

ÓLEO DE COPAÍBA: ASPECTOS GERAIS E SUAS APLICAÇÕES

COIPAIBA OIL: GENERAL ASPECTS AND APPLICATIONS

MARIANE BORTOLIN SPERFELD SALGUEIRO¹, ROGÉRIO TYIO^{2*}

1. Farmacêutica, Especialista em Farmacologia Clínica e Prescrição Farmacêutica pela Faculdade Uningá; 2. Farmacêutico Bioquímico, Especialista em Farmacologia, Mestre em Ciências da Saúde, Doutor em Ciências da Saúde, Coordenador e Docente do Curso de Farmácia da Faculdade Ingá.

* Rodovia PR 317, N°6114, CEP 87035-510, Maringá-Paraná. E-mail: rtiyo@uol.com.br

Recebido em 28/05/2016. Aceito para publicação em 19/07/2016

RESUMO

Sabe-se que há muito tempo os óleos e extratos de plantas têm servido de base para diversas aplicações na medicina popular, estimulando o início de diversas investigações científicas, com o intuito de garantir a eficácia e segurança dos mesmos, assim o óleo de copaíba, vem sendo muito estudado devido aos seus vários constituintes químicos voláteis e resinosos que lhe confere a sua ação antibiótica, cicatrizante, anti-inflamatória, antitumoral, entre outras. É com base na tão abrangente aplicação do óleo de copaíba, que o presente trabalho tem por objetivo descrever os principais aspectos do óleo, dando maior enfoque à suas diversas áreas de aplicação e as pesquisas realizadas nos últimos anos. As informações foram levantadas a partir de meios de dados online e periódicos científicos relacionados ao tema e artigos publicados nos últimos 15 anos. Os dados encontrados revelaram que o óleo de copaíba possui ampla utilidade não só na terapêutica medicinal como também na indústria, contudo com a diversidade de sua espécie, tem-se a necessidade de desenvolver estudos inovadores com a finalidade de garantir a veracidade, a eficácia e segurança do óleo de copaíba, corroborando para um maior controle na autenticidade dos óleos e qualidade na sua terapêutica.

PALAVRAS-CHAVE: Óleo de copaíba, terapêutica, *Copaifera*, medicina popular.

ABSTRACT

It is known that long ago oils and plant extracts have been the basis for many applications in popular medicine, stimulating the beginning of several scientific investigations, in order to ensure the effectiveness and safety of consumers, so the copaiba oil, It has been widely studied because of its various volatile and resinous chemical constituents that gives it its antibiotic action, healing, anti-inflammatory, antitumor, among others. It is based on as comprehensive application of copal oil, the present work aims to describe the main aspects of the oil, giving greater focus will its various areas of application and research undertaken in recent years. The information was raised from online data media and scientific journals related to

the topic and articles published in the last 15 years. The findings revealed that Copaiba oil has broad utility not only in medical therapy as well as in the industry, but with the diversity of its kind, there is the need to develop innovative studies in order to guarantee the accuracy, effectiveness and security of copaiba oil, corroborating for greater control on the authenticity of oils and quality in their therapy.

KEYWORDS: Copaiba oil, therapeutic, *Copaifera*, folk medicine

1. INTRODUÇÃO

Sabe-se que há muito tempo os óleos e extratos de plantas têm servido de base para diversas aplicações na medicina popular, estimulando o início de diversas investigações científicas, com o intuito de garantir a eficácia e segurança dos mesmos^{1,2,3}.

Assim, o óleo de copaíba, vem sendo muito estudado devido aos seus vários constituintes químicos voláteis e resinosos que lhe confere a sua ação antibiótica, cicatrizante, anti-inflamatória, antitumoral, entre outras^{4,5,6}. O óleo-resina é extraído da árvore de copaíba pertence à família *Leguminosae*, subfamília *Caesalpinoideae* e ao gênero *Copaifera*, esta é comumente encontrada na América Latina e África Ocidental⁷.

