

**UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM HIGIENE VETERINÁRIA
E PROCESSAMENTO TECNOLÓGICO DE PRODUTOS
DE ORIGEM ANIMAL**

PRISCILA ALBUQUERQUE ANDREOLI

**PERFIL BACTERIOLÓGICO E DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE
DE ÁGUA DE SALAME TIPO ITALIANO EM TRÊS FORMAS DE
COMERCIALIZAÇÃO NO MUNICÍPIO DE NITERÓI - RJ**

**UNIVERSIDADE
FEDERAL
FLUMINENSE**

**NITERÓI
2009**

PRISCILA ALBUQUERQUE ANDREOLI

**PERFIL BACTERIOLÓGICO E DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE DE ÁGUA DE
SALAME TIPO ITALIANO EM TRÊS FORMAS DE COMERCIALIZAÇÃO NO
MUNICÍPIO DE NITERÓI - RJ**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal Fluminense, como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre. Área de Concentração: Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal.

Orientador: Prof. Dr. ROBSON MAIA FRANCO

Co-orientadora: Prof^ª. Dr^ª. ANA BEATRIZ MONTEIRO FONSECA

Niterói
2009

PRISCILA ALBUQUERQUE ANDREOLI

**PERFIL BACTERIOLÓGICO E DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE DE ÁGUA DE
SALAME TIPO ITALIANO EM TRÊS FORMAS DE COMERCIALIZAÇÃO NO
MUNICÍPIO DE NITERÓI - RJ**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal Fluminense, como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre. Área de Concentração: Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal.

Aprovada em 27/02/2009

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Robson Maia Franco – Orientador
UFF

Prof^a. Dr^a. Ana Beatriz Monteiro Fonseca – Co-orientadora
UFF

Prof^a. Dr^a. Karen Signori Pereira
UFRJ

Niterói
2009

AGRADECIMENTOS

A Deus por todas as oportunidades que sempre me proporcionou.

À toda a minha família, em especial aos meus pais Márcia Albuquerque e Giovanni Andreoli e aos meus irmãos Mário Albuquerque e Pedro Albuquerque, por todo apoio, amizade e amor incondicional ao longo de todos estes anos e em especial durante mais esta etapa da minha caminhada profissional.

Ao meu namorado Thiago Mendes pela compreensão, cumplicidade, incentivo, amizade e carinho.

Às amigas Ana Paula Martins, Carolina Belo, Gabriela Nery, Monique Guerra e Paula Soares pela força, amizade e carinho, e em especial às amigas Clarissa Mattos e Luciana Meints pelo auxílio na redação do abstract.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro durante o curso de mestrado.

Ao meu orientador e amigo Prof. Dr. Robson Franco por aceitar a minha ideia de trabalhar com salames prontamente, por ter destinado incontáveis horas para me ajudar com a pesquisa e com os eventuais problemas ao longo do caminho, pela correção criteriosa e por me mostrar através de exemplos o real sentido da palavra dedicação.

À minha co-orientadora e amiga Prof. Dr^a. Ana Beatriz Fonseca pelo incentivo e amizade desde a época da monitoria de Introdução à Bioestatística em 2002 até os dias de hoje e pela imprescindível ajuda com a parte estatística do trabalho. Sinto-me honrada por tê-la mais uma vez trabalhando comigo.

À Prof. Dr^a. Karen Pereira pela solicitude e paciência desde o primeiro contato via e-mail, e pelo aceite em participar da banca avaliadora.

À Prof. Dr^a. Eliane Mársico por ceder o PAwkit para a realização das análises de atividade de água e por sempre me receber no Laboratório de Controle Físico-Químico com palavras amigas e um sorriso no rosto.

À coordenadora do programa de Pós-graduação em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal da Universidade Federal

Fluminense, Prof. Dr^a. Mônica Queiroz e ao secretário do programa de pós-graduação, Drausio Ferreira, pelo apoio nas solicitações, pelo incentivo e pela amizade de ambos, desde o primeiro momento.

Ao Prof. Dr. Luiz Antônio Oliveira pelos conhecimentos compartilhados ao longo da graduação e da pós graduação.

À equipe técnica, mestrandos, bolsistas e estagiários do laboratório de Controle Microbiológico pelo incentivo durante a realização do experimento, e em especial à mestranda Vanessa Rangel pela companhia durante os feriados e finais de semana no laboratório e ao bolsista Douglas Bromerschenkel pelo auxílio com as fotos da sorologia.

RESUMO

O salame pertence a um grupo de produtos considerados prontos para o consumo. Estes produtos geralmente não sofrem tratamento térmico prévio, conseqüentemente sua qualidade higiênica é de extrema importância para a segurança do ingestor. Considerando a grande produção brasileira de salame industrializado e a escassez de informações qualitativas deste alimento, o presente trabalho objetivou verificar a qualidade de amostras de salame tipo italiano proveniente de indústrias inspecionadas pelo Serviço de Inspeção Federal brasileiro. Foram analisadas 75 amostras de salame (inteiras, fatiadas na indústria e fatiadas no estabelecimento varejista) comercializadas em estabelecimentos varejistas do município de Niterói (RJ). As seguintes análises foram realizadas: contagem de bactérias lácticas, contagem e isolamento de *Staphylococcus* spp. coagulase positiva, enumeração de coliformes totais, enumeração de *Escherichia coli*, isolamento e identificação de *Salmonella* spp., enumeração de *Enterococcus* spp., determinação da atividade de água, sorologia para a estirpe isolada de *E. coli* e teste de sensibilidade aos antimicrobianos para as estirpes de *E. coli* e *Staphylococcus* spp. coagulase positiva isoladas das amostras. Constatou-se que 77,3% das amostras analisadas apresentavam-se impróprias para o consumo, devido à presença acima dos limites permitidos pela legislação vigente de *Staphylococcus* spp. coagulase positiva (BRASIL, 2001).

Palavras chave: Atividade de água. Bacteriologia. Salame.

ABSTRACT

Salami belongs to a class of products that are considered ready for consumption. These products usually do not undergo prior heat treatment, therefore their hygienic quality is extremely important to the security of the consumers. Considering the production of Italian salami in Brazil and the lack of qualitative information about this kind of product, this study intended to verify the quality of Italian salami samples produced by industries inspected by the Brazilian federal inspection service. 75 samples of salami (whole, sliced by meat industries and sliced at the supermarket) commercialized in supermarkets in the city of Niterói (RJ) were studied. The following tests were performed: lactic bacteria, positive coagulase *Staphylococcus* spp., total coliforms, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Enterococcus* spp., water activity, serology of a strain isolated of *E. coli* and antimicrobial susceptibility test of the isolated strains of *E. coli* and positive coagulase *Staphylococcus* spp. It was observed that 77.3% of the analyzed samples were considered unsuitable for consumption because of the presence of positive coagulase *Staphylococcus* spp. above official acceptable limits (BRASIL, 2001).

Keywords: Water activity. Bacteriology. Salami

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Quadro 1 Comparação do grupo dos Coliformes termotolerantes com o gênero *Enterococcus* spp. como indicadores de qualidade sanitária de alimentos, f. 42
- Figura 1 Amostras de salame tipo italiano peça inteira, f. 49
- Figura 2 Amostra de salame tipo italiano fatiado, f. 49
- Figura 3 Subamostra de salame fragmentada em embalagem estéril, f. 52
- Figura 4 Subamostra de salame diluída em SSP 0,1% após cominuição e homogeneização em “stomacher”, f. 52
- Figura 5 Crescimento bacteriano em meio ágar MRS, f. 53
- Figura 6 Esfregaço em lâmina corado pelo método de Gram evidenciando bastonetes Gram positivos, f. 53
- Figura 7 Esfregaço em lâmina corado pelo método de Gram evidenciando cocos Gram positivos, f. 53
- Figura 8 Crescimento bacteriano em meio ágar Baird Parker, f. 56
- Figura 9 Esfregaço em lâmina corado pelo método de Gram evidenciando cocos Gram positivos, f. 56
- Figura 10 Prova da catalase positiva, f. 56
- Figura 11 À esquerda, prova da catalase positiva; à direita, prova da coagulase positiva, f. 56
- Figura 12 À esquerda, tubos apresentando viragem do meio para verde azulado; à direita, tubos sem alteração da coloração original do meio, f. 57
- Figura 13 À esquerda e à direita, fluorescência azul sobre lâmpada ultravioleta; ao centro, sem fluorescência, f. 57
- Figura 14 Esquerda para direita, tubo sem alteração da coloração original do meio; tubo com alteração da coloração original, mas com prova do indol negativa e três tubos com viragem do meio e prova do indol positiva, f. 57
- Figura 15 Tubos contendo caldo Salmosyst suplemento antes da semeadura, f. 59
- Figura 16 Tubo contendo caldo Salmosyst suplemento após a semeadura, f. 59
- Figura 17 Crescimento bacteriano em meio BPLS, à esquerda colônias amarelas; à direita colônias róseas, f. 60
- Figura 18 Crescimento bacteriano em meio Rambach, à esquerda colônias azul esverdeadas; à direita colônias avermelhadas, f. 60

- Figura 19 À esquerda meio TSI com fundo amarelo e bisel vermelho; à direita, meio LIA com coloração violeta, f. 62
- Figura 20 Meio ágar Fenilalanina após gotejamento de Cloreto férrico, à esquerda, alteração da coloração da cultura de amarelo para verde; à direita manutenção da coloração da cultura, f. 62
- Figura 21 Meio Caldo Uréia, à esquerda e à direita, manutenção da coloração do meio; no centro, mudança de coloração do meio de roxo para rosa, f. 62
- Figura 22 À esquerda, não alteração da coloração original do meio; à direita, viragem do meio para verde azulado, f. 63
- Figura 23 Placa de ágar Mueller Hinton evidenciando halos de sensibilidade e resistência aos antimicrobianos, f. 65
- Figura 24 Leitura de halo da zona de inibição em Placa de ágar Mueller Hinton com halômetro, f. 65
- Figura 25 Aglutinação de soro polivalente para *E. coli*, f. 65
- Figura 26 Introdução da amostra no recipiente, f. 66
- Figura 27 Introdução do recipiente tampado no aparelho, f. 66
- Figura 28 Determinação da Aa, f. 66
- Figura 29 Representação gráfica dos valores da contagem de bactérias lácticas coagulase positiva encontrados para as três formas de comercialização, f. 72
- Figura 30 Gráfico em colunas totais da distribuição de frequência de *Staphylococcus* spp. coagulase positiva encontrados para as três formas de comercialização, f. 74
- Figura 31 Representação gráfica dos valores da contagem de *Staphylococcus* spp. coagulase positiva encontrados para as três formas de comercialização, f. 76
- Figura 32 Representação gráfica dos valores da enumeração de coliformes totais encontrados para as três formas de comercialização, f. 79
- Figura 33 Representação gráfica dos valores da enumeração de *Enterococcus* spp. encontrados para as três formas de comercialização, f. 82
- Figura 34 Representação gráfica dos valores de Aa encontrados para as três formas de comercialização, f. 84

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 Resultados referentes à marca, Aa, coliformes totais, *Escherichia coli*, *Enterococcus* spp., *Staphylococcus* spp. coagulase positiva, *Salmonella* spp. e bactérias lácticas para amostra peça inteira, f. 68
- Tabela 2 Resultados referentes à marca, Aa, coliformes totais, *Escherichia coli*, *Enterococcus* spp., *Staphylococcus* spp. coagulase positiva, *Salmonella* spp. e bactérias lácticas para amostra fatiada na indústria, f. 69
- Tabela 3 Resultados referentes à marca, Aa, coliformes totais, *Escherichia coli*, *Enterococcus* spp., *Staphylococcus* spp. coagulase positiva, *Salmonella* spp. e bactérias lácticas para amostra fatiada no varejo, f. 70
- Tabela 4 Análise exploratória da variável bactérias lácticas para as três formas de comercialização, peça inteira, fatiada na indústria e fatiada no varejo, f. 71
- Tabela 5 Distribuição da frequência de *Staphylococcus* spp. coagulase positiva por forma de comercialização, peça inteira, fatiada na indústria e fatiada no varejo, f. 73
- Tabela 6 Análise exploratória da variável *Staphylococcus* spp. coagulase positiva para as três formas de comercialização, peça inteira, fatiada na indústria e fatiada no varejo, f. 74
- Tabela 7 Comportamento das estirpes de *Staphylococcus* spp. coagulase positiva isoladas nas três formas de comercialização, frente aos antimicrobianos testados, f. 76
- Tabela 8 Valor p para os antimicrobianos testados nas estirpes isoladas de *Staphylococcus* coagulase positiva nas três formas de comercialização, f. 77
- Tabela 9 Análise exploratória da variável coliformes totais para as três formas de comercialização, peça inteira, fatiada na indústria e fatiada no varejo, f. 78
- Tabela 10 Comportamento da estirpe de *Escherichia coli* isolada da amostra FV frente aos antimicrobianos testados, f. 80
- Tabela 11 Análise exploratória da variável *Enterococcus* spp. para as três formas de comercialização, peça inteira, fatiada na indústria e fatiada no varejo, f. 80

