

# Análises microbiológicas de alimentos processados na Baixada Santista, envolvidos em doenças transmitidas por alimentos, no período de 2000 – 2006.

Evaluation of the microbiological analyses in foods from the Baixada Santista involved in foodborne diseases, São Paulo, Brazil, during 2000 – 2006.

RIAL A6/1098

Jussara da Silva FAUSTINO<sup>1</sup>, Estevão de Camargo PASSOS<sup>1\*</sup>, Ana Ruth Pereira de MELLO<sup>1</sup>, André Luis Monteiro ARAÚJO<sup>1</sup>, Cícero Vagner de SOUZA<sup>1</sup>, Luzia Ilza Ferreira JORGE<sup>1</sup>, Liliana Aparecida ZAMARIOLI<sup>1</sup>

\*Endereço para correspondência: Rua Silva Jardim, 90, Vila Nova, CEP 11015-020 – Santos/SP.

<sup>1</sup> Instituto Adolfo Lutz – Laboratório Regional de Santos

Recebido: 01/11/2006 – Aceito para publicação: 30/04/2007

## RESUMO

O Instituto Adolfo Lutz - Laboratório Regional de Santos analisou amostras de alimentos coletadas pelas Vigilâncias Sanitárias Municipais da Baixada Santista, envolvidos em casos de doenças transmitidas por alimentos (DTAs), no período de janeiro de 2000 a junho de 2006. Foram analisados diferentes tipos de alimentos na forma de pratos prontos para consumo: coxinha de frango, arroz cozido, feijão cozido, frango, purê de batata, almôndega ao molho, recheios (calabresa, frango, palmito); embutidos (salsicha, lingüiça defumada); salgado cru; doces (bolo, mousse, mistura para bolos); bebidas (láctea, leite UHT, xaropinho, suco). A preparação das amostras para análise e as determinações analíticas foram realizadas segundo o “Compendium of Methods for Microbiological Examination of Foods (APHA, 1992)” e a RDC nº 12 de 2001 ANVISA, respectivamente. Das 26 amostras de alimentos analisadas, 18 (69,2%) estavam de acordo com a legislação vigente e 8 (30,7%) foram condenadas devido a presença de *Salmonella* sp isolada de mousse de clara de ovos e de bolo de chocolate; *Staphylococcus aureus* isolado de coxinhas de frango frita e crua; coliformes fecais isolados de recheios de frango e palmito, frango cru e frango ensopado.

**Palavras-chave.** doenças transmitidas por alimentos, *Salmonella* sp, *Staphylococcus aureus*.

## ABSTRACT

The Instituto Adolfo Lutz - Laboratory Regional of Santos analyzed food samples sent by the municipal health surveillance services of counties belong to the Baixada Santista area, with suspect of foodborne diseases from January of 2000 to June of 2006. Different types of foods were analyzed such as chicken and pork preparations, rice, beans, chicken, mashed potatoes, heart of palm preparations, raw sausage and pork leg, raw salted pie, candies (cake, mousse, mixes for cakes); fermented milks, pasteurized milk UHT, juices. Conventional methods were used, as recommended by Compendium of Methods for Microbiological Examination of Foods APHA, 1992 and by the Brazilian Ministry of Health legislation ANVISA RDC # 12, 2001. Of the 26 analyzed food samples, 18 (69,2%) were in accordance with the sanitary legislation and 8 (30,7%) were condemned because of the presence of *Salmonella* sp isolated from a “mousse” with cream and chocolate cake; *Staphylococcus aureus* isolated from raw and cooked chicken products; faecal coliforms were isolated from chicken and heart of palm preparations, raw chicken and soggy chicken.

**Key words.** foodborne diseases, *Salmonella* sp, *Staphylococcus aureus*.

## INTRODUÇÃO

Os alimentos, independentemente de sua origem, apresentam uma microbiota natural extremamente variável, concentrada principalmente na região superficial, embora regiões internas e profundas dos alimentos possam eventualmente apresentar formas microbianas viáveis<sup>1</sup>. Nas diversas etapas que levam à obtenção de produtos processados, os alimentos estarão sujeitos a contaminação por diferentes microrganismos, provenientes de manipulação inadequada, contato com equipamentos, superfícies e utensílios não corretamente sanitificados, ou mesmo procedentes do ambiente<sup>1</sup>.