Estudos vêm demonstrando a segurança do óleo de copaíba na sua administração por via oral ou tópica, relatando que os eventos adversos são considerados leves ou ausentes⁸. Contudo o grande impasse do óleo de copaíba é que os óleos que chegam ao mercado muitas vezes são obtidos da mistura de diferentes espécies e comumente adulterados com álcoois e ácidos graxos, isso acaba prejudicando a sua terapêutica, necessitando assim de maiores pesquisas para o controle de autenticidade dos óleos⁹.

Além das suas aplicações na medicina popular, estudos vêm demonstrando o uso do óleo de copaíba na indústria de cosméticos, vernizes, perfumes, assim como aditivo na nutrição de animais^{10,11}.

Diante da tão abrangente aplicação do óleo de copaíba, o presente trabalho teve por objetivo descrever os principais aspectos do óleo, dando maior enfoque à suas diversas áreas de aplicação e as pesquisas realizadas nos últimos anos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Para realização da revisão bibliográfica, foram utilizados meios de dados online e periódicos científicos relacionados ao tema e artigos publicados nos últimos 15 anos.

As informações descritas nas fontes foram organizadas e analisadas a fim de se descrever os principais aspectos do óleo de copaíba, dando maior enfoque à suas diversas áreas de aplicação e as pesquisas realizadas nos últimos anos.

3. DESENVOLVIMENTO

Aspectos históricos do óleo de copaíba

A primeira vez que o óleo de copaíba foi citado, foi em 1534 em Estrasburgo, onde o jesuíta José Acosta publicou “História natural e moral dos índios”, a qual ressaltava o Balsamo que utilizado pelos índios possuía excelente odor e muito maior efeito para curar feridas e outras enfermidades¹².

As propriedades terapêuticas do óleo são conhecidas desde o início da colonização do Brasil, onde as tribos indígenas utilizavam o óleo para curar feridas de guerreiros após batalhas e para passar no coto umbilical de recém-nascidos a fim de evitar infecções⁹.

Acredita-se que os tais conhecimentos advêm da observação do comportamento de alguns animais feridos, que se atritavam no tronco das árvores de copaíba, na busca da cicatrização de suas feridas¹³.

Sendo assim, a descoberta da terapêutica indígena permitiu que os primeiros médicos que trabalharam no Brasil contornassem parcialmente a escassez dos remédios empregados na Europa, cujo suprimento à Colônia era intermitente¹⁰.

Extração, composição química e controle de autenticidade do óleo de copaíba

A árvore de copaíba pertence à família Leguminosae, subfamília Caesalpinoideae e ao gênero *Copaifera*, esta é comumente encontrada na América Latina e África Ocidental⁷.

No Brasil, as copaibeiras são largamente distribuídas nas regiões amazônica e centro-oeste¹⁴, onde as principais espécies encontradas no país são a *Copaifera officinalis* L., *Copaifera reticulata* Ducke, *Copaifera multijuga* Hayne, *Copaifera confertiflora*, *Copaifera langsdorffi*, *Copaifera caribaea* e *Copaifera cearensis* Huber ex Ducke¹².

Hoje em dia a técnica mais utilizada para a obtenção

do óleo-resina ocorre através da perfuração no tronco da copaibeira em dois furos na altura de 1m e 1,5m, nos quais insere-se um cano de PVC de ¾ de polegada nos orifícios, por onde o óleo escoia¹⁵. Após a coleta, o orifício é vedado com argila para impedir a infestação da árvore com fungos e cupins, esta técnica também permite que o óleo possa ser coletado várias vezes ao ano sem causar danos à espécie vegetal¹⁶.

O óleo de copaíba é um líquido transparente, consistente, de cor variando do amarelo translúcido ao castanho escuro, de odor aromático, insolúvel em água e parcialmente solúvel em álcool¹⁷.

O mesmo é constituído principalmente por misturas de compostos diterpênicos, a qual é a fração mais pesada, resinosa e uma porção volátil (óleo essencial) formada por componentes sesquiterpênicos, como álcoois ou hidrocarbonetos¹⁸.

Os diterpenos mais encontrados são o ácido hardwickico, colavenol, ácido copaíferico, ácido copálico, entre outros⁷. O ácido copálico é usado como biomarcador do óleo da copaibeira, onde o mesmo foi o único encontrado em todos os óleos analisados nos estudos de Veiga Jr & Pinto em 1997⁹.