- Tabela 12 Valores p da comparação entre as três formas de comercialização, peça inteira, fatiada na indústria e fatiada no varejo para a variável *Enterococcus* spp., f. 83
- Tabela 13 Análise exploratória da variável Aa para as três formas de comercialização, peça inteira, fatiada na indústria e fatiada no varejo, f. 83
- Tabela 14 Valores p da comparação entre as três formas de comercialização, inteira, fatiada na indústria e fatiada no varejo para a variável atividade de água, f. 85

LISTA DE ABREVIATURAS

Aa	Atividade de água
AMI	Amicacina
AMP	Ampicilina
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
APHA	“American Public Health Association”
ATM	Aztreonam
BHI	“Brain Heart Infusion”
BPLS	“Brilliant-green Phenol-red Lactose Sucrose”
CAZ	Ceftadizima
CDC	“Centers for Disease Control and Prevention”
CFO	Cefoxitina
CLI	Clindamicina
CLO	Cloranfenicol
CLSI	“Clinical and Laboratory Standards Institute”
CRO	Ceftriaxona
CTX	Cefotaxima
DAEC	<i>E. coli</i> difusamente aderente
EAggEC	<i>E. coli</i> enteroagregativa
EHEC	<i>E. coli</i> entero-hemorrágica
EIEC	<i>E. coli</i> enteroinvasora
EPEC	<i>E. coli</i> enteropatogênica clássica
ERI	Eritromicina
ETEC	<i>E. coli</i> enterotoxigênica
FDA	“Food and Drug Administration”
FI	Fatiado na Indústria
FV	Fatiado no Estabelecimento Varejista
GEN	Gentamicina
I	Intermediária
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IN	Instrução Normativa
LIA	“Lysine Iron Agar”
MRS	<i>Lactobacillus</i> acc. To De Man Rogosa e Sharpe
MS	Moderadamente Sensível
NMP	Número Mais Provável
OXA	Oxacilina
PEN	Penicilina G
PI	Peça Inteira

R	Resistente
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
S	Sensível
SIF	Serviço de Inspeção Federal
SIRVETA	“Sistema de Informacion para la Vigilancia de las Enfermedades Transmitidas por los Alimentos”
SSP	Solução Salina Peptonada
SUT	Sulfazotrim
TET	Tetraciclina
TOB	Tobramicina
TSA	Teste de Sensibilidade aos Antimicrobianos
TSI	“Triple Sugar Iron”
UFC	Unidades Formadora de Colônias
UFF	Universidade Federal Fluminense
VAN	Vancomicina
WHO	“World Health Organization”

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS, f. 3

RESUMO, f. 5

ABSTRACT, f. 6

LISTA DE ILUSTRAÇÕES, f. 7

LISTA DE TABELAS, f. 9

LISTA DE ABREVIATURAS, f. 11

SUMÁRIO, f. 13

1 INTRODUÇÃO, f. 16

2 OBJETIVOS, f. 18

2.1 OBJETIVO GERAL, f. 18

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS, f. 18

3 JUSTIFICATIVA, f. 20

4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA, f. 21

4.1 ALIMENTOS EMBUTIDOS FERMENTADOS, f. 21

4.2 CARNE SUÍNA, f. 22

- 4.3 PRODUTOS DE SALAMARIA, f. 23
 - 4.3.1 **Salame**, f. 24
 - 4.3.1.1 Salame tipo italiano, f. 24
 - 4.3.1.1.1 *Composição e requisitos*, f. 25
- 4.4 PRODUÇÃO INDUSTRIAL DE SALAMES, f. 25
- 4.5 BACTÉRIAS DE INTERESSE NA PESQUISA, f.26
 - 4.5.1 **Microbiota de importância tecnológica**, f. 26
 - 4.5.2 **Microbiota patogena em alimentos**, f. 29
 - 4.5.2.1 *Staphylococcus* spp., f. 32
 - 4.5.2.2 Coliformes totais, f. 36
 - 4.5.3.3 Coliformes termotolerantes, f. 36
 - 4.5.4.4 *Salmonella* spp., f. 38
 - 4.5.5.5 *Enterococcus* spp., f. 41
- 4.6 IMPORTÂNCIA DA DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE DE ÁGUA, f. 43
- 4.7 RESISTÊNCIA BACTERIANA AOS ANTIMICROBIANOS, f. 44
- 4.8 PADRÕES DA LEGISLAÇÃO, f. 45
- 4.9 QUALIDADE BACTERIOLÓGICA DE SALAMES NO BRASIL, f. 45

5 MATERIAL E MÉTODOS, f. 48

- 5.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS, f. 48
- 5.2 MATERIAL, f. 48
- 5.3 MÉTODOS, f. 50
 - 5.3.1 **Preparo dos meios de cultura**, f. 50
 - 5.3.2 **Preparo das subamostras**, f. 51
 - 5.3.2.1 Preparo das subamostras para contagem de bactérias lácticas, contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva, enumeração de coliformes totais e enumeração de *Escherichia coli*, f. 51
 - 5.3.3 **Análises bacteriológicas**, f. 52
 - 5.3.3.1 Contagem de bactérias lácticas, f. 52
 - 5.3.3.2 Contagem de *Staphylococcus* spp. coagulase positiva, f. 54
 - 5.3.3.3 Enumeração de coliformes totais e *Escherichia coli*, f. 56
 - 5.3.3.4 Isolamento e identificação de *Salmonella* spp., f. 58
 - 5.3.3.5 Enumeração de *Enterococcus* spp., f. 62
 - 5.3.3.6 Teste de Sensibilidade Antimicrobiana (TSA) para as estirpes de *Staphylococcus* spp. coagulase positiva e *Escherichia coli* isoladas, f. 63
 - 5.3.3.7 Sorologia das estirpes isoladas de *Escherichia coli*, f. 64
 - 5.3.4 **Determinação da atividade de água**, f. 65
- 5.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA, f. 66

6 RESULTADOS, f. 67

- 6.1 BACTÉRIAS LÁTICAS, f. 71
- 6.2 *Staphylococcus* spp. COAGULASE POSITIVA, f. 73
- 6.3 COLIFORMES TOTAIS e *Escherichia coli*, f. 77
- 6.4 *Salmonella* spp., f. 80
- 6.5 *Enterococcus* spp., f. 80
- 6.6 ATIVIDADE DE ÁGUA, f. 83
- 6.7 AVALIAÇÃO DA ASSOCIAÇÃO ENTRE VARIÁVEIS QUANTITATIVAS, f. 85

7 DISCUSSÃO, f. 86

7.1 BACTÉRIAS LÁTICAS, f. 86

7.2 *Staphylococcus* spp. COAGULASE POSITIVA, f. 87

7.3 COLIFORMES TOTAIS E *Escherichia coli*, f. 88

7.4 *Salmonella* spp., f. 90

7.5 *Enterococcus* spp., f. 91

7.6 Atividade de água, f. 92

8 CONCLUSÕES, f. 94

9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS, f. 96

1 INTRODUÇÃO

A produção de salames no Brasil compõe uma fatia significativa do mercado de produtos cárneos. Nas informações divulgadas pela Associação Brasileira da Indústria Produtora e Exportadora de Carne Suína (ABIPECS) constam que 36,44 milhões de cabeças de suínos foram abatidas no ano de 2006: um aumento de 2,34 milhões em relação ao ano anterior (ABIPECS, 2007b). Segundo o “ranking” da ABIPECS, as três maiores empresas em abate de suínos no país abateram juntas 10.307.484 cabeças de suínos no ano de 2006 (ABIPECS, 2007a).

De acordo com informações da segunda maior empresa brasileira em abate de suínos, que possui três marcas de salame no mercado brasileiro, 99% da produção anual de salames (6000 toneladas) é direcionada ao mercado interno. O grande volume (85%) é de salame tipo italiano (TONIAL, 2007).

Nos últimos anos, houve uma tendência de mudança no hábito alimentar dos consumidores, que tornaram-se mais exigentes com relação a sua alimentação, preocupando-se com a praticidade e a qualidade, buscando alimentos saudáveis, inócuos e livres de contaminação microbiológica, química ou física.

As empresas responsáveis pela produção de alimentos, por sua vez, vem realizando grandes investimentos em treinamentos, equipamentos e programas de qualidade, seguindo as exigências dos mercados interno e externo e das novas legislações que visam garantir a segurança dos alimentos.

Os produtos cárneos são bastante suscetíveis à contaminação por diversos micro-organismos e frequentemente estão envolvidos na veiculação de patógenos causadores de doenças de origem alimentar.

A utilização de produtos prontos para o consumo tem aumentado nos últimos anos, particularmente dos produtos cárneos, como o salame. Estes produtos podem

ser comercializados inteiros ou fatiados. Após o fatiamento, o produto torna-se suscetível a alguns fatores que podem comprometê-lo nos aspectos de inocuidade, como aumento da superfície de contato com o oxigênio, contato com a superfície do cortador e maior manipulação.

OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Verificar as condições higiênico-sanitárias de amostras de salame tipo italiano inteiro, fatiado na indústria e fatiado em estabelecimento de venda, inspecionadas pelo Serviço de Inspeção Federal (SIF), provenientes do comércio varejista do município de Niterói - RJ.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- * Contar bactérias lácticas;
- * Contar *Staphylococcus* spp. coagulase positiva;
- * Enumerar coliformes totais;
- * Enumerar *Escherichia coli*;
- * Isolar e identificar *Salmonella* spp.;
- * Enumerar *Enterococcus* spp.;
- * Determinar a Atividade de água (Aa);
- * Verificar se o salame tipo italiano comercializado está dentro dos padrões exigidos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) contidos na Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 12, de 02 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001);
- * Realizar o teste de sensibilidade antimicrobiana para as estirpes de *Staphylococcus* spp. coagulase positiva e *Escherichia coli* isoladas.
- * Verificar se existe associação entre a Aa e a microbiota analisada;

* Ponderar a existência de associação entre a quantidade de bactérias lácticas presentes e a presença de *Staphylococcus* spp. coagulase positiva;

* Observar se o salame fatiado no estabelecimento varejista apresenta maior contaminação de bactérias patogênicas, com relação ao inteiro e ao fatiado na indústria.

3 JUSTIFICATIVA

Dentro do contexto brasileiro de elevado número de cabeças de suínos abatidas anualmente e grande produção de salame industrializado, sendo quase a totalidade desta produção destinada ao mercado interno, surgem preocupações com a qualidade do produto, que é armazenado à temperatura ambiente e consumido sem nenhuma preparação prévia que venha diminuir e/ou eliminar os possíveis patógenos presentes.

O salame mais produzido e consumido no país é do tipo italiano e seu consumo inclui peças inteiras de 200 g e produto fatiado pronto para consumo, em cartelas de 100 g. Em alguns estabelecimentos varejistas, o salame inteiro pode ser fatiado no momento da compra na quantidade desejada pelo consumidor, o que pode ocasionar a invasão biológica bacteriana.

No Brasil, existem poucas pesquisas relacionadas à qualidade bacteriológica de salames. A maioria destas foi realizada nos estados de Santa Catarina e Rio Grande do Sul, utilizando o salame tipo colonial que é produzido artesanalmente ou por indústrias regionais, não refletindo as condições da indústria de salames no país. Pesquisas utilizando salames industrializados de marcas de abrangência nacional com peças inteiras ou produtos fatiados são escassas, sendo que, em algumas dessas, apenas a presença de *Listeria monocytogenes* foi determinada.

4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1 ALIMENTOS EMBUTIDOS FERMENTADOS

Carne e produtos cárneos são essenciais para a dieta humana, podendo ser considerados alimentos funcionais na medida em que contem numerosos compostos essenciais para a dieta (BERNARDI; OETTERER; CASTILLO, 2008).

A carne possui grande valor nutricional, comercial e social, porém apresenta um limitado prazo de vida útil. Visando sua preservação, foram desenvolvidos procedimentos como a secagem, a salga e a fermentação (COELHO et al., 2001; TERRA, 1998; VIOTT; STOLBERG; PELLISER, 2006).

A industrialização da carne consiste na sua transformação em produtos cárneos, sendo que as carnes provenientes de bovinos, suínos e aves são preferencialmente utilizadas pelas indústrias como matéria prima (TERRA, 1998). Dentre os objetivos deste processamento tecnológico ressaltam-se: o aumento do prazo de vida comercial do produto, o desenvolvimento de diferentes sabores e a utilização de partes do animal de difícil comercialização quando no estado “in natura” (BAÚ, 2007; TERRA, 1998).