As doenças transmitidas por alimentos (DTAs) são objeto de interesse da Vigilância Sanitária por diversos motivos, entre eles diferentes microrganismos envolvidos e toxinas pré-formadas, diversidade de produtos que podem veiculá-las, períodos de incubação variáveis, quadros clínicos diferenciados, consequências e seqüelas às vezes graves, podendo até mesmo levar a óbitos os pacientes acometidos, etc<sup>2,3</sup>.

A Vigilância Sanitária deve ser acionada para realizar a investigação de um surto de DTA com os objetivos de identificar o alimento responsável, o agente etiológico envolvido, os fatores que determinaram o aparecimento do surto e o quadro clínico predominante<sup>3</sup>. Estima-se que a incidência de doenças microbianas de origem alimentar seja elevada, todavia como a notificação não é obrigatória, há comprometimento das estatísticas dos Serviços de Saúde<sup>2,4</sup>.

Nos Estados Unidos, Chittick et al.<sup>5</sup> analisaram 6633 surtos de DTA no período de 1973 a 2001 e constataram que *Salmonella* Heidelberg foi responsável por 184 surtos, sendo que destes 53 foram provocados pelo consumo e ingestão de carne de aves, bem como ovos e alimentos elaborados a partir de aves e ovos. Rangel et al.<sup>6</sup> observaram que no período de 1982 a 2002, 350 surtos de infecção foram provocados pela *Escherichia coli* O157:H7. Destes, 183 (52%) eram de DTA, 74 (21%) origem desconhecida, 50 (14%) pessoa-pessoa, 31 (9%) hídrica, 11 (3%) contato com animal e 1 (0,3%) laboratorial. O principal alimento envolvido foi carne moída com 75 (41%) dos casos.

Na Austrália, Dalton et al.<sup>7</sup> revisaram no período de 1995 a 2000, 293 surtos de DTA e concluíram que *Salmonella* esteve incriminada com maior freqüência, sendo responsável por 40% dos óbitos ocorridos no período. A carne de frango foi responsável por 27 surtos. Outras carnes, peixes, frutos do mar, salada, sanduíches e ovos também estiveram envolvidos na transmissão da *Samonella*.

No continente africano, Ombui et al.<sup>4</sup> realizaram no Quênia, um estudo dos surtos de DTA ocorridos no período de 1970 a 1993, e observaram a notificação de apenas 13 surtos onde houve confirmação dos agentes etiológicos. Os alimentos envolvidos foram leite e derivados, carnes e derivados, farinha de milho, bolinho de aveia e derivados de trigo, pão, vegetais e torta de limão.

Na Inglaterra, Cornell e Neal<sup>8</sup> relataram um surto de DTA ocorrido em 1995 após ingestão de tripas de porco contendo *Salmonella Typhimurium*.

Na América Latina, Jiménez et al.<sup>9</sup> no Chile, verificaram que, nos anos de 1999 e 2000, as bactérias mais freqüentes em casos de DTA foram *Salmonella* spp, *S. aureus* e *Shigella*. Os alimentos de maior risco foram: pratos quentes preparados e as preparações caseiras de queijo e de carne de cabra. No México, Shane et al.<sup>10</sup> relataram um surto de DTA entre os conferencistas participantes de um congresso internacional em Puerto Vallarta e constataram que o alimento envolvido foi o “chili rellenos” que continha ovos descascados e queijo. *Salmonella* foi isolada em sobras de queijo.

Em relação ao Brasil, as DTAs não diferem muito das observadas em outros países. O gênero *Salmonella* tem sido descrito em alimentos tais como carnes cruas de bovinos, suínos e aves; salsicha de porco; ovos e seus derivados quando consumidos crus ou mal cozidos; vegetais<sup>11,12, 13, 14, 15, 16</sup>.

Coliformes termotolerantes são indicadores de más condições higiênico-sanitárias dos alimentos, dos locais de preparação e ou armazenamento e são problemas freqüentes na manipulação de alimentos preparados. Têm sido isolados em derivados de leite, carnes e derivados, verduras<sup>17,18,19</sup>.

A presença de *Staphylococcus aureus* está relacionado a produtos de confeitoraria tais como: doces e salgados, derivados de leite, sanduíche de galinha, bem como carnes de suínos<sup>14,20,21,22</sup>. Esta é uma bactéria freqüentemente isolada de manipuladores de alimentos e de indivíduos saudáveis<sup>23,24</sup> que podem contaminar accidentalmente alimentos processados.