Já em 2002, Veiga Jr & Pinto¹⁰ relataram que na composição química dos óleos-resinas das espécies de *Copaifera*, observa-se a predominância de sesquiterpenos, como o α -humuleno, a e β -selineno, β -bisaboleno e β -Cariofileno. O β -bisaboleno confere ao óleo as propriedades anti-inflamatória e analgésica, e o β -cariofileno é descrito na literatura como anti-edêmico, anti-inflamatório, bactericida e insetífugo.

Contudo, deve-se destacar que a composição química do óleo varia quantitativa e qualitativamente de acordo com alguns fatores, como a espécie, as condições climáticas, de solo, fatores biológicos, entre outros¹⁹.

Veiga Jr. *et al.*, (1997)⁹ relatam em seu trabalho que o óleo de copaíba que chega ao mercado geralmente não é extraído de uma única espécie, em sua grande maioria é composto de uma mistura de óleos obtidos de diferentes espécies de *Copaifera*, sendo comum à sua adulteração por ácidos graxos e álcoois.

Na época Veiga Jr e seus colaboradores utilizando-se da análise por cromatografia em fase gasosa de alta resolução observaram que o ácido copálico foi o único composto a ser detectado em todos os óleos estudados por eles indicando que este, poderia ser utilizado como biomarcador para o gênero *Copaifera*⁹.

Com o passar dos anos outras técnicas passaram a ser utilizadas, como por exemplo, em 2002, Vasconcelos & Godinho²⁰ procuraram em seu estudo determinar a adulteração do óleo de copaíba a partir da determinação do índice de acidez e de éster, concluindo que os principais compostos que promovem adulteração nos óleos são os óleos graxos e o álcool etílico.

Tappin *et al.*, (2004)²¹ visaram estabelecer um méto-

do para a padronização química quantitativa do óleo de copaíba, por intermédio da normalização externa em cromatografia em fase gasosa de alta resolução com detecção por ionização em chama, usando o trans(-)-cariofileno e/ou ácido copálico como padrão de referência e aplicando a metodologia desenvolvida em amostras do mercado. A partir deste estudo concluíram que o trabalho contribuiu para estabelecer uma ferramenta para as avaliações de controle de qualidade dos óleos de copaíba comercializados e para a padronização da composição desta matéria prima vegetal, em termos de balanceamento químico entre sesqui e diterpenos.

Com o intuito de também caracterizar e padronizar uma série de parâmetros de qualidade, para uma posterior validação analítica para controle de qualidade do óleo de copaíba, Peçanha *et al.*, (2014)²² realizaram o fracionamento do óleo de copaíba utilizando-se do método de hidrodestilação, esterificação básica e ad-/dessorção com sílica-gel e CO₂ supercrítico e a partir das amostras obtidas perfis cromatográficos foram gerados em cromatógrafo a gás, acoplado a detector de ionização de chama, concluindo que a técnica de hidrodestilação apresentou o melhor resultado, tendo simplicidade da análise, baixo custo do processo e bom rendimento, porém ressaltaram que para que o processo seja realmente considerado adequado para a rotina de análise de controle de qualidade, este ainda deve ser avaliado de acordo com a legislação vigente.

Estudos feitos por Barbosa *et al.* (2009)²³ para a detecção de óleos de copaíba adulterados, demonstraram que a técnica de cromatografia em camada delgada em associação com índices de refração trata-se, de certa forma, de uma técnica eficiente, rápida e de baixo custo para análises de qualidade do produto em questão.

Entretanto, outras metodologias também foram ser utilizadas para análise do óleo. A análise em cromatografia em fase gasosa acoplada a espectrometria de massas foram utilizadas nos trabalhos de Neto *et al.*, (2008)²⁴ e Ziech *et al.*, (2013)²⁵ com o intuito de determinar a composição química do óleo resina para posterior realização de estudos da terapêutica do óleo. Boaroto (2014)⁸ utilizou a técnica de espectroscopia Raman para identificação de sesquiterpenos β -cariofileno em óleo de copaíba.

Já Almeida (2014)²⁶ na sua dissertação para o mestrado utilizou técnicas mais específicas para caracterização do óleo, como a espectroscopia ultravioleta-visível e infravermelho próximo.