Jardim e Toso (2008) relataram que os primeiros embutidos surgiram cerca de 3000 anos antes de Cristo e eram elaborados a partir de carnes de pequenos ruminantes, conservadas dentro da tripa do animal, defumadas e secas ao sol. O método servia para preservar carnes que não poderiam ser consumidas imediatamente. Após estarem bem estabelecidos no paladar mundial, os embutidos começaram a se diversificar na medida em que novos ingredientes e temperos chegavam aos países e culturas nos quais eram consumidos. Lentamente, receitas

tradicionais, como o salame italiano e o “chorizo” espanhol, foram criadas e se popularizaram em cada região.

A produção de alimentos fermentados é uma das mais antigas formas de tecnologia de processamento de alimentos conhecida pela humanidade. Estes alimentos formam uma classe independente de gêneros alimentícios, com grande aceitação pelos consumidores, por apresentarem características de sabor, aroma e textura muito apreciados (CAPLICE; FITZGERALD, 1999).

Os produtos cárneos fermentados são considerados como resultado da seleção de uma microbiota diferente daquela presente na carne “in natura”, mediante adição de sais e desenvolvimento do processo de cura. As atividades lipolíticas e proteolíticas destes micro-organismos selecionados conferem aos produtos características sensoriais peculiares (PEARSON; TAUBER, 1984¹ apud PEREIRA, 2006).

No Brasil, a fabricação de embutidos crus fermentados iniciou-se com a colonização de imigrantes italianos e alemães, principalmente na região sul do país, onde os imigrantes encontraram condições favoráveis e iniciaram a produção caseira que, com o passar do tempo, originou as pequenas fábricas (CASTRO; LUCHESE; MARTINS, 2000; OLIVEIRA, 1999; TERRA; FRIES; TERRA, 2004).

Na região sul, a industrialização de embutidos crus fermentados constitui um importante segmento da indústria de derivados cárneos (CASTRO; LUCHESE; MARTINS, 2000).

4.2 CARNE SUÍNA

A carne suína é a mais produzida e consumida no mundo, respondendo por cerca de 50% do consumo global de carnes. Diferente dos demais países nos quais predomina o consumo da carne suína “in natura”, no Brasil, 70% da produção é consumida na forma de embutidos ou produtos industrializados. Este padrão ocorre devido a forte concorrência que a carne suína enfrenta com a carne de frango, que possui custo menor e ainda se beneficia do atributo de carne mais saudável (SILVEIRA; TALAMINI, 2007).

¹ PEARSON, A. M.; TAUBER, F. W. Curing. In: PEARSON, A. M.; TAUBER, F. W. *Processed meats*. 2ª ed. Westport: AVI Publishing Company, 1984, cap. 3, p. 46-68.

Silva (2005) relata que os pontos fracos da carne suína são muito marcantes, constituindo uma restrição ao produto. O conceito errôneo que o consumidor tem em relação à carne suína deve-se ao desconhecimento quanto aos intensos trabalhos de melhoria nas áreas de genética, nutrição, manejo e sanidade, que foram efetuados pelos criadores ao longo dos últimos 30 anos.

Novello, Freitas e Quintiliano (2006) relataram que o mito de que a carne suína é menos saudável é ocasionado pela divergência de valores de lipídios e colesterol nas tabelas de composição química de alimentos de carne de suínos, bovinos e frangos. Esta divergência provoca implicações relativas à ingestão, gerando inclusive confusões entre profissionais na área de saúde.

Segundo Silva (2005), o mercado como um todo ainda não recebeu informações suficientes para assimilar o fato que o nível de colesterol da carne suína é igual ou até menor que o de outras carnes, além de ser uma importante fonte de proteínas e vitaminas do complexo B.

Faria, Ferreira e Garcia (2006) avaliaram o comportamento do mercado consumidor de carne suína e seus derivados em Belo Horizonte e relataram que 17% dos entrevistados consumiam produtos derivados de carne suína diariamente, 29,2% consumiam duas a três vezes por semana e 24,2% consumiam uma vez por semana. Os consumidores entrevistados citaram como principais aspectos positivos, com relação aos derivados de carne suína o sabor e a facilidade de preparo.

4.3 PRODUTOS DE SALAMARIA

Uma grande variedade de produtos fermentados é produzida em muitas partes do mundo (MARCHESINI et al., 1992). A produção e o consumo *per capita* de salames fermentados são mais elevados em países como Alemanha, Espanha, França e Itália, entretanto em países que não possuem tradicionalmente o hábito de produção e consumo, como Austrália, Brasil, Estados Unidos da América, Grã Bretanha e Japão, estes produtos tem se tornado cada vez mais populares (FERNÁNDEZ et al., 2000).

Segundo dados da Pesquisa Industrial Anual realizada pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), em 2000, os produtos de salamaria (salame, mortadela, presunto, patê e salsicha) encontraram-se na 98ª posição entre

os 100 maiores produtos e/ou serviços industriais brasileiros, com uma produção anual de 698.411.283Kg (IBGE, 2007).

Nos dados relacionados às vendas e ao volume comercializado dos produtos cárneos no varejo em 2006 no Brasil, o salame apresentou volume de 15.158 toneladas, com variação 2005/2006 de +11,7% (BOURROUL; PARMIGIANI, 2007).

4.3.1 Salame

Entende-se por salame, o produto cárneo industrializado obtido de carne suína ou suína e bovina, adicionado de toucinho, ingredientes, embutido em envoltórios naturais e/ou artificiais, curado, fermentado, maturado, defumado ou não e dessecado (BRASIL, 2000).

Na Instrução Normativa (IN) nº 22 de 31 de julho de 2000 (BRASIL, 2000), foram aprovados os regulamentos técnicos de identidade e qualidade de oito tipos de salame: salaminho, calabrês, friolano, napolitano, hamburguês, italiano, milano e linguiça colonial (popularmente conhecida como salame tipo colonial). A diferenciação entre os tipos de salame baseia-se na matéria prima (exclusivamente carne suína ou junção de carnes suína e bovina), na granulometria da carne e do toucinho (fina, média ou grossa), na condimentação e na aplicação (ou não) de defumação.

4.3.1.1 Salame tipo italiano

Entende-se por salame tipo italiano, o produto cárneo industrializado, elaborado de carnes suínas ou suínas e bovinas, toucinho, adicionado de ingredientes, moídos em granulometria média entre 6 e 9 mm, embutido em envoltórios naturais ou artificiais, curado, defumado ou não, fermentado, maturado e dessecado por tempo indicado pelo processo de fabricação (BRASIL, 2000).

O salame tipo italiano fabricado no Brasil é predominantemente obtido a partir de carne suína, sua maturação é de aproximadamente 30 dias, seu aroma e sabor são suaves e seus valores de pH estão em torno de 5,4 (TERRA, 1998; TERRA; FRIES; TERRA, 2004).

4.3.1.1.1 Composição e requisitos

A composição e os requisitos encontrados em Brasil (2000) inerentes à produção de salame tipo italiano estão listados abaixo:

- Ingredientes obrigatórios: carne suína (mínimo de 60%), toucinho, sal, nitrito e/ou nitrato de sódio e/ou potássio.

- Ingredientes opcionais: carne bovina, leite em pó, açúcares, maltodextrinas, proteínas lácteas, aditivos intencionais, vinho, condimentos, aromas e especiarias e substâncias glaceantes (revestimento externo).

- Coadjuvantes de tecnologia: cultivos iniciadores.

- Características sensoriais: textura, cor, sabor e odor característicos.

- Características físico-químicas: Aa (máximo de 0,90), umidade (máximo de 35,0%), gordura (máximo de 32,0%), proteína (mínimo de 25,0%) e carboidratos totais (máximo 4,0%).

4.4 PRODUÇÃO INDUSTRIAL DE SALAMES

A fabricação de salames em escala industrial pode ser descrita de forma simples, consistindo de duas etapas distintas: fermentação e desidratação (TERRA, 1998).

A fermentação constitui a etapa inicial, sendo crucial no processo de cura dos embutidos, pois é o estágio em que ocorre a maioria das transformações físicas, bioquímicas e microbiológicas (FERNÁNDEZ et al., 2000; LIZASO; CHASCO; BERIAIN, 1999; OLIVEIRA; MENDONÇA, 2004; TERRA; FRIES; TERRA, 2004). Estas modificações são influenciadas pelas características da matéria prima e das condições do processo, e alteram as propriedades sensoriais do produto final (aroma, cor e textura), assim como a conservação e estabilidade do produto (BACUS, 1984; LIZASO; CHASCO; BERIAIN, 1999). Os micro-organismos que produzem as alterações esperadas podem ser participantes da microbiota natural do material a ser fermentado ou podem ser adicionados como culturas “starter” (PELCZAR; REID; CHAN, 1980).

A desidratação é consequência principal da fermentação com grande produção de ácido láctico e reforça algumas propriedades sápidas (TERRA, 1998).

Durante o processamento do salame tipo italiano, ocorre considerável perda de peso e de umidade nas amostras. A perda de umidade, associada à presença de sais, ocasiona redução da Aa (GARCIA; GACLEAZZI; SOBRAL, 2000). Quanto maior à queda do pH, maior a perda de água, levando a menores valores de Aa (NASSU; GONÇALVES; BESERRA, 2002). A redução da Aa somada a queda do pH consiste em dois obstáculos que se formam durante a produção e que são essenciais para conferir estabilidade aos embutidos fermentados (GARCIA; GACLEAZZI; SOBRAL, 2000).

O armazenamento dos produtos fermentados pode ser feito a temperatura ambiente, sem necessidade de refrigeração, pois além da baixa Aa, o produto possui elevada acidez (PEREIRA, 2006).

4.5 BACTÉRIAS DE INTERESSE NA PESQUISA

4.5.1 Microbiota de importância tecnológica

Na produção comercial de alimentos fermentados, há um esforço constante, por parte dos produtores, na obtenção de um alto nível de controle sobre o processo produtivo, com conseqüente produção de um alimento uniforme e de alta qualidade (DEIBEL; WILSON; NIVEN JUNIOR, 1960).

A partir de 1961, culturas puras de microbiota útil passaram a ser disponibilizadas, possibilitando a obtenção de salames com alta qualidade reprodutível nas diferentes partidas de fabricação (TERRA, 1998). O conhecimento dos fatores que influenciam no desenvolvimento e nas transformações provocadas por esses micro-organismos auxilia na melhoria da qualidade e na obtenção de novos produtos cárneos fermentados (TERRA; FREITAS; CICHOSKI, 2007).

Estas culturas puras são chamadas de cultivos iniciadores ou culturas inoculo, ou “starter”, e são aplicadas para trazer benefícios como mudanças metabólicas e sensoriais no alimento, geralmente acompanhadas de um efeito de preservação (BIASI et al., 2007; CAPLICE; FITZGERALD, 1999; GRIS et al., 2002; HOLZAPFEL; GEISEN; SCHILLINGER, 1995).

Para se obter um produto com qualidade, apresentando boas características em relação à cor, ao sabor e à garantia dos padrões microbiológicos, é necessário

que as culturas “starter” sejam adicionadas, a fim de competir com os micro-organismos presentes na carne (BIASI et al., 2007; LIZASO; CHASCO; BERIAIN, 1999; METAXOPOULOS et al., 1981; METAXOPOULOS; SAMELIS; PAPADELLI, 2001; MONTEL et al., 1996; NASSU; GONÇALVES; BESERRA, 2002; TERRA, 1997; TOMPKIN; MCNAMARA; ACUFF, 2001). O uso de culturas “starter” têm propiciado às indústrias, processos de fermentação e produtos mais uniformes, seguros e confiáveis, com redução do tempo de fermentação, obtendo-se produtos com melhores características sensoriais, nutricionais, químicas e microbiológicas (GRIS et al., 2002; NASSU; GONÇALVES; BESERRA, 2002).

As culturas “starter” são comercializadas sob a forma liofilizada, utilizando a lactose como veículo (TERRA, 1998). São compostas por dois grupos de micro-organismos, visando somar ações características de cada grupo, para se obter o efeito desejado no produto final: um acidificante (bactérias lácticas) que possui a função de estabilizar o produto biologicamente, e um nitrato redutor (flavorizante) que possui a função de reduzir o nitrato, quando presente, a nitrito (BACUS, 1984; CARIONI et al., 2001; GRIS et al., 2002; MARCHESINI et al., 1992).

Os microrganismos mais utilizados na fermentação de carnes pertencem aos gêneros *Lactobacillus* e *Pediococcus*, comumente conhecidos como bactérias lácticas. Além das bactérias lácticas, utilizam-se bactérias do gênero *Staphylococcus* não patogênicas e *Micrococcus*. Algumas culturas comerciais utilizam a combinação de bactérias (BACUS, 1984).

O grupo das bactérias lácticas é composto por 12 gêneros bacterianos: *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Lactosphaera*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* e *Weissella* (JAY, 2005).

As bactérias lácticas se caracterizam por bastonetes ou cocos Gram positivos (HALL; LEDENBACH; FLOWERS, 2001) geralmente mesofílicas, podendo desenvolver-se na faixa de temperatura de 5°C a 45°C, com pH entre 4,0 e 4,5 (CAPLICE; FITZGERALD, 1999).