*Bacillus cereus* também está envolvido em surtos de DTA, principalmente em alimentos preparados em serviços de alimentação conforme levantamento realizado por Passos e Kuaye<sup>25</sup> na cidade de Campinas, no período 1987 a 1993, sendo responsável por 68,4% dos surtos. As bancadas dos serviços de alimentação também podem representar fontes de contaminação de alimentos<sup>1</sup>. Já foi descrito o isolamento deste agente em vegetais no setor de pré-preparo<sup>26</sup>.

Os casos suspeitos de botulismo envolvem exames de amostras biológicas e de alimentos para verificar a presença de toxina botulínica ou do agente etiológico. Levantamento de dados realizado em 2002 por Gelli et al.<sup>27</sup>, abrangendo o período de 1982-2001, revelou 17% de positividade nas amostras. Na Bahia, em 2006, foram observados 2 casos de botulismo, sendo 1 diagnosticado laboratorialmente e o outro apenas clinicamente; a ingestão de embutido tipo chouriço foi comum aos dois casos. Não foram encontrados dados mais recentes que possibilitassem acompanhar a ocorrência da doença<sup>28</sup>.

O objetivo deste trabalho é relatar os resultados das análises microbiológicas de alimentos envolvidos em surtos de doenças transmitidas por alimentos ocorridos na Baixada Santista, no período de janeiro de 2000 a junho de 2006.

## MATERIAL E MÉTODOS

No período de janeiro de 2000 a junho de 2006 foram encaminhadas ao Instituto Adolfo Lutz - Laboratório Regional de Santos amostras de alimentos com suspeita de DTA, procedentes das Vigilâncias Sanitárias Municipais da Baixada Santista.

Foram analisados diferentes tipos de alimentos:

- coxinha de frango, arroz cozido, feijão cozido, frango ensopado, purê de batata, almôndega ao molho, recheios (calabresa, frango, palmito);
- embutidos (salsicha e lingüiça defumada);
- salgado cru;
- doces (bolo, mousse de clara de ovos, mistura para bolos);
- bebidas (láctea, leite UHT, xaropinho, suco).

A preparação das amostras para análise e as determinações analíticas foram realizadas segundo o “Compendium of Methods for Microbiological Examination of Foods” (APHA, 1992)<sup>29</sup>.

## RESULTADOS

Na Tabela 1 encontram-se os resultados das análises efetuadas nas amostras de alimentos com suspeita de causar DTA, recebidas e registradas no Laboratório Regional de Santos do Instituto Adolfo Lutz, no período de 20 de janeiro de 2000 a junho de 2006. Num total de 26 amostras de alimentos analisadas, 18 (69,2%) estavam de acordo com a legislação vigente no país (RDC nº 12 de 2 de janeiro de 2001 da ANVISA)<sup>30</sup> e 8 (30,7%) apresentaram contaminação pelos seguintes agentes: (2/8) *Salmonella* sp isolada de mousse de clara de ovos e de bolo de chocolate; (2/8) *Staphylococcus aureus* isolada de coxinhas de frango fritas e cruas; (4/8) coliformes fecais isolados de recheios de frango e palmito, frango cru e frango ensopado. Os resultados microbiológicos mostraram que a freqüência de 50% de amostras contaminadas pelas bactérias estudadas eram do grupo dos coliformes de origem fecal.

**Tabela 1.** Resultados das 26 análises efetuadas nas amostras de alimentos incriminados em DTA, recebidas e registradas no Laboratório Regional de Santos do Instituto Adolfo Lutz, no período de 20 de janeiro de 2000 a junho de 2006.

