deve ser evitada por meio da implantação de sistemas de controle de qualidade e procedimentos padrões de higiene operacional.

Referências

- CHA, P. N.; SZYFRES, B. **Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales**: Bacterioses e micoses. 3rd ed. Washington: OPAS, 2001.
- BARBOSA, M. B. C. et al. Avaliação da qualidade microbiológica de linguiças frescas de carne suína no município de Sete Lagoas. **Revista Higiene Alimentar**, v. 17, n. 104/105, p. 20-21, 2003.
- BARROS, M. A. F. et al. Identification of main contamination points by hygiene indicator microorganisms in beef processing plants. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 4, p. 856-862, 2007.

- BEZERRA, W. I. et al. Qualidade microbiológica de lingüiça mista tipo frescal comercializada no município de Solânea, PB, Brasil. In: JORNADA NACIONAL DA AGROINDÚSTRIA, 2., 2007, Bananeiras. **Anais...** Bananeiras: Jornada Nacional da Agroindústria, 2007. Disponível em: < http://www.seminagro.com.br/trabalhos_publicados/2jornada/02ciencia_e_tecnologia_de_alimentos/31cta.pdf > Acesso em: 30 nov. 2009.
- BUCHANAN, R. L.; DOYLE, M. P. Foodborne disease significance of *Escherichia coli* O157:H7 and other enterohemorrhagic *Escherichia coli*. **Food Technology**, v. 51, p. 69-76, 1997.
- CHAVES, G. M. C. et al. Avaliação bacteriológica de lingüiça frescal suína comercializada no município do Rio de Janeiro, RJ. **Revista Higiene Alimentar**, v. 14, n. 13, p. 48-52, 2000.
- CASTRO, S. A. R. S. **Boas práticas de higiene: um pilar para a produção de alimentos seguros**. 2008. 106 f. Dissertação (Mestrado Integrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 2008.
- CORTEZ, A. L. L. et al. Coliformes fecais, estafilococos coagulase positiva (ECP), Salmonella spp. e Campylobacter spp. em lingüiça frescal. **Alimentos e Nutrição**, v. 15, n. 3, p. 215-220, 2004.
- DIAS, P. A. et al. Qualidade higiênico-sanitária de carne bovina moída e de embutidos frescos comercializados no sul do Rio Grande do Sul, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 75, n. 3, p. 359-363, 2008.
- EWING, W. H. **Edward's - Ewing's identification of enterobacteriaceae**. 4th ed. New York: Elsevier Science Publishers, 1986. p. 93-134.
- FRANCO, R. M. **Escherichia coli: ocorrência em suínos abatidos do Grande Rio e sua viabilidade experimental em lingüiça frescal, tipo toscana**. 2002. 153 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro, 2002.
- FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2008.
- JAY, J. M. **Microbiologia de alimentos**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.
- LITZ, V. M. et al. Anti-sepsia de mãos na indústria de carnes: avaliação da clorhexidina, triclosan e iodóforo na redução da contaminação microbiana em manipuladores. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 35, n. 3, p. 321-326, 2007.
- MARQUES, S. C. et al. Avaliação higiênico-sanitária de lingüiças tipo frescal comercializadas nos municípios de Três Corações e Lavras MG. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 30, n. 6, p. 1120-1123, 2006.
- MEHLMAN, I. J.; LOVETT, J. Enteropatogenic *Escherichia coli*. In: MEHLMAN, I. J.; LOVETT, J. **Bacteriological analytical manual**. 4th ed. Virginia: Food and Drug Administration, 1984. p. 6-11.
- MERCK. **Microbiology manual cultura media**. Germany: Dormstadt, 1996.
- TERRA, N. N. **Apontamentos de tecnologia de carnes**. São Leopoldo: Ed. Unisinos, 1998.
- VARNAM, A. H.; EVANS, M. G. **Foodborne pathogens: an illustrated text**. London: Wolfe, 1996.
- ZANDONADI, R. P. et al. Atitudes de risco do consumidor em restaurantes de auto-serviço. **Revista de Nutrição**, v. 20, n. 1, p. 19-26, 2007.

Recebido: 10/11/2009
Received: 11/10/2009

Aprovado: 03/05/2010
Approved: 05/03/2010