Estes micro-organismos são adicionados aos produtos cárneos curados por possuírem a capacidade de fermentar açúcares com produção de ácidos orgânicos, principalmente o ácido láctico (DABÉS, 2000; LIZASO; CHASCO; BERIAIN, 1999; MIRALLES; FLORES; PEREZ-MARTINEZ, 1996; MONTEL et al., 1996; TERRA, 1998).

O ácido láctico participa ativamente do sabor, da coloração, da fatiabilidade e do aroma do produto cárneo fermentado (DABÉS, 2000; LIZASO; CHASCO; BERIAIN, 1999; MONTEL, 1996; TERRA, 1998), além de impedir o desenvolvimento de micro-organismos indesejáveis, como *Clostridium botulinum*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, entre outros (LIZASO; CHASCO; BERIAIN, 1999; SMITH; PALUMBO, 1978; TERRA, 1998; TERRA; FRIES; TERRA, 2004).

A acidificação reduz a capacidade de retenção de água pela carne, por atingir o ponto isoelétrico das proteínas miofibrilares, levando a menores valores de Aa, além de propiciar o sabor ácido, característico dos produtos cárneos fermentados e desnaturar as proteínas miofibrilares e sarcoplasmáticas, que passam do estado sol para gel, conferindo fatiabilidade ao produto cárneo, sem a ocorrência da desintegração das fatias (FERNÁNDEZ et al., 2000; LIZASO; CHASCO; BERIAIN, 1999; TERRA, 1998; TERRA; FRIES; TERRA, 2004).

A maioria das bactérias lácticas é capaz de produzir bacteriocina, que é uma substância proteínica, codificada por plasmídeos, que possui efeito bactericida somente em espécies bastante correlacionadas entre si e linhagens de bactérias Gram-positivas (DABÉS, 2000; JAY, 2005). Os sistemas antimicrobianos produzidos pelas bactérias ácido lácticas oferecem um grande potencial para desenvolvimento de métodos efetivos de conservação natural para utilização em alimentos (TERRA, 1997).

O grupo dos micro-organismos flavorizantes é composto pela família Micrococcaceae, os gêneros *Staphylococcus* (*Staphylococcus xylosum* e *Staphylococcus carnosus*) e *Kocuria* (*Kocuria varians*), leveduras e fungos filamentosos (JESSEN, 1995² apud TERRA; FRIES; TERRA, 2004).

Estes micro-organismos são adicionados aos produtos cárneos curados, pois ao seu metabolismo estão diretamente relacionados a coloração, o aroma e o sabor. Outras características procuradas são as ações lipolíticas e proteolíticas, produção de catalase (que desdobra o peróxido de hidrogênio, evitando a oxidação lipídica e o esverdeamento do produto) e de redução do nitrato a nitrito pela enzima nitrato redutase. O nitrito sofre várias reações e passa a óxido nitroso que, por sua

² JESSEN, B. Starter cultures for meat fermentations. In: CAMPBELL-PLATT, G.; COOK, P. E. *Fermented meats*. London: Blackie Academic Professional, 1995. p. 130-159.

vez, reage com a mioglobina, formando o complexo nitrosomioglobina, responsável pela coloração típica dos produtos curados (TERRA; FRIES; TERRA, 2004). A redução do nitrato é um efeito desejável, que diminui a disponibilidade dos aditivos intencionais para a formação de nitrosaminas, aditivos esses que são potencialmente carcinogênicos (BALDUINO; OLIVEIRA; HAULY, 1999; SAWITZKI; TERRA; FIORENTINI, 2007; TERRA, 1998).

A seleção da cultura “starter” a ser utilizada deve considerar a habilidade das estirpes em colonizar o ecossistema de uma forma rápida e eficaz (COCOLIN et al., 2006).

A utilização de *Enterococcus* spp. como cultura “starter” em produtos fermentados é controversa porque a diferença entre uma estirpe com potencial patogênico e uma aparentemente segura não é clara, gerando insegurança na utilização de estirpes deste gênero para produção de alimentos (EATON; GASSON, 2001; GIRAFFA, 2002, MULLAN, 2001).

Salames produzidos sem adição de culturas “starter” possuem pH final entre 4,6 e 5,0, já os produzidos com adição de culturas “starter” possuem pH final entre 4,0 e 4,5 (CAPLICE; FITZGERALD, 1999).

4.5.2 Microbiota patógena em alimentos

O número e a extensão dos casos de doenças de origem alimentar têm aumentado no mundo e as causas são muitas e variadas. Segundo Leistner (2001), os seguintes fatores contribuem para o agravamento da situação:

- crescimento cada vez maior da população mundial;
- produção em massa de alimentos;
- aumento do número de pessoas idosas em asilos e de bebês e crianças em creches;
- alguns agentes causadores de doenças de origem alimentar possuem uma baixa dose mínima infectante, o que é deve ser observado com rigor, especialmente no caso de indivíduos imunocomprometidos;
- descoberta de novos tipos de agentes infectantes, capazes de se multiplicarem em temperaturas inferiores a 5°C e pH abaixo de 5,0.

Para Germano e Germano (2001), todos os anos, de 1 milhão a 100 milhões de indivíduos contraem doenças de origem alimentar decorrentes do consumo de alimentos e água. Há que se considerar que, de uma maneira geral, existe perda de informações epidemiológicas, subestimando-se o número real de casos. Estima-se que apenas de 1 a 10% dos casos sejam computados pelas estatísticas oficiais.

Segundo dados do Ministério da Saúde, no estado do Rio de Janeiro, de janeiro a setembro de 2008, ocorreram 3392 casos de morbidade decorrentes de diarreia e gastroenterite com origem infecciosa presumível (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2008).

Produtos cárneos como salames, presuntos, hambúrgueres e linguiças estão frequentemente associados a algum tipo de doença de origem alimentar (PEREIRA, 2007).

Segundo Matsubara (2005), o envolvimento de carnes e produtos cárneos na ocorrência de doenças de origem alimentar ocorre porque muitos dos agentes patogênicos pertencem à microbiota natural dos animais de corte e contaminam as carcaças durante o abate, ou acabam sendo transferidos do ambiente contaminado para as mesmas pelo manipulador, pelos utensílios, pelos equipamentos ou mesmo pela água.

A contaminação dos produtos cárneos por micro-organismos pode ocorrer desde a matéria prima até o consumo (BROMBERG, 2007, CARVALHO et al., 1998). Em muitos casos, as infecções e as intoxicações alimentares podem ser atribuídas às práticas inaceitáveis nas operações de processamento ou fornecimento dos alimentos, à falta de conhecimento quanto à manipulação dos mesmos e às instalações inadequadas (BROMBERG, 2007).

A produção de embutidos com padrões de qualidades satisfatórios requer, sobretudo, a observância de fatores relacionados à qualidade sanitária da matéria prima, às condições de higiene e à tecnologia utilizada na sua fabricação, pois a industrialização consiste na transformação das carnes em produtos alimentícios, realizando integralmente um ciclo que tem seu início na produção de carnes com qualidade (MARTINS, 2006; TERRA, 1998).

No estudo de origens e medidas de controle da contaminação dos alimentos, deve ser sempre destacada a participação do manipulador, o qual representa, sem dúvida, o fator de maior importância no sistema de proteção dos alimentos às

alterações, sendo o principal elo da cadeia de transmissão da contaminação microbiana dos alimentos (CURI, 2006).

Produtos fermentados, como o salame, são considerados prontos para o consumo e não sofrem qualquer tipo de tratamento térmico prévio (TILDEN JUNIOR et al., 1996), por isso, a utilização de carne de alta qualidade e a manutenção de padrões higiênicos elevados são pré-requisitos para sua produção com boa qualidade e segurança (HOLLEY; LAMMERDING; TITTIGER, 1988; OLIVEIRA; MENDONÇA, 2004).

Os vários tipos de salame existentes são fatiados pelas indústrias de carne e/ou pelos supermercados, sem levar em conta as possíveis alterações que possam vir a ocorrer com tal procedimento (MARCHESI et al., 2006). O fatiamento de produtos cárneos pode representar uma importante fonte de contaminação por micro-organismos patogênicos ou deteriorantes devido ao contato do alimento a ser fatiado com a superfície do cortador (MUNIZ et al., 2007), à maior manipulação e ao aumento da superfície de contato com o oxigênio (BRESSAN et al., 2007).

Os produtos fatiados são mais susceptíveis à contaminação pelo ar e à retenção de umidade relativa que, por sua vez, ocasiona o aumento da atividade de água, propiciando um meio favorável ao desenvolvimento de micro-organismos patogênicos e/ou deteriorantes. Os fatores relatados, somados à deficiência das boas práticas de manipulação e às características intrínsecas do alimento tendem a reduzir o prazo de vida comercial do produto, comprometendo a satisfação do consumidor, acarretando perdas econômicas e tornando-se um risco ao ingestor (FAI et al., 2007).

Dados do “Centers for Disease Control and Prevention” (CDC) dos Estados Unidos da América (EUA) relacionados a um surto ocorrido em 1994 causado por *Escherichia coli* O157:H7 isolada de salame industrializado fatiado, leva à conclusão de que há possibilidade de contaminação cruzada durante o fatiamento, pois a bactéria foi isolada de indivíduo sintomático que ingeriu peito de peru fatiado no mesmo equipamento que o salame contaminado (CDC, 1995).

No Brasil, segundo dados do “Sistema de Informacion para la Vigilancia de las Enfermedades Transmitidas por los Alimentos” (SIRVETA), entre os anos de 1993 e 2002 foram notificados seis surtos pelo consumo de salame contaminado. Dentre os quais, três foram ocasionados por *Staphylococcus aureus*, um por *Salmonella* spp. e dois não tiveram agente etiológico especificado (SIRVETA, 2007).

Na Argentina, no mesmo período, foram notificados nove surtos pelo consumo de salame contaminado e em todos o agente etiológico responsável foi a *Trichinella spiralis* (SIRVETA, 2007).

Na Inglaterra, em 1988, o Centro de Vigilância de Doenças Transmissíveis registrou um surto ocasionado pelo consumo de salame contaminado com *Salmonella* Typhimurium fagotipo DT 124, que afetou 101 pessoas com idades variando de sete meses a 78 anos (HOBBS; ROBERTS, 1998).

Nos EUA, em 1994, foi registrado um surto causado por *Escherichia coli* O157:H7 relacionado ao consumo de salame industrializado fatiado que afetou 20 indivíduos com idades variando de um a 77 anos, sendo que uma criança de dois anos desenvolveu Síndrome Urêmica Hemolítica (CDC, 1995). No ano de 1995, também nos EUA, foi relatado um surto de *Salmonella* Typhimurim associado ao consumo de salame envolvendo 26 indivíduos (SAUER et al., 1997).

Pereira (2006) ponderou que devido à baixa severidade da intoxicação estafilocócica, os surtos acabam sendo subnotificados aos órgãos de Saúde Pública. As diarreias causadas pela *E. coli* apresentam distribuição mundial, contudo a real extensão da incidência não está dimensionada, principalmente devido à elevada subnotificação de casos. Apesar do elevadíssimo número de tipos antigênicos, apenas uma minoria de estirpes é capaz de provocar doença no homem (GERMANO; GERMANO, 2001).

4.5.2.1 *Staphylococcus* spp.

As bactérias pertencentes ao gênero *Staphylococcus* possuem formato esférico e podem se apresentar únicas, em pares ou em tétrades, formando agrupamentos irregulares em mais de um plano (semelhantes a cachos de uva). São Gram-positivas, imóveis, não formadoras de esporos, catalase positivas, oxidase negativas e anaeróbias facultativas com metabolismo respiratório e fermentativo (KLOOS; SCHLEIFER, 1986).

No “Manual of Clinical Microbiology” publicado em 2003 constam 35 espécies como pertencentes ao gênero *Staphylococcus* (BANNERMAN, 2003³ apud PEREIRA, 2006). Dentre estas, Jay (2005) enumerou 18 espécies e subespécies que apresentam potencial interesse em alimentos: *S. aureus* subespécie *anaerobius*, *S. aureus* subespécie *aureus*, *S. intermedius*, *S. hyicus*, *S. delphini*, *S. schleiferi* subespécie *coagulans*, *S. schleiferi* subespécie *schleiferi*, *S. caprae*, *S. chromogens*, *S. cohnii*, *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. lentus*, *S. saprophyticus*, *S. sciuri*, *S. simulans*, *S. warnei* e *S. xylosus*.

Por muitos anos a espécie *S. aureus* foi considerada a única do gênero capaz de produzir enterotoxinas, bem como de produzir coagulase, por ser a espécie mais relacionada a surtos de doenças de origem alimentar, devido à capacidade da maioria de suas estirpes de produzir enterotoxinas (CURI, 2006; FRANCO; LANDGRAF, 2005; JAY, 2005, PEREIRA, 2006; SILVA; GANDRA, 2004). Posteriormente, outras espécies como *S. hyicus* e *S. intermedius*, também produtoras de enterotoxinas e de coagulase, foram identificadas como agentes etiológicos relacionados a surtos de doenças de origem alimentar (CURI, 2006; PEREIRA, 2006; SILVA; GANDRA, 2004).