Tipo de alimento/Registro/Ano	<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella</i> sp	<i>Staphylococcus aureus</i>
Coxinha frita / FI 578 / 2000	-	-	-
Frango desfiado / FI 577 / 2000	-	-	-
Lingüiça de paio defumada / FI 1150 / 2000	-	-	-
Mistura de bolo sabor chocolate / OR 408 / 2000	-	-	-
Pedaço de torta doce de ameixa / OR 932 / 2000	-	-	-
Bolo de chocolate / OR 407 / 2000	-	Presença/25g	-
Mousse de clara de ovos / OR 406 / 2000	-	Presença/25g	-
Salgado cru coxinha / OR 1450 / 2002	-	-	$1,2 \times 10^4/g$
Salsicha a granel / FI 1133 / 2002	-	-	-
Coxinha de frango frita / OR 1029 / 2002	-	-	$2,1 \times 10^6/g$
Recheio para pastel calabresa / OR 60 / 2002	-	-	-
Recheio para pastel frango / OR 58 / 2002	NMP $1,5 \times 10^2/g$	-	-
Recheio para pastel palmito / OR 59 / 2002	NMP $3,6 \times 10^2/g$	-	-
Xaropinho Frut Fort / OR 1146 / 2002	-	-	-
Leite longa vida / OR 260 / 2004	-	-	-
Leite longa vida / OR 261 / 2004	-	-	-
Leite longa vida / OR 262 / 2004	-	-	-
Frango cru / OR 1196 / 2005	NMP $2,4 \times 10^5/g$	-	-
Frango ensopado / OR 1195 / 2005	NMP $2,4 \times 10^4/g$	-	-
Bebida Láctea / OR 837 / 2006	-	-	-
Biscoito doce / OR 838 / 2006	-	-	-
Almôndega ao molho / OR 834 / 2006	-	-	-
Arroz cozido / OR 832 / 2006	-	-	-
Feijão cozido / OR 833 / 2006	-	-	-
Purê de batata / OR 835 / 2006	-	-	-
Suco de morango / OR 836 / 2006	-	-	-

UFC: unidade formadora de colônia

NMP: número mais provável

## DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

A presença de *Salmonella* spp. em alimentos torna-os impróprios para o consumo, uma vez que esse agente é reconhecidamente um microrganismo implicado em surtos de DTA<sup>18</sup>.

Os resultados obtidos com o isolamento da *Salmonella* sp em doces (mousse e bolo de chocolate) elaborados com ovos estão de acordo com os de Peresi et al.<sup>15</sup> e Almeida et al.<sup>11</sup> que isolaram cepas de *Salmonella* sp associadas ao consumo de alimentos à base de ovos crus ou à cocção insuficiente de ovos inteiros envolvidos em surtos de DTA. Ressalte-se que os vegetais e outros alimentos também podem ser veiculadores destes agentes como foi descrito por Simões et al.<sup>16</sup> na cidade de Campinas/SP.

Em relação aos *S. aureus* isolados de coxinhas de frango fritas e coxinhas de frango cruas, os resultados também concordam com os obtidos por Peresi et al.<sup>21</sup> que relataram a presença deste agente em produtos de confeitoria, tanto doces como salgados, tais como pastel frito com recheio à base de frango, queijo catupiri e palmito, bolo confeitado, bolo recheado e confeitado e coxinha frita. Estes autores observaram que o processo de fritura utilizado não foi suficiente para eliminar a bactéria presente tanto nos recheios de frango do pastel e da coxinha, como na massa da coxinha. A ingestão de sanduíche de galinha também provocou um surto de intoxicação estafilocócica<sup>22</sup>.

No presente trabalho foram isolados *E. coli* a partir de recheios de frango e palmito, frango cru e frango ensopado. Sabe-se que a presença de coliformes está associada a má higiene, seja durante o processamento das matérias primas e os diferentes produtos alimentícios de origem animal e vegetal, seja da água de lavagem empregada, seja da água de irrigação, etc<sup>16,17,18,19,31</sup>. *E. coli* apresenta um grande número de tipos antigenicos porém uma minoria como as *E. coli* enteropatogênica, enterotoxigênica, enteroinvasiva e enterohemorrágica são responsáveis por quadros de gastroenterite no homem acometendo todas as idades<sup>3</sup>. No presente estudo não foram detectados isolados pertencentes a esses grupos patogênicos.

Foram condenadas oito amostras de alimentos, o que equivale a 30,7% das 26 amostras analisadas no período de 2000 a 2006. Ressalte-se que nos anos de 2001 e 2003 não foram encaminhados ao Laboratório Regional de Santos amostras de alimentos com suspeita de DTA.

É importante salientar que os serviços de Vigilância Sanitária são acionados após a denúncia realizada pelos consumidores ou quando esses serviços participam de programas específicos que têm o objetivo de prevenção e correção das falhas que favorecem e determinam os surtos alimentares nas unidades produtoras de alimentos.