Craveiro *et al.* (1981)²⁷ já diziam que a identificação dos compostos presentes nos óleos essenciais envolve o uso de técnicas espectrométricas dentre as quais as mais frequentes são espectrometrias ultravioleta, infravermelho, de ressonância magnética nuclear e próton e de carbono-13 e espectrometria de massas.

Farmacologia e aplicações industriais do óleo de copaíba

O óleo de copaíba possui uma utilização medicinal extensa, existindo muitas indicações para seu uso, aonde atualmente vários estudos vem demonstrando as suas inúmeras aplicações.

As principais atividades terapêuticas do óleo comprovadas cientificamente Brasil são os efeitos diurético, laxante, antitético, antisséptico do aparelho urinário, cicatrizante, antiinflamatório e antitumoral. Contudo ainda não estão totalmente esclarecidos os princípios ativos, mecanismo de ação e características de citotoxicidade⁵.

Porém, outras atividades vêm sendo estudadas, como o seu efeito antimicrobiano, expectorante, analgésico, antirreumático, moléstias de pele, entre outros¹².

Os estudos realizados por Vieira e seus colaboradores (2008)²⁸, indicam que o uso óleo de *Copaifera langsdorffii* para tratamento tópico de feridas cirúrgicas em presença de corpo estranho influência de forma negativa o processo de reparação, aumentando o tempo de restabelecimento da continuidade da epiderme.

Contudo, Giesbrecht (2011)²⁹ analisou os efeitos de uma pomada a base de óleo de copaíba no processo de cicatrização de queimaduras cutâneas em ratos, obtendo bons resultados, onde no final dos 21 dias de estudo a regeneração foi completo com epiderme e derme integras, enquanto os grupos controle ainda precisavam de mais dias para regeneração total.

Masson (2011)³⁰ mostrou que o óleo de copaíba é seguro pela não citotoxicidade, e eficaz pela atividade antimicrobiana tanto *in vitro* quanto *in vivo* em úlceras cutâneas infectadas e pela importante atividade cicatrizante dependente, essencialmente, da fase inflamatória.

Já Martins & Silva (2010)³¹ verificaram que a aplicação do óleo resina *in natura* de copaíba, como cobertura primária, conseguiu reduzir o edema local e cessou a exsudação purulenta resultante de processo infeccioso de ferida cutânea em um homem, demonstrando também a efetividade do óleo como anti-inflamatório e antimicrobiano.

Vários autores vêm se destacando em estudar a incorporação do óleo de copaíba em emulsões tópicas para tratar feridas. Alencar (2013)³², por exemplo, em sua tese para o mestrado focou em avaliar a atividade antimicrobiana de emulsões contendo óleo de rã – touro e óleos de copaíba (óleo-resina e essencial) frente a leveduras e bactérias. As emulsões demonstraram CIM semelhantes ou menores que os óleos puros, resultado significativo, já que estes sistemas apresentavam apenas 5% de óleo em sua composição. Ressalta-se que a emulsão contendo óleo de copaíba exibiu inibição de crescimento significativa para a maioria das cepas testadas.

Em outro estudo, avaliou-se a atividade tópica anti-inflamatória do óleo de copaíba incorporada a mi-

croemulsão, assim como a sua atividade mutagênica pelo teste de micronúcleos em eritrócitos de camundongo, chegando à conclusão que a formulação contendo o óleo de copaíba (*C. multijuga*) possui excelente atividade anti-inflamatória e nenhuma atividade mutagênica, valorizando o uso desta espécie para estes fins terapêuticos³³.

Complementando os efeitos antimicrobianos, Pieri (2007)³⁴ testou in vitro a atividade antimicrobiana do óleo de copaíba, sobre a bactéria *Streptococcus pyogenes*, causadora de inflamações de garganta, obtendo resultados positivos na inibição do crescimento deste microrganismo.

Mendonça & Onofre (2009)³⁵ e Bloise (2003)³⁶ verificaram in vitro a atividade antimicrobiana do óleo resina de copaíba (*Copaifera multijuga*), sobre bactérias como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* demonstrando que o óleo de copaíba apresentou um potencial de inibição do crescimento bacteriano sobre as três bactérias patogênicas avaliadas.