Jay (2005) e Pereira (2006) relataram a ocorrência de produção de enterotoxina por alguns *Staphylococcus* spp. coagulase negativa. Jay (2005) afirmou que as espécies de *Staphylococcus* spp. coagulase negativa já relatadas como produtoras de toxina são *S. caprae*, *S. chromogens*, *S. cohnii*, *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. lentus*, *S. saprophyticus*, *S. sciuri*, *S. warneri* e *S. xylosus*.

Na RDC nº 12, há recomendação da contagem de *Staphylococcus* ssp. coagulase positiva para produtos cárneos maturados, como o salame (BRASIL, 2001).

A maioria das estirpes do gênero *Staphylococcus* cresce na presença de 10% de cloreto de sódio (KLOOS; SCHLEIFER, 1986), sendo que algumas linhagens podem crescer em até 20% (FRANCO; LANDGRAF, 2005; JAY, 2005). São tolerantes a nitritos, razão pela qual crescem em carnes curadas, desde que as demais condições lhes sejam favoráveis (PARDI et al., 2001).

³ BANNERMAN, T. L. *Staphylococcus*, *Micrococcus*, and other catalase-positive cocci that grow aerobically. In Murray, P. R. et al. (ed.). *Manual of Clinical Microbiology*. Washington: American Society Microbiology, 2003, p. 384-404.

O pH ótimo para o crescimento do *S. aureus* é entre 6,0 e 7,0, mas pode haver multiplicação na faixa de 4,0 a 9,8. São capazes de crescer em valores de Aa menores que outras bactérias não-halofílicas. O crescimento foi demonstrado com valores abaixo de 0,83 sob condições ideais, embora 0,86 seja considerado o valor mínimo de Aa para crescimento. Apresentam crescimento na faixa de 7 a 47,8°C, sendo sua temperatura ótima entre 30 e 37°C. As enterotoxinas são produzidas na faixa de 10 a 46°C, com ótimo de temperatura entre 40 e 45°C (FRANCO; LANDGRAF, 2005; JAY, 2005).

Os fatores concorrentes para a produção de toxinas são: natureza do alimento, pH, Aa, temperatura, quantidade de inóculo e características da estirpe (PARDI et al., 2001). Em condições ótimas, a enterotoxina torna-se evidente em quatro a seis horas (FRANCO; LANDGRAF, 2005; JAY, 2005). Sob condições de aerobiose, a produção de enterotoxinas ocorre de forma mais rápida do que sob condições de anaerobiose (JAY, 2005).

As bactérias do gênero *Staphylococcus* causam intoxicação pela ingestão do alimento com a toxina pré-formada (LANCETTE; BENNETT, 2001). Niskanen e Nurmi (1976) relataram que é necessária a contaminação acima de 10^5 células/g no estágio de produção e acima de 2×10^6 no produto final para a enterotoxina ser produzida em quantidades detectáveis em amostras de 200 g de embutido seco.

Os sintomas mais comuns da intoxicação estafilocócica são vômito e diarreia, que aparecem de duas a seis horas após a ingestão do alimento contaminado. A intoxicação é relativamente branda e, normalmente, possui duração de algumas horas a um dia, entretanto, em alguns casos apresenta-se de forma severa com presença de muco e sangue no vômito e nas fezes. A taxa de mortalidade é bastante baixa ou nula, porém a intoxicação pode ser fatal para recém-nascidos, idosos e indivíduos gravemente debilitados (GERMANO; GERMANO, 2001; JAY, 2005; LANCETTE; BENNETT, 2001; RADDI; LEITE; MENDONÇA, 1988). Os sintomas variam com o grau de suscetibilidade do indivíduo, concentração da enterotoxina e quantidade consumida do alimento (FRANCO; LANDGRAF, 2005).

As enterotoxinas são termorresistentes (FRANCO; LANDGRAF, 2005; JAY, 2005; PARDI et al., 2001; SILVA; GANDRA, 2004). Franco e Landgraf (2005) relatam que tal fator é importante para a indústria de alimentos, porque a maioria dos alimentos processados sofre algum tipo de tratamento térmico durante o

processamento, mas este tratamento térmico não inativa a toxina, caso esteja presente. As enterotoxinas não apresentam uma ação única, mas sim várias: emética, diarréica, enterite e estímulo das células T.

Alimentos associados com intoxicação estafilocócica são carnes (bovina, suína e de aves), produtos derivados de carne (salames, salsichas e presuntos), saladas (com presunto, frango e batata), cremes produzidos em padaria, leite e seus derivados (LANCETTE; BENNETT, 2001).

As bactérias do gênero *Staphylococcus* estão comumente associadas com a pele e membranas mucosas de animais vertebrados de sangue quente. São isoladas com freqüência em produtos alimentícios, pó e água (KLOOS; SCHLEIFER, 1986). O *S. aureus*, bactéria ubíqua, difunde-se universalmente, sendo em alguns países, o agente de intoxicação mais incidente (PARDI et al., 2001).

O processamento dos alimentos reduz ou elimina os micro-organismos competidores e o *Staphylococcus* spp. pode se desenvolver sem obstáculos, atingindo rapidamente o ponto de formação de toxina, desde que as demais condições o favoreçam (PARDI et al., 2001).

A contaminação pode ocorrer após o processamento ou cozimento, durante o preparo do alimento nos domicílios ou nos estabelecimentos alimentícios, devido à manipulação e/ou inadequada refrigeração antes do consumo. Em comidas processadas a contaminação pode ser resultante de fontes humanas, animais ou ambientais. O potencial para desenvolvimento da enterotoxina é superior em alimentos expostos a temperaturas que permitem o crescimento do *S. aureus*. Em alimentos processados nos quais o *S. aureus* é destruído durante o processamento, a presença deste indica contaminação pela pele, boca, fossas nasais ou mãos dos manipuladores. Quando números elevados de *S. aureus* são encontrados nos alimentos, pode-se suspeitar que a sanitização e/ou o controle da temperatura utilizados foram inadequados (LANCETTE; BENNETT, 2001).

Como os *Staphylococcus* spp. encontram-se amplamente disseminados pela natureza, torna-se impossível sua eliminação do ambiente (FRANCO; LANDGRAF, 2005). Para prevenção é importante que sejam seguidos alguns requisitos: refrigeração adequada do alimento, manutenção a temperaturas superiores a 60°C enquanto estiver sendo servido, evitar o preparo com muita antecedência, cozimento adequado, higiene rigorosa, evitar contato do alimento com

manipuladores que possuam infecções respiratórias ou lesões na pele, afastar manipuladores que apresentem diarreia, evitar tocar no alimento que não é consumido cozido, combater adequadamente moscas e investir em educação sanitária (JAY, 2005; PARDI, 2001).

4.5.2.2 Coliformes totais

As bactérias pertencentes ao grupo dos coliformes totais não estão agrupadas por classificação taxonômica, mas por possuírem características semelhantes (FENG; WEAGANT; GRANT, 2002). Coliformes totais são bactérias aeróbias ou anaeróbias facultativas, Gram-negativas, não formadoras de esporos e fermentadoras da lactose, produzindo ácido e gás em até 48 horas a 35°C (KORNACKI; JOHNSON, 2001).

Os coliformes podem crescer em pH entre 4,4 e 9,0 e em temperaturas que variam entre -2°C e 50°C, entretanto, em alimentos, o crescimento é pobre ou muito lento a 5°C. São capazes de crescer na presença de sais biliares, os quais inibem o crescimento de bactérias Gram-positivas (JAY, 2005).

O grupo é composto predominantemente por bactérias dos gêneros: *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter* e *Klebsiella* (FRANCO; LANDGRAF, 2005; JAY, 2005). Destes, apenas a *Escherichia coli* tem como habitat primário o trato intestinal do homem e animais de sangue quente (FENG; WEAGANT; GRANT, 2002; FRANCO; LANDGRAF, 2005; JAY, 2005). Os outros gêneros, além de serem encontrados nas fezes, também estão presentes em outros ambientes como vegetais e solo. Consequentemente, a presença de coliformes totais no alimento não indica, necessariamente, contaminação fecal recente ou ocorrência de enteropatógenos (FRANCO; LANDGRAF, 2005).

4.5.2.3 Coliformes termotolerantes

O grupo dos coliformes termotolerantes, assim como o grupo dos coliformes totais, não possui valor taxonômico e é definido pelos micro-organismos pertencentes ao grupo dos coliformes totais que possuem a capacidade de

fermentar a lactose, produzindo ácido e gás em 48 horas a 44,5-45,5°C. O grupo consiste principalmente da *E. coli*, mas algumas outras bactérias entéricas, como a *Klebsiella* spp. também fermentam a lactose à 44-44,5°C, sendo portanto, consideradas como coliformes termotolerantes (FENG; WEAGANT; GRANT, 2002). Estirpes de *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter* spp. e *Citrobacter freundii* podem ser recuperadas pelo teste de coliformes termotolerantes, dependendo do alimento e da temperatura de incubação (KORNACKI; JOHNSON, 2001).

Dentro do grupo dos coliformes termotolerantes, a *E. coli* é a única de habitat reconhecidamente fecal, sendo considerada o melhor indicador de contaminação fecal (SILVA, 2002).

A *Escherichia coli* pertence à família Enterobacteriaceae e é um bastonete Gram-negativo, não esporulado, oxidase negativo, móvel ou imóvel, anaeróbio facultativo capaz de fermentar a glicose e a lactose com produção de ácidos e gases (BRENNER, 1984). É utilizada para indicar contaminação fecal recente ou processos realizados em condições insatisfatórias de higiene (FENG; WEAGANT; GRANT, 2002). Contagens elevadas de *E. coli* indicam processamento inadequado e/ou recontaminação pós-processamento, sendo as causas mais frequentes aquelas provenientes da matéria prima, equipamento sujo ou manipulação sem higiene (TILDEN JUNIOR et al., 1996).

Embora a maioria das estirpes de *E. coli* não seja considerada patogênica, estes micro-organismos podem atuar como patógenos oportunistas, causando infecções em hospedeiros imunodeprimidos. Também existem estirpes patogênicas de *E. coli* que quando ingeridas, causam problemas gastrointestinais em indivíduos saudáveis (FENG; WEAGANT; GRANT, 2002).

Germano e Germano (2001) relatam que a *E. coli* não apresenta resistência a temperaturas elevadas, sendo destruída a 60°C em poucos segundos. No entanto, é capaz de resistir por longo tempo em temperaturas de refrigeração.

A *E. coli* é encontrada nos intestinos dos animais e do homem. É um comensal do intestino: suprime bactérias patógenas e participa da síntese de numerosas vitaminas (GERMANO; GERMANO, 2001; JAY, 2005). Sua presença em alimentos é considerada um indicador de contaminação fecal (SILVA, 2002).

O significado da presença de *E. coli* em um alimento deve ser avaliado sob dois ângulos. Inicialmente, *E. coli* por ser uma enterobactéria, quando detectada no

alimento, indica que o alimento apresenta contaminação microbiana de origem fecal e, portanto, está em condições higiênicas insatisfatórias. Outro aspecto a ser considerado é que diversas linhagens de *E. coli* são comprovadamente patogênicas para o homem e os animais (FRANCO; LANDGRAF, 2005).

As linhagens de *E. coli* consideradas patogênicas são agrupadas em seis classes: *E. coli* enteropatogênica clássica (EPEC), *E. coli* enteroinvasora (EIEC), *E. coli* enterotoxigênica (ETEC), *E. coli* entero-hemorrágica (EHEC), *E. coli* enteroagregativa (EAaggEC) e *E. coli* difusamente aderente (DAEC). Dentre as inúmeras cepas enterovirulentas, a que constitui maior preocupação para as autoridades de saúde é a *E. coli* O157:H7, responsável pela forma enterohemorrágica da infecção, tendo sido identificada em 1982, associada com surtos de colite hemorrágica. O quadro clínico das infecções causadas por *E. coli* dependem da cepa e de suas patogenicidade e virulência, bem como da idade e do estado imune dos pacientes. A água contaminada com esgoto é uma das principais vias de transmissão do agente na natureza. Por outro lado, qualquer alimento exposto a contaminação fecal, seja através de preparo ou dos manipuladores infectados, é capaz de veicular a bactéria (GERMANO; GERMANO, 2001).

4.5.2.4 *Salmonella* spp.

O gênero *Salmonella* compreende 2324 sorovares, agrupados em duas espécies, *enterica* e *bongori* (JAY, 2005). Nem todos os sorovares são igualmente patogênicos aos humanos e aos animais, mas todos são importantes para a saúde pública (ANDREWS et al., 2001).