É de fundamental importância que o Laboratório de Saúde Pública atue em conjunto com a Vigilância Sanitária dos municípios para ajudar na investigação e na elucidação dos

possíveis agentes causadores de toxinfecção alimentar. O Instituto Adolfo Lutz também se preocupa com o estudo de outros possíveis agentes, baseado nas informações dos sinais e sintomas dos pacientes contaminados.

## REFERÊNCIAS

1. Roitman I, Travassos LR, Azevedo JL. Tratado de Microbiologia. Volume 1. São Paulo: Manole; 1988.
2. Franco BGM, Landgraf M. Microbiologia dos Alimentos. São Paulo: Atheneu; 1996.
3. Germano PML, Germano MIS. Parte 12 Agentes bacterianos de toxinfecções In: Germano PML, Germano MIS. Higiene e Vigilância Sanitária de Alimentos. São Paulo: Livraria Varela; 2001. p.199-258.
4. Ombui JN, Kagiko MM, Arimi SM. Foodborne diseases in Kenya. East Afr Med J 2001; 78(1):40-4.
5. Chittick P, Sulka A, Tauxe RV, Fry AM. A summary of national reports of foodborne outbreaks of *Salmonella* Heidelberg infections in the United States: clues for disease prevention. J Food Prot 2006; 69(5): 1150-3.
6. Rangel JM, Sparling PH, Crowe C, Griffin PM, Swerdlow DL. Epidemiology of *Escherichia coli* O157:H7 Outbreaks, United States, 1982–2002. Emerg Infect Dis 2005; 11(4): 603-9.
7. Dalton CB, Gregory J, Kirk MD, Stafford RJ, Givney R, Kraa E et al. Foodborne disease outbreaks in Australia, 1995 to 2000. Commun Dis Intell 2004; 28(2): 211–24.
8. Cornell J, Neal KR. Protracted outbreak of *Salmonella typhimurium* definitive phage type 170 food poisoning related to tripe, pig bag, and chitterlings. Commun Dis Public Health 1998; 1: 28-30.
9. Jiménez VP, Solari VG, Alvarez IA, Arellano CC, Vidal RA, Carreño MC et al. Situación epidemiológica de las enfermedades transmitidas por alimentos en Santiago de Chile: período 1999-2000. Rev Med Chil 2002; 130(5): 495-501.
10. Shane AL, Roels TH, Goldoft M, Herikstad H, Angulo FJ. Foodborne disease in our global village: a multinational investigation of an outbreak of *Salmonella* serotype Enteritidis phage type 4 infection in Puerto Vallarta, Mexico. Int J Infect Dis 2002; 6 (2): 98-102.
11. Almeida IAZC, Peresi JTM, Carvalho IS, Rodrigues ECA, Marques DF, Tavechio AT et al. *Salmonella*: sorotipos identificados na região de São José do Rio Preto/SP, no período de 1990 – 1999. Rev Inst Adolfo Lutz 2000; 59 (1/2): 33-7.
12. Araújo E, Pacheco MASR, Boni RF, Fonseca YSK, Gelli DS, Fernandes SA et al. Surtos alimentares por *Salmonella enteritidis* associados ao consumo de alimentos à base de ovos, em Sorocaba, SP. Hig Aliment 1995; 9 (40): 24-6.
13. Jakabi M, Gelli DS, Ristori CA, De Paula AMR, Sakuma H, Lopes GISL et al. Occurrence of *Salmonella* spp and *Escherichia coli* O157:H7 in raw meat marketed in São