Na odontologia, o óleo de copaíba também vem ganhando espaço, um estudo in vitro investigou a atividade antibacteriana de um cimento odontológico à base de óleo-resina de *Copaifera multijuga* Hayne, e os resultados obtidos demonstraram eficiência contra *Streptococcus mutans* e *S. sanguinis*³⁷.

Logo, em outro trabalho verificou-se a atividade antimicrobiana do óleo de copaíba (*Copaifera langsdorffii*) e seus constituintes, e avaliou-se o bioproduto obtido na inibição de bactérias da placa dental de cães, concluindo que o óleo de copaíba possui capacidade antimicrobiana sobre bactérias componentes da placa dental de cães e que o bioproduto obtido, com um composto da fração de hidrocarbonetos sesquiterpênicos do óleo, pode ser utilizado para redução da placa dental de cães³⁸.

Além do mais, estudos indicam que o óleo possui efeitos antifúngicos apresentando uma boa atividade contra algumas espécies, como *Aspergillus flavus* e *Candida parapsilosis*³⁹.

O efeito gastroprotetor do óleo foi também investigado, onde através da análise dos efeitos do óleo resina de *Copaifera langsdorffii* sobre a lesão intestinal associada à isquemia mesentérica e reperfusão em ratos realizada por Paiva et al (2004)⁴⁰, observou-se que o óleo resina previne úlceras gástricas e promove a cicatrização de feridas, tal processo parece estar relacionado à uma ação antioxidante e um mecanismo de peroxidação lipídica.

Estudos com base no efeito do óleo de copaíba nos níveis séricos de ureia e creatinina em ratos submetidos à síndrome de isquemia e reperfusão renal foram realizados, observando que o óleo de copaíba diminuiu os níveis séricos de ureia em 24 horas e 48 horas e os de creatinina nas 48 horas após o procedimento de isquemia e reperfusão renal em ratos⁴¹.

E avaliando o potencial efeito cardioprotetor de nanocápsulas com óleo de copaíba num modelo de hipertensão arterial pulmonar e hipertrofia de ventrículo direito, Carraro et al. (2014)⁴² concluíram que tanto as nanocápsulas como o óleo de copaíba foram capazes de reduzir a hipertrofia ventricular direita e diminuir a resistência pulmonar.

Já Pedreira (2007)⁵ quis ir mais a fundo e estudou sobre o efeito do óleo em tumores induzidos pelo modelo carcinógeno DMBA (9,10 dimetil-1,2 benzoantraceno) em hamsters, observou-se que nos grupos em que se utilizou em conjunto com o DMBA, o óleo-resina de copaíba in natura ou emulsão óleo de copaíba manipulada artesanalmente, as lesões apresentaram menor tamanho (macroscopicamente). Estas, também exibiram apenas hiperplasia discreta a moderada sem atipias e com ampla variação dos padrões microscópicos, sugerindo o espessamento do epitélio e promoção de alguma ação inibitória no crescimento de tumores.

Chen-Chen & Sena (2002)⁴³ demonstraram a presença da atividade mutagênica e tóxica do óleo de copaíba (*Copaifera langsdorffii* Desfon) através teste do micronúcleo em eritrócitos policromáticos da medula óssea de camundongos, contradizendo os estudos de Chen-Chen & Sena, Veiga Jr. et al. (2007)⁴⁴ e Gomes et al. (2007)⁴⁵ não observaram nenhum efeito citotóxico do óleo.

Além do mais, Cavalini et al. (1995)⁴⁶ também afirmam que não há toxicidade oral, cutânea ou fotosensibilidade devido à administração do óleo-resina de copaíba. E estudos da avaliação da toxicidade aguda e potencial neurotóxico do óleo-resina de copaíba realizados por Sachetti et al. (2009)¹⁴, confirmam os relatos de Cavalini demonstrando que o óleo-resina de *Copaifera reticulata* apresenta relativa margem de segurança para a utilização como agente terapêutico, sem o acometimento de efeitos colaterais, mesmo após a exposição repetida a baixas doses.