As bactérias pertencentes a este gênero são bastonetes Gram-negativos, geralmente móveis, exceto os sorovares Pullorum e Galinarum. São catalase positivas, oxidase negativas, redutoras de nitrato a nitrito e anaeróbias facultativas, com metabolismo respiratório e fermentativo (BRENNER, 1984).

O pH ótimo para multiplicação é 7,0, sendo que valores superiores a 9,0 e inferiores a 4,0 são bactericidas. O gênero não tolera concentração de sal superior a 9% e o nitrito possui efeito inibitório de crescimento (FRANCO; LANDGRAF, 2005; JAY, 2005). A temperatura ideal para crescimento é 35-37°C, sendo a mínima de 5°C e a máxima de 47°C (FRANCO; LANDGRAF, 2005). Valores de Aa abaixo

de 0,94 em meios com pH neutro promovem a inibição do crescimento do gênero (JAY, 2005), embora possam sobreviver por mais de um ano em alimentos com baixa Aa, como chocolate, pimenta, gelatina em pó, entre outros alimentos (GERMANO; GERMANO, 2001).

A taxonomia é baseada na composição de seus antígenos de superfície, que são os antígenos somáticos (O), os flagelares (H) e os capsulares (Vi) (FRANCO; LANDGRAF, 2005; JAY, 2005).

As doenças de origem alimentar resultam da ingestão de alimentos contendo número significativo de determinadas linhagens do gênero (JAY, 2005). A patogenicidade varia de acordo com o tipo sorológico, idade e condições de saúde do hospedeiro (TRABULSI; TOLEDO, 1998).

As doenças causadas por *Salmonella* spp. costumam ser subdivididas em três grupos: febre tifóide causada pela *Salmonella typhi*, febres entéricas causadas pela *Salmonella paratyphi* (A, B e C) e as enterocolites, também chamadas de salmoneloses, causadas pelas demais linhagens do gênero (FRANCO; LANDGRAF, 2005; TRABULSI; TOLEDO, 1998).

A febre tifóide só acomete o homem e sua transmissão ocorre através de água e alimentos contaminados com material fecal humano. Os sintomas são graves e incluem septicemia, febre alta, diarreia e vômito, que possuem duração de uma a oito semanas (FRANCO; LANDGRAF, 2005). Possui alta taxa de mortalidade (JAY, 2005).

As febres entéricas são semelhantes à febre tifóide, mas os sintomas são mais brandos, geralmente ocorrendo septicemia, febre, vômito e diarreia, que possuem duração de no máximo três semanas (FRANCO; LANDGRAF, 2005).

As salmoneloses caracterizam-se por sintomas como diarreia, febre, dores abdominais e vômito (FRANCO; LANDGRAF, 2005; GERMANO; GERMANO, 2001) e são, geralmente, acompanhados por fraqueza, fadiga muscular, nervosismo e sonolência (JAY, 2005). Estes sintomas aparecem de 12 a 36 horas após o contato com o micro-organismo, durando entre um e quatro dias (FRANCO; LANDGRAF, 2005; GERMANO; GERMANO, 2001). A morbidade é maior em crianças e idosos e a sensibilidade individual é fator relevante no desenvolvimento do processo infeccioso, embora a dose e a virulência dos micro-organismos também tenham importância (PARDI et al., 2001). Acreditava-se que para um indivíduo adquirir salmonelose de origem alimentar era necessária a ingestão de um número elevado

(>10⁸) de células viáveis de *Salmonella* spp. no alimento, no entanto, vários estudos tem demonstrado que diversos fatores podem alterar esse valor. A patogenicidade e o estabelecimento dos sintomas de salmonelose, bem como a sua gravidade, variam de acordo com o sorotipo de *Salmonella* spp., idade e condições de saúde do hospedeiro (FRANCO; LANDGRAF, 2005; GERMANO; GERMANO, 2001; TRABULSI; TOLEDO, 1998), e características do alimento envolvido (FRANCO; LANDGRAF, 2005). Se o hospedeiro é uma criança no primeiro ano de vida ou é portador de certos tipos de patologias que ocasionem deficiências imunológicas, a doença pode evoluir de maneira diferente e se tornar bastante grave (FRANCO; LANDGRAF, 2005; TRABULSI; TOLEDO, 1998). Em crianças, a bactéria frequentemente invade a circulação, provocando infecções em outros órgãos (TRABULSI; TOLEDO, 1998). Existem relatos de meningites, osteomielites e problemas renais decorrentes de infecção por *Salmonella* spp. (FRANCO; LANDGRAF, 2005). Em São Paulo, a *Salmonella* Typhimurium é uma causa muito comum de meningite em crianças (TRABULSI; TOLEDO, 1998).

As bactérias pertencentes ao gênero *Salmonella* encontram-se amplamente distribuídas na natureza, sendo o trato intestinal do homem e dos animais (principalmente aves e suínos) seu principal reservatório natural (FRANCO; LANDGRAF, 2005; JAY, 2005).

Os veículos mais comuns de salmonelose humana são ovos, carne (frango, bovina e suína) e produtos à base de carne (CDC, 2006; FRANCO; LANDGRAF, 2005; JAY, 2005). A salmonelose associada a laticínios é quase sempre causada por leite cru ou inadequadamente pasteurizado e derivados deste tipo de matéria prima (FRANCO; LANDGRAF, 2005).

Embora os micro-organismos sejam eliminados rapidamente do trato intestinal, mais de 5% dos pacientes tornam-se portadores assintomáticos após a cura da doença, possuindo, portanto, um papel importante na disseminação da doença (JAY, 2005).

Dentre as doenças de origem alimentar, a salmonelose tem expressivo destaque. Na Europa, o gênero *Salmonella* foi identificado como causador de 77,1% dos surtos notificados entre 1993 e 1998 (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 2007). Os sorovares mais comumente encontrados no mundo são o Enteritidis e o Typhimurium (DIVISÃO DE DOENÇAS DE TRANSMISSÃO HÍDRICA E ALIMENTAR, 2005).

As salmoneloses de origem alimentar podem estar limitadas a um único indivíduo ou a um pequeno grupo de indivíduos relacionados, como podem, também, estar associados a surtos de grandes proporções, envolvendo milhares de pessoas (FRANCO; LANDGRAF, 2005).

O tratamento de efluentes e dos dejetos de origem animal, a higiene do abate, a pasteurização do leite, a manipulação adequada de alimentos, a conservação e a cocção em temperaturas corretas, o tratamento dos animais enfermos e a prescrição cuidadosa de antimicrobianos nos casos humanos e animais, deve ser sempre realizada, a fim de diminuir a ocorrência de estirpes resistentes (GERMANO, GERMANO, 2001). O calor é uma forma eficiente de destruição de *Salmonella* spp. nos alimentos. A composição do alimento também é importante, a presença de sacarose, por exemplo, pode dobrar a resistência térmica da *Salmonella* Typhimurium (FRANCO; LANDGRAF, 2005).

4.5.2.5 *Enterococcus* spp.

As bactérias pertencentes ao gênero *Enterococcus* possuem formato esférico ou ovóide e podem ocorrer em pares ou cadeias pequenas. São Gram-positivas, anaeróbias facultativas com metabolismo fermentativo e catalase negativas (HOLT et al., 1994).

Em microbiologia dos alimentos, duas espécies são mais comumente encontradas: *Enterococcus faecalis* e *Enterococcus faecium* (HARTMAN; DEIBEL; SIEVERDING, 2001; JAY, 2005). Estas espécies são relativamente resistentes ao calor e podem sobreviver aos procedimentos de pasteurização tradicional do leite (HARTMAN; DEIBEL; SIEVERDING, 2001).

O ótimo de temperatura para crescimento é 37°C, mas podem crescer entre 10 e 45°C (HOLT et al., 1994), sendo que algumas espécies como *E. faecalis* e *E. faecium* crescem a 50°C (JAY, 2005). Apresentam crescimento em pH 9,6, com 6,5% de cloreto de sódio e 40% de bile (HOLT et al., 1994).

Gomes (2007) relatou a ocorrência de diferentes espécies de *Enterococcus* spp. na mesma amostra de alimento, evidenciando a ampla distribuição deste micro-organismo.

A utilização do gênero *Enterococcus* como indicador de qualidade sanitária dos alimentos apresenta algumas restrições, pois, quando comparado ao grupo dos coliformes termotolerantes, estes micro-organismos apresentam uma menor incidência no trato intestinal; estão presentes na matéria fecal da maioria das espécies animais; não possuem especificidade pelo trato intestinal, ocorrendo em números altos fora do mesmo; são de difícil isolamento e possuem baixa relação com patógenos alimentares intestinais (Quadro 1). O gênero *Enterococcus* apresenta sobrevida maior que os coliformes termotolerantes quando exposto a condições ambientais adversas, congelamento, dessecação e cura (GIRAFFA, 2002; HARTMAN; DEIBEL; SIEVERDING, 2001; JAY, 2005).

Quadro 1 Comparação do grupo dos coliformes termotolerantes com o gênero *Enterococcus* spp. como indicadores de qualidade sanitária de alimentos.

Característica	coliformes termotolerantes	<i>Enterococcus</i> spp.
Morfologia / Reação de Gram	Bastonetes Gram Negativos	Cocos Gram positivos
Incidência no trato intestinal	10 ⁷ a 10 ⁹ /g fezes	10 ⁵ a 10 ⁸ /g fezes
Incidência em matéria fecal	Ausente em algumas espécies animais	Presente na maioria das espécies animais
Especificidade pelo trato intestinal	Geralmente específica	Geralmente menos específica
Ocorrência fora do trato intestinal	Comum em números baixos	Comum em números altos
Facilidade de isolamento e identificação	Relativamente fácil	Mais difícil
Resposta a condições ambientais adversas	Menos resistente	Mais resistente
Resposta ao congelamento	Menos resistente	Mais resistente
Relativa sobrevida aos alimentos congelados	Geralmente baixa	Alta
Relativa sobrevida em alimentos secos	Baixa	Alta
Incidência em vegetais frescos	Baixa	Geralmente baixa
Incidência em carnes frescas	Geralmente baixa	Geralmente baixa
Incidência em carnes curadas	Baixa ou ausente	Geralmente baixa
Relação com patógenos alimentares intestinais	Geralmente alta	Baixa
Relação com patógenos alimentares de origem não-enterica	Baixa	Baixa

Fonte: Jay, 2005.

Apesar das restrições como indicadores de contaminação fecal, sua presença em números elevados em alimentos indica práticas sanitárias inadequadas ou exposição do alimento a condições que permitam a multiplicação de micro-organismos indesejáveis (FRANCO; LANDGRAF, 2005).

4.6 IMPORTÂNCIA DA DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE DE ÁGUA

Os micro-organismos, para seu metabolismo e multiplicação, necessitam da presença de água na forma disponível. Se uma parte da água é extraída do alimento ou encontra-se ligada, diminui o valor de Aa. Por consequência, os micro-organismos, que entre outros fatores, determinam a durabilidade de um alimento, perdem o fator mais importante para sua subsistência que é a água (RÖDEL; KRISPIEN; HOFMANN, 1982).

A necessidade de água dos micro-organismos é descrita em termos da Aa do meio (FRANCO; LANDGRAF, 2005). Scott, Clavero e Troller (2001) relatam que a Aa do alimento representa o nível limite de água no alimento e sua disponibilidade para participar de reações químicas/bioquímicas e do crescimento de micro-organismos. Por isso, textura, atividade enzimática, oxidação lipídica e outros aspectos podem ser influenciados pela manipulação dos níveis de Aa.

O parâmetro Aa de um alimento é definido como a razão existente entre a pressão parcial de vapor da água contida no alimento (P) e a pressão de vapor de água pura (Po), a uma dada temperatura (JAY, 2005; SCOTT; CLAVERO; TROLLER, 2001).

Em geral, quando a Aa é reduzida, o crescimento microbiano é suprimido. A maior parte das bactérias deteriorantes não se multiplica em Aa inferior a 0,91, sendo assim, a redução da Aa auxilia na conservação do produto (FRANCO; LANDGRAF, 2005; JAY, 2005; TROLLER, 1980). Segundo Scott, Clavero e Troller (2001) a Aa mínima que permite o crescimento a temperaturas próximas a temperatura ótima de crescimento para *E. coli* é 0,95, para *Salmonella* spp. é 0,95 e para *S. aureus* é 0,86.

As bactérias Gram-positivas são, via de regra, mais resistentes a baixos valores de Aa, razão pela qual nas carnes curadas encontra-se regularmente tal microbiota (PARDI et al., 2001).

Os principais efeitos da diminuição da Aa a um valor abaixo do ótimo são aumento de duração da fase lag de crescimento e redução da velocidade de crescimento e do tamanho da população final (JAY, 2005).

A Aa, o pH e a umidade residual atuam como fatores importantes de limitação da viabilidade e multiplicação de micro-organismos patogênicos, tais como o *Staphylococcus aureus* (NISHIMOTO et al., 2005).