- Paulo, Brazil, and evaluation of its cold tolerance in ground beef. **Rev Inst Adolfo Lutz** 2004; 63 (2): 238-42.
14. Lima ESC, Pinto PSA, Santos JL, Vanetti MCD, Bevilacqua PD, Almeida LP et al. Isolamento de *Salmonella* sp e *Staphylococcus aureus* no processo do abate suíno como subsídio ao sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle - APPCC. **Pesq Vet Bras** 2004; 24 (4): 185-190.
15. Peresi JTM, Almeida IAZC, Lima SI, Marques DF, Rodrigues ECA, Fernandes AS et al. Surtos de enfermidades transmitidas por alimentos causados por *Salmonella enteritidis*. **Braz J Microbiol** 1998; 32 (5): 477-83.
16. Simões M, Pisani B, Marques EGL, Prandi MAG, Martini MH, Chiarini PFT et al. Hygienic-sanitary conditions of vegetables and irrigation water from kitchen gardens in the municipality of Campinas, SP. **Braz J Microbiol** 2001, 32 : 331-3.
17. Brigido BM, Freitas VPS, Mazon EMA, Pisani B, Prandi MAG, Passos MHCR. Queijo Minas Frescal: avaliação da qualidade e conformidade com a legislação. **Rev Inst Adolfo Lutz** 2004; 63 (2): 177-85.
18. Salvatori RU, Bessa MC, Cardoso MRI. Qualidade sanitária de embutidos coletados no mercado público central de Porto Alegre-RS. **Ciência Rural**, Santa Maria 2003; 33 (4): 771-773.
19. Silva CGM, Andrade SAC, Stamford TLM. Ocorrência de *Cryptosporidium spp.* e outros parasitas em hortaliças consumidas *in natura*, no Recife. **Ciência da Saúde Coletiva** 2005; 10 (supl): 63-9.
20. Almeida Filho ES, Nader Filho A. Ocorrência de *Staphylococcus aureus* em queijo tipo “frescal”. **Rev Saude Publica** 2000; 34 (6): 578-80.
21. Peresi JTM, Almeida IAZC, Teixeira ISC, Lima SI, Carnicel FA, Hoffmann FL. Surtos de doenças transmitidas por alimentos contaminados por *Staphylococcus aureus*, ocorridos no período de dezembro de 2001 a abril de 2003, na região de São José do Rio Preto – SP. **Rev Inst Adolfo Lutz** 2004; 63 (2): 232-7.
22. Rodrigues KL, Moreira NA, Almeida ATS, Chiochetta D, Rodrigues MJ, Brod CS et al. Intoxicação estafilocócica. **Ciência Rural** 2004; 34 (1): 297-299.
23. Castro MMMV, Iaria ST. *Staphylococcus aureus* enterotoxigênico no vestíbulo nasal de manipuladores de alimentos em cozinhas de hospitais do município de João Pessoa, PB. **Rev Saude Publica** 1984; 18: 235-45.
24. Zelante F, Ashcar H, Piochi BJA, Monson CA, Cunha PS. *Staphylococcus aureus* na boca e no nariz de indivíduos saúes. Verificação de identidade entre as cepas isoladas. **Rev Saude Publica** 1982; 16: 92-6.
25. Passos MHCR, Kuaye AY. Avaliação dos surtos de enfermidades transmitidas por alimentos comprovados laboratorialmente no município de Campinas-SP, no período de 1987 a 1993. **Rev Inst Adolfo Lutz** 1996; 56(1): 77-82.
26. Mendes RA, Azeredo RMC, Coelho AIM, Oliveira SSM, Coelho MSL. Contaminação ambiental por *Bacillus cereus* em unidade de alimentação e nutrição. **Revista de Nutrição**, Campinas 2004; 17 (2): 255-61.
27. Gelli DS, Jakabi M, Souza A. Botulism: a laboratory investigation on biological and food samples from cases and outbreaks in Brazil (1982-2001). **Rev Inst Med Trop Sao Paulo** 2002; 44 (6): 321-4.
28. Figueiredo MAA, Dias J, Lucena R. Considerações acerca de dois casos de botulismo ocorridos no Estado da Bahia. **Rev Soc Bras Med Trop** 2006; 39 (3): 289-291.
29. Vanderzant C, Splitstoesser DF, editors. **Compendium of Methods for Microbiological Examination of Foods**. 3<sup>rd</sup> ed. Washington: Edwards Brothers, Ann Arbor; 1992.
30. Brasil. Resolução RDC nº 12 de 2 de janeiro de 2001 da ANVISA. Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. Brasília, 2001. Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12\\_01rdc.htm](http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12_01rdc.htm)>. Acesso em: 15/06/2007.
31. Silva MP, Cavalli DR, Oliveira TCRM. Avaliação do padrão coliformes a 45°C e comparação da eficiência das técnicas dos tubos múltiplos e Petrifilm EC na detecção de coliformes totais e *Escherichia coli* em alimentos. **Ciênc Tecnol Aliment**, Campinas 2006; 26 (2): 352-9.