Em 2014, Gonçalves⁴⁷, avaliou a segurança de uso do óleo de *Copaifera multijuga* Hayne (Fabaceae), concluindo que o óleo possui baixa toxicidade por via oral, contudo a administração repetida do óleo-resina em ratos e coelhos produziu nefrototoxicidade, requerendo estudos mais detalhados.

Além da sua aplicação na medicina popular, o óleo de copaíba tem intensa aplicação na indústria de perfumes como excelente fixador, na indústria de vernizes como secativo, solvente em pinturas de porcelanas, assim como na indústria de cosméticos, onde devido suas propriedades emolientes, bactericida e anti-inflamatória, vêm sendo estudado e utilizado na fabricação dos variados itens de higiene e beleza¹⁰.

Além do mais, seguindo a ideia de que os óleos minerais e os óleos vegetais possuem amplo espectro de uso, no controle de insetos e fungos, Almeida (2013)⁴⁸

desenvolveu uma pesquisa com o objetivo de investigar o efeito das misturas de inseticidas com o óleo de copaíba e com o óleo mineral sobre *Spodoptera frugiperda*. A Autora constatou efeito sinérgico em todas as misturas tanto com óleo de copaíba como com óleo mineral, sendo a mistura de copaíba com betacipermetrina e com betaciflutrina as com maiores razões de sinergismo.

Com o início de pesquisas de óleos funcionais em substituição de aditivos nutricionais, o óleo de copaíba começou a ser estudado na nutrição animal¹¹.

Souza (2010)⁴⁹ utilizou óleo de copaíba a 0,15% na dieta de frangos de corte. A autora relata que a utilização do óleo proporcionou desempenho semelhante à dieta controle ou dieta com antibiótico para as diferentes variáveis de desempenho e características de carcaça avaliadas, representando assim uma alternativa promissora como aditivo promotor de crescimento.

Estes pontos positivos foram também observados por Aguilar *et al.* (2013)⁵⁰, os quais descrevem em seu trabalho que o óleo essencial de copaíba é um aditivo com potencial para melhorar o desempenho quando adicionados em baixas concentrações na dieta de frangos. Os autores afirmam que a inclusão de 0,15mL/kg de óleo essencial de copaíba pode ser utilizada em dietas para frangos de corte sem comprometer o desempenho, o rendimento de abate e desenvolvimento dos órgãos internos.

Noletto (2014)⁵¹ avaliou o desempenho e parâmetros intestinais de frangos de corte alimentados com rações contendo óleos de copaíba e sucupira demonstrando que o óleo-resina de copaíba pode ser utilizado em rações para frangos de corte até os 21 dias de idade, pois o mesmo não prejudica o desempenho e digestibilidade dos nutrientes da ração. Ao contrário do óleo de sucupira, o qual não é recomendado, pois neste pode se observar alterações no desempenho e na digestibilidade dos nutrientes da ração.

De acordo com Heck *et al.* (2012)⁵² o uso do óleo de copaíba se mostra promissor, contudo, mais estudos precisam ser desenvolvidos com o intuito de identificar compostos com potencial terapêutico, bem como os mecanismos pelos quais eles atuam, a fim de garantir a segurança do uso desse óleo ou de seus compostos isolados.

4. CONCLUSÃO

Diante de tais informações pode-se concluir que o óleo de copaíba possui ampla utilidade não só na terapêutica medicinal como também na indústria, contudo com o passar dos anos estudos vão surgindo havendo a busca incessante por novas descobertas.

Assim levando em consideração as diversas indicações e aplicações que vem sendo agregado ao óleo de copaíba, e a diversidade de sua espécie, tem-se a necessidade de desenvolver estudos inovadores com a finalidade

de garantir a veracidade, a eficácia e segurança do mesmo, corroborando para um maior controle na autenticidade dos óleos e qualidade na sua terapêutica.