4.7 RESISTÊNCIA BACTERIANA AOS ANTIMICROBIANOS

Antimicrobianos são fármacos extensamente utilizados para o tratamento e a prevenção de doenças infecciosas em humanos e animais (NAWAZ et al., 2001). A importância do problema de resistência aos antimicrobianos coincidiu com a introdução e a ampla utilização, a partir da década de 1950, de inúmeros antimicrobianos, expandindo-se a partir de 1960, com a introdução dos beta-lactâmicos e agravando-se com o surgimento de novas formas de resistência e a disseminação de micro-organismos multirresistentes nas décadas de 1980 e 1990 (TAVARES, 2000). O desenvolvimento de resistência por certas bactérias patogênicas é mais rápido que a capacidade da indústria para produção de novos fármacos (SOUZA, 1998) e a disseminação de genes de resistência entre as bactérias pode resultar em aumento da frequência de doenças que não podem ser tratadas com os agentes antimicrobianos conhecidos (NAWAZ, 2001).

Maiden (1998) relatou que a evolução e a disseminação de micro-organismos resistentes aos antimicrobianos são resultado da pressão seletiva imposta pelo próprio homem. Neste sentido, encontra-se não só a prescrição necessária destes fármacos por profissionais da área da saúde para situações clínicas que se beneficiam de seu emprego, como também o uso desnecessário em tratamentos sem diagnóstico estabelecido, a automedicação, a aquisição dos medicamentos em farmácias sem nenhum controle e o desperdício de restos de antimicrobianos com validade vencida no meio ambiente (TAVARES, 2000).

No caso de animais de produção, como é mais eficiente tratar grupos inteiros através de medicação na alimentação ou na água, os antimicrobianos são bastante utilizados com este propósito (MCEWEN; FEDORKA-CRAY, 2002) e também como fatores de crescimento e acréscimo de peso (MCEWEN; FEDORKA-CRAY, 2002; MOTA et al., 2005; NAWAZ et al., 2001; TAVARES, 2000, WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2007).

4.8 PADRÕES DA LEGISLAÇÃO

Com o objetivo de proteger a saúde dos consumidores, foi estabelecida através da ANVISA, a RDC nº 12 (BRASIL, 2001) que contém padrões microbiológicos para grupos de alimentos, visando a sua qualidade higiênico-sanitária. O salame pertence ao grupo dos produtos cárneos maturados, possuindo os seguintes padrões:

* Coliformes a 45°C – tolerância para amostra indicativa: $10^3/g$

* *Staphylococcus* spp. coagulase positiva – tolerância para amostra indicativa: $5 \times 10^3/g$

* *Salmonella* spp – tolerância para amostra indicativa: ausência/25g de amostra

Na IN nº 22 (BRASIL, 2000) há citação de que o máximo de Aa para o salame tipo italiano é igual a 0,90.

4.9 QUALIDADE BACTERIOLÓGICA DE SALAMES NO BRASIL

Hoffmann, Garcia-Cruz e Vinturim (1997) analisaram oito amostras de salames industrializados na região de São José do Rio Preto (SP), encontrando presença de *Salmonella* spp. em 25% e de *Staphylococcus aureus* acima do permitido pela legislação em 75% das amostras analisadas.

Borges et al. (1999) analisaram 81 amostras de salames industrializados (tipo italiano, milano, friolano e hamburguês) comercializados no município do Rio de Janeiro (RJ) e detectaram a ocorrência de *Listeria monocytogenes* em seis amostras de salame tipo italiano.

Magnani et al. (2000) analisaram 50 amostras de salames coloniais comercializados em Chapecó (SC), encontrando presença de coliformes termotolerantes acima do permitido pela legislação em 72% e de *Salmonella* spp. em 6% das amostras analisadas.

Lobo et al. (2001) analisaram 60 amostras de salames coloniais comercializados em Santa Maria (RS), encontrando presença de coliformes termotolerantes acima do permitido pela legislação em 35% das amostras, de *Salmonella* spp. em 5% e de *Staphylococcus aureus* em contagens maiores que

10⁶, valor considerado como suficiente para produção de toxina, em 65% das amostras analisadas.

Ritter et al. (2003) analisaram 13 amostras de salames coloniais comercializados na região do Vale do Taquari (RS), encontrando presença de coliformes termotolerantes acima do permitido pela legislação em 54% e uma amostra com contagem de *Staphylococcus aureus* da ordem de 10⁵.

Sakate et al. (2003) analisaram 45 amostras de salames industrializados fatiados e embalados à vácuo comercializados na cidade de São Paulo (SP) e detectaram a presença de *Listeria monocytogenes* em 7% das amostras.

Magro (2004) analisou 20 amostras de salames coloniais comercializados em Concórdia (SC), encontrando presença de coliformes termotolerantes acima do permitido pela legislação em 15% e de *Salmonella* spp. em 10% das amostras analisadas.

Klein et al. (2006) analisaram 18 amostras de salames coloniais comercializados em Concórdia (SC), encontrando presença de *Staphylococcus* spp. coagulase positiva acima do permitido em 50% das amostras.

Perazzoli e Gelinski (2006) analisaram 45 amostras de salames coloniais produzidos por 15 produtores/estabelecimentos rurais e comercializados no município de Arroio Trinta (SC), encontrando presença de coliformes termotolerantes acima do permitido em 67%, *Salmonella* spp. em 7% e *Staphylococcus* spp. coagulase positiva acima do permitido em 58% das amostras analisadas.

Pereira (2006) analisou 90 amostras de salames industrializados (tipo italiano e milano) comercializados em Campinas (SP) e constatou boa qualidade dos produtos, com exceção de duas amostras, uma que se apresentou positiva para o isolamento de *Salmonella* spp. e outra na qual foi detectada presença de enterotoxina estafilocócica.

Viott, Stolberg e Pelisser (2006) analisaram 12 amostras de salames coloniais na região do Alto Uruguai Catarinense (SC), encontrando presença de coliformes termotolerantes acima do permitido pela legislação em 25% das amostras.

Dalla Santa (2008) analisou 50 amostras de salames coloniais fabricados por pequenas indústrias da região Sul do Brasil, encontrando presença de

coliformes termotolerantes acima do permitido pela legislação em 4% e *Staphylococcus* spp. coagulase positiva acima do permitido em 22% das amostras.

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS

A pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Controle Microbiológico de Produtos de Origem Animal do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal Fluminense (UFF).

5.2 MATERIAL

Foram obtidas de forma aleatória em estabelecimentos comerciais localizados no município de Niterói, estado do Rio de Janeiro, 75 amostras de salame tipo italiano em três formas de comercialização: 25 de salame vendido como Peça Inteira (PI), 25 de salame Fatiado na Indústria (FI) e 25 de salame Fatiado no Estabelecimento Varejista (FV), no momento da compra (Figuras 1 e 2). A aquisição ocorreu em 11 bairros da cidade, durante o período de fevereiro a julho de 2008 e foi realizada conforme as instruções presentes na RDC nº 12 (BRASIL, 2001) que preconizam a quantidade mínima de 200 g por unidade amostral. No caso específico do salame fatiado na indústria, que é comercializado em embalagens de 100 g, foram adquiridas duas embalagens pertencentes ao mesmo lote e, posteriormente no laboratório, o conteúdo de ambas foi retirado assepticamente e homogeneizado, de forma a representar uma única unidade amostral.



Figura 1 Amostras de salame tipo italiano peça inteira.



Figura 2 Amostra de salame tipo italiano fatiado.

Foram avaliadas nove marcas de salame, identificadas no presente trabalho pelas letras A, B, C, D, E, F, G, H e I. Todas as marcas possuíam selo do SIF, sendo que as marcas A e E, B e F e G e H apresentaram, respectivamente, a mesma numeração do SIF. As marcas A, B e F foram procedentes de mais de um SIF, portando as nove marcas foram originadas de oito SIF diferentes, identificados no trabalho com numeração de um a oito.

As amostras de salame inteiro foram provenientes das nove marcas supracitadas.

As amostras de salame fatiado na indústria foram provenientes de quatro marcas: A, B, F e H. O número reduzido de marcas ocorreu devido a dificuldade de encontrar esta forma de comercialização nos estabelecimentos comerciais do município.

As amostras de salame fatiado em estabelecimentos varejistas foram provenientes de oito marcas: A, B, C, E, F, G, H e I.

Com relação ao uso de culturas “starter”, apenas os salames das marcas A, B, C, E e F continham no rótulo do produto, a declaração de utilização.

Para as amostras de salame inteiro, o prazo de vida comercial variou de três a cinco meses, desde que seguidas as condições de transporte, armazenamento e distribuição dos produtos. O prazo foi de três meses para a marca A; quatro meses para as marcas B, C, F, G, H e I e cinco meses para as marcas D e E.

Para as amostras de salame fatiado na indústria, o prazo de vida comercial não apresentou variação, sendo três meses para todos os fabricantes. Todas as marcas continham na embalagem a recomendação de manter o produto resfriado a

até 4°C, mas foi observado que as amostras 3, 5 e 25 encontravam-se fora da refrigeração no momento da compra.

Para as amostras de salame fatiado no estabelecimento varejista, o prazo de vida comercial não pôde ser avaliado porque a maior parte dos produtos encontrava-se aberta em refrigeração no momento da compra. As embalagens dos diferentes fabricantes continham recomendações diversas para a manutenção do produto após a abertura da embalagem, tais como: manter o produto a até 4°C envolto em papel alumínio para as marcas B e F; não guardar o produto na embalagem após aberto e conservá-lo refrigerado para a marca A; 4 a 8°C por cinco dias para as marcas E e I; 4 a 8°C por sete dias para as marcas G e H e não especificado para a marca C.

5.3 MÉTODOS

Na RDC nº 12 (BRASIL, 2001) há recomendação das seguintes análises bacteriológicas para produtos cárneos maturados: coliformes termotolerantes, *Salmonella* spp. e *Staphylococcus* spp. coagulase positiva. Outras análises como coliformes totais, *Enterococcus* spp. e bactérias lácticas foram realizadas com o intuito de traçar um perfil bacteriológico do salame tipo italiano comercializado no município de Niterói. Além das análises supracitadas, foi realizada a determinação da Aa das amostras coletadas.

5.3.1 Preparo dos meios de cultura

A vidraria utilizada no experimento foi previamente esterilizada em estufa a 170°C por uma hora. As soluções, reagentes, meios de cultura e materiais descartáveis foram preparados conforme suas especificações e em quantidades suficientes para o uso durante uma semana.

A eficácia da esterilização em autoclave (Fabbe®) foi monitorada através da ampola bioindicadora Sterikon (MERCK® 10274) que contém caldo nutriente, glicose, indicador de pH e esporos de *Bacillus stearothermophilus* (*Geobacillus stearothermophilus*). A ampola foi introduzida com o material a ser esterilizado a 121°C por 15 minutos e, após a esterilização do material, foi incubada a 60°C por 48 horas juntamente com uma ampola controle não esterilizada. Como a esterilização

se deu de forma adequada, os esporos foram destruídos e o conteúdo da ampola apresentou coloração violeta avermelhada. Se a esterilização fosse inadequada, os esporos sobreviveriam e o conteúdo da ampola apresentaria coloração amarelada em consequência da formação de ácido resultante da fermentação da glicose. Ocorreria também a turvação do conteúdo da ampola devido ao crescimento bacteriano.

5.3.2 Preparo das subamostras

No interior da câmara asséptica, após sanificação da bancada com álcool 70%, cada embalagem de salame foi aberta com assepsia, na zona de segurança do bico de Bunsen, sendo fatiada (no caso das amostras peça inteira) e fragmentada com auxílio de instrumental flambado ao rubro e resfriado. Em seguida, as subamostras foram pesadas em balança digital (Marte® LC1) na quantidade requerida para cada uma das análises (Figura 3).

5.3.2.1 Preparo das subamostras para contagem de bactérias lácticas, contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva, enumeração de coliformes totais e enumeração de *Escherichia coli*

Foram pesados asepticamente 25 g em embalagem plástica estéril e em seguida adicionados 225 mL de Solução Salina Peptonada (SSP) a 0,1%. Posteriormente, foi realizada a cominuição e a homogeneização das amostras em “stomacher” (Seward® 80) em velocidade normal durante dois minutos (Figura 4). A partir da suspensão amostral (diluição 10^{-1}) foram realizadas diluições decimais seriadas em 900 μ L de SSP 0,1% de forma a obter as diluições 10^{-2} , 10^{-3} e 10^{-4} que serviram de inóculos para os diferentes meios de cultivo utilizados na pesquisa. O tempo entre o preparo da amostra e a inoculação nos meios não foi superior a 15 minutos.



Figura 3 Subamostra de salame fragmentada em embalagem estéril.



Figura 4 Subamostra de salame diluída em SSP 0,1% após cominuição e homogeneização em "stomacher".

5.3.3 Análises bacteriológicas

5.3.3.1 Contagem de bactérias lácticas

Foi utilizado o método de inóculo em profundidade (HALL; LEDENBACH; FLOWERS, 2001)

A partir das diluições 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} e 10^{-4} , foram inoculados 100 μL em placas de Petri e posteriormente foi adicionado o meio ágar *Lactobacillus* acc. To De Man Rogosa e Sharpe (MRS) (Himedia® M641) previamente fundido e mantido em banho Maria (Fanem) a 45°C. As placas foram homogeneizadas no sentido horário e anti-horário para distribuição uniforme do crescimento das colônias e, após solidificação, incubadas a 30°C por 120 horas em atmosfera microaerófila dentro de jarras de anaerobiose.

A condição de anaerobiose em jarra Gaspak® foi obtida pelo método da passivação do cobre, por ser um sistema alternativo simples e de menor custo. As placas solidificadas foram colocadas na jarra, em posição invertida. Cobrou-se a lã de aço utilizando-se solução de sulfato de cobre acidulada, em quantidade determinada para o volume da jarra utilizada. Após o cobreamento, foi esgotado o restante da solução e colocou-se na parte superior da última placa dentro da jarra, o fundo de uma placa de Petri de vidro com a lã de aço cobreada e um recipiente contendo água destilada em quantidade determinada para o volume da jarra. Imediatamente, foi aberto o Sonrisal®, utilizado como fonte geradora de dióxido de carbono, também em quantidade determinada para o volume da jarra, e colocado

no recipiente contendo água. Fechou-se a jarra enquanto a efervescência estava no máximo (JURGENSEN; JURGENSEN, 1982).

O meio ágar MRS contém polisorbato, acetato, magnésio e manganês que agem como fatores de crescimento e nutriente base para bactérias lácticas (MERCK, 1996) (Figura 5).

Após incubação, foi realizada a seleção e contagem das placas que continham entre 20 e 200 colônias. Foram contadas todas as colônias. Após a contagem, foram selecionadas duas colônias de cada placa selecionada, uma para a prova da catalase e outra para observação das características morfo-tintoriais.

* Prova da catalase

Foi transferida uma colônia da placa contada para uma lâmina contendo uma gota de peróxido de hidrogênio 3%. Foram consideradas negativas as amostras que não apresentaram formação de bolhas após o teste.

* Observação das características morfo-tintoriais

Foi transferida uma colônia da placa contada para uma lâmina para a realização de esfregaço em lâmina, corado pelo método de Gram.

Após os testes, os cultivos que apresentaram prova da catalase negativa e presença de cocos ou bastonetes Gram-positivos foram considerados bactérias lácticas (Figuras 6 e 7). O resultado final da contagem foi calculado aplicando-se a seguinte fórmula:

Resultado final = colônias contadas x diluição utilizada x fator de correção

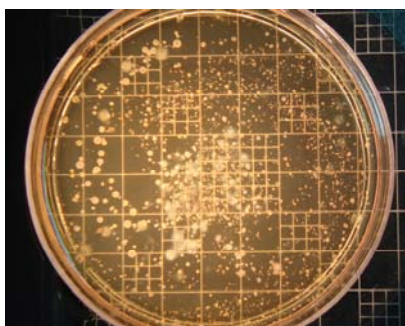


Figura 5 Crescimento bacteriano em meio ágar MRS.

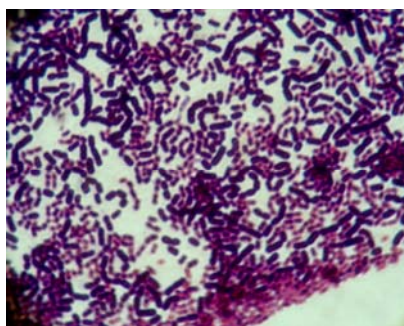


Figura 6 Esfregaço em lâmina corado pelo método de Gram evidenciando bastonetes Gram positivos.

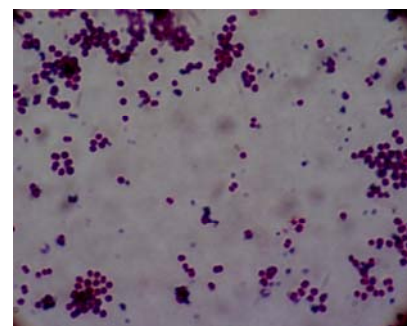


Figura 7 Esfregaço em lâmina corado pelo método de Gram evidenciando cocos Gram positivos.

5.3.3.2 Contagem de *Staphylococcus* spp. coagulase positiva

Foi utilizada metodologia preconizada pela Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003, do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2003).

A partir das diluições 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} e 10^{-4} , foram inoculados 100 μ L em placas de Petri contendo meio ágar Baird Parker (Merck® 5406) previamente acrescido de gema de ovo e telurito de potássio. O inóculo foi espalhado com auxílio do bastão de “hockey” e após absorção, as placas foram incubadas a 35-37°C por 48 horas.

No meio Baird Parker, verifica-se a habilidade das bactérias pertencentes ao gênero *Staphylococcus* de crescerem na presença de telurito de potássio em combinação com cloreto de lítio e glicina. O *Staphylococcus* spp. reduz anaeróbia e aerobiamente o telurito de potássio, produzindo colônias pretas. A suplementação do meio com gema de ovo possibilita a verificação das atividades proteolítica e lipolítica, por meio do aparecimento de um halo de transparência e um de precipitação ao redor da colônia, respectivamente.

As Unidades Formadora de Colônias (UFC) que se apresentaram pretas, brilhantes, convexas e circundadas por halo claro evidenciando a reação de lecitinase, foram consideradas típicas. Não havendo UFC típicas, foram contados os diferentes tipos de crescimento no meio ágar Baird Parker (LANCETTE; BENNETT, 2001) (Figura 8).

Após incubação, foi realizada a seleção e contagem das placas que continham entre 20 e 200 colônias. Foram contadas as colônias típicas (pretas brilhantes com anel opaco rodeadas por um halo claro) e as atípicas (pretas brilhantes sem halo ou com um dos halos). Foi procedida ainda a seleção de cinco típicas e cinco atípicas para serem repicadas com alça de platina em tubos contendo caldo “Brain Heart Infusion” (BHI) (Oxoid® CM 375) e incubadas a 35-37°C por 24 horas.

Após incubação, de cada tubo de BHI foi retirada uma alíquota para realização de esfregaço em lâmina, corado pelo método de Gram. Na lâmina foram observadas as características morfo-tintoriais ao microscópio (Olympus BX41) pela bacterioscopia de imersão. Os cultivos que à microscopia óptica apresentaram

cocos Gram-positivos, foram selecionados para as provas da catalase e coagulase (Figura 9).

* Prova da catalase

Uma alíquota do subcultivo em BHI foi transferida com alça de platina e estriada na superfície do ágar Nutriente (Merck® 5450) inclinado em tubo, que foi em seguida incubado a 35-37°C por 24 horas.

A leitura da prova foi realizada através do gotejamento de peróxido de hidrogênio 3% no tubo contendo ágar Nutriente. Foram consideradas positivas as amostras que apresentaram formação de bolhas após o gotejamento. A efervescência indica que o cultivo possui a enzima catalase, que decompõe o peróxido de hidrogênio, liberando oxigênio (Figura 10).

* Prova da coagulase

Foram transferidos 300 µL do subcultivo em BHI para micro tubo tipo “Eppendorf” contendo 300 µL de plasma de coelho (Laborclin® Coagu-plasma) previamente diluído em solução fisiológica estéril. A incubação foi realizada a 35-37°C por 18 a 24 horas. A prova baseia-se na comprovação da capacidade de coagular o plasma oxalatado de coelho pela ação da enzima coagulase. A formação de um coágulo grande e organizado ou a coagulação total foram considerados resultados positivos (Figura 11).

O resultado final da contagem foi obtido pelo número de colônias da contagem inicial, multiplicado pela diluição e pelo fator de correção, quando todas as repicadas foram confirmadas.

Quando o número de colônias confirmadas foi diferente do número de repicadas, o resultado final foi calculado utilizando-se a fórmula:

$$\text{Resultado} = \frac{\text{colônias contadas} \times \text{colônias confirmadas} \times \text{diluição utilizada} \times \text{fator de correção}}{\text{colônias repicadas}}$$

Como para confirmação foram repicadas cinco colônias típicas e cinco atípicas, o resultado final foi obtido pela soma dos resultados das colônias típicas e atípicas confirmadas.

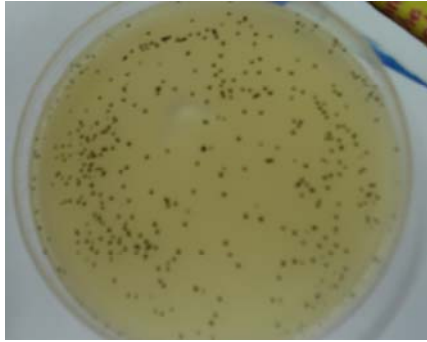


Figura 8 Crescimento bacteriano em meio ágar Baird Parker.

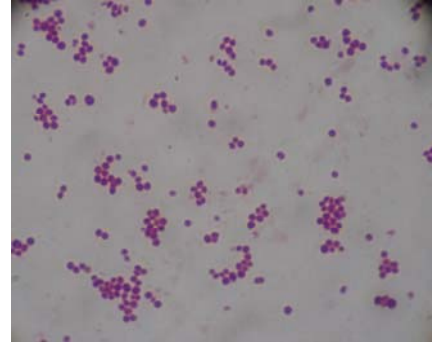


Figura 9 Esfregaço em lâmina corado pelo método de Gram evidenciando cocos Gram positivos.



Figura 10 Prova da catalase positiva.



Figura 11 À esquerda, prova da catalase positiva; à direita, prova da coagulase positiva.

5.3.3.3 Enumeração de coliformes totais e *Escherichia coli*

Foi utilizado o método de miniaturização (MERCK, 2000 modificado por FRANCO; MANTILLA, 2004), que objetiva reduzir os gastos financeiros e obter resultados mais rápidos sem interferir na fidedignidade e especificidade da metodologia original.

A partir das diluições 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} e 10^{-4} , foram transferidos 100 μL para três séries de três micro tubos tipo “Eppendorf” contendo 1000 μL do meio “Fluorocult LMX Broth modified acc. to Marrafi and Ossmer” (Merck® 10620), sendo posteriormente incubados a 35-37°C por 24-48 horas.

No meio Fluorocult, a presença do tampão fosfato garante um rápido crescimento de coliformes e o lauril sulfato inibe as bactérias Gram positivas. A

identificação simultânea de coliformes totais e *E. coli* é possível pela adição dos substratos cromógeno e fluorogênico ao meio. O substrato cromógeno é metabolizado pelos coliformes, que produzem viragem de cor do meio para verde azulado. O substrato fluorogênico atua como substância intensificadora da síntese enzimática e aumenta a atividade da β -D-galactosidase altamente específica para *E. coli*, cuja presença é comprovada pela exposição à luz ultravioleta, mediante aparecimento de fluorescência. O conteúdo de triptofano do meio melhora a reação do indol, obtida a partir da adição do reativo de Kovac's onde, na presença do indol, ocorre aparecimento de um anel vermelho na superfície do meio, indicando teste positivo (MERCK, 1996).

Após incubação, foi realizada a leitura. Os tubos que não apresentaram mudança de coloração do meio foram considerados negativos; os tubos que apresentaram mudança de coloração do meio para azul esverdeada, foram considerados positivos para coliformes totais; estes tubos foram então expostos à lâmpada ultravioleta 4W/366nm (Merck® 13203), dentre os que apresentaram fluorescência azul foi gotejado Reativo de Kovac's. Os cultivos que apresentaram fluorescência azul e formação de um anel vermelho na superfície do meio após o gotejamento, foram considerados positivos para *E. coli* (Figuras 12, 13 e 14).

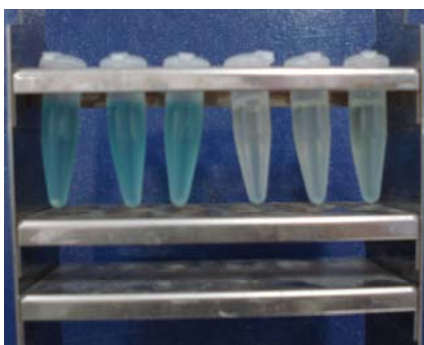


Figura 12 À esquerda, tubos apresentando viragem do meio para verde azulado; à direita, tubos sem alteração da coloração original do meio.

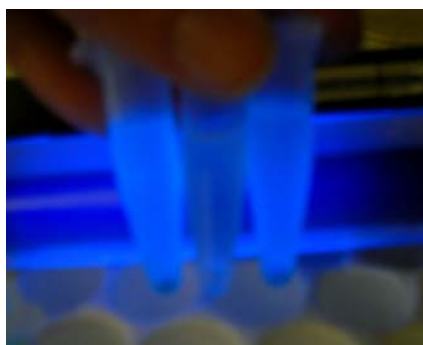


Figura 13 À esquerda e à direita, fluorescência azul sobre lâmpada ultravioleta; ao centro, sem fluorescência.