REFERÊNCIAS

- [1] Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa n. 20, de 31 de julho de 2000. Regulamento técnico de identidade e qualidade de presunto. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, 03 ago. 2000; 7.
- [2] Franco BDGM, Landgraf M. Microbiologia dos alimentos. São Paulo: Atheneu. 2005.
- [3] International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF). Microbial ecology of food commodities. 2^{ed.}, New York, Kluwer Academic, Plenum Publishers. 2005; 736.
- [4] Mottin VD. Avaliação microbiológica de apresentados, fatiados e comercializados em supermercados de Porto Alegre, RS. [Dissertação] Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2008.
- [5] Vazquez-Boland, JA, Domínguez-Bernal G, González-Zorn, B, Kreft, Goebel, w. et al. Pathogenicity islands and virulence evolution in *Listeria*. *Microbes Infect.* 2001; 3(7):571-84.
- [6] Fretz R, Sagel U, Ruppitsch W.; Pietzka A, Stoger A, Huhulescu S, et al. Listeriosis outbreak caused by acid curd cheese Quargel, Austria and Germany 2009. *Euro Surveillance* 2010; 15(5):1-5.
- [7] Scallan ERM, Hoekstra FJ, Angulo RV, Tauxe MA, Widdowson SL, Roy JL. et al. Foodborne Illness Acquired in the United States – Major Pathogens. *Emerg. Infect. Dis.* 2011; 17(1):7-15.
- [8] Sauders BD, Fortes FD, Morse DL, Dumas N, Kiehlauch, JA, Schukken Y. et al. Molecular subtyping to detect human listeriosis clusters. *Emerg Infect Dis.* 2003; 9(6): 672–680.
- [9] Silva WP, Lima AS, Gandra EA, Araújo MR, Macedo MRP, Duval, EH. *Listeria* spp. no processamento de lingüiça frescal em frigoríficos de Pelotas, RS, Brasil. *Cienc. Rural.* 2004; 34(3):911-16.
- [10] Nikolaev YA, Plakunov VK. Biofilm “city of microbes” or an Analogue of multicellular organisms?. *Mikrobiologia.* 2007; 76(2):149-63.
- [11] Silva N, Junqueira V, Silveira N, Taniwaski MH, Santos RFS, Gomes RAR. Manual de Métodos de Análise microbiológica de alimentos e água. 4 ed. São Paulo: Varela. 2010.
- [12] Gonçalves AA. Tecnologia do Pescado: Ciência, Tecnologia, Inovação e Legislação. 1^o ed. Atheneu. 2011.
- [13] De Castro V, Escudero, JM., Rodriguez JL, Muniozguren, N, Uribarri J, Saez D. Listeriosis outbreak caused by latin-style fresh cheese, Bizkaia, Spain, august 2012. *Euro Surveillance* 2012; 17(2):1-3.
- [14] Food Standards Agency (FSA). A microbiological survey of retail ready-to-eat cooked sliced meats and pâtés with particular reference to the presence of *Listeria monocytogenes*. 2011. [Acesso 11 maio 2016]. Disponível em: <http://multimedia.food.gov.uk/multimedia/pdfs/fsis0111.pdf>

- [15] Mottin VD, Fish E, Murmann L, Cardoso MI. Pesquisa de *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* sp em embutidos de carne suína cozidos e fatiados comercializados em supermercados no município de Porto Alegre, RS. Hig. alimente. 2006; 21(150):191-92.
- [16] Regulamento (CE) N° 1441/07 de 05 de dezembro de 2007, que altera o Regulamento (CE) 2073/05 relativo a critérios microbiológicos aplicáveis aos gêneros alimentícios. Jornal Oficial da União Européia.
- [17] Food and Drug Administration (FDA) 2011. Fish and fishery products hazards and controls guidance. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Food and Drug Administration USA. Available from:
<http://www.fda.gov/downloads/food/guidanceregulation/ucm251970.pdf>
- [18] Serio J, Muniz CR, Freitas CAS, Lima JR, Neto JAS. Avaliação microbiológica e microscópica de presuntos fatiados refrigerados. Alim. Nutr. Araraquara. 2009; 20(1):135-39.
- [19] Araújo PCC, et al. Ocorrência de *Listeria monocytogenes* em produtos de carne de peru comercializados na cidade de Niterói-RJ-Brasil. Acta Sci. Vet., 2002; 30:19-25.
- [20] Ferronato AI. Contaminação de carcaças e ambiente por *Listeria* sp. em diferentes etapas do abate de suínos.. [Dissertação] Rio Grande do Sul: Instituto de Ciências Básicas da Saúde. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2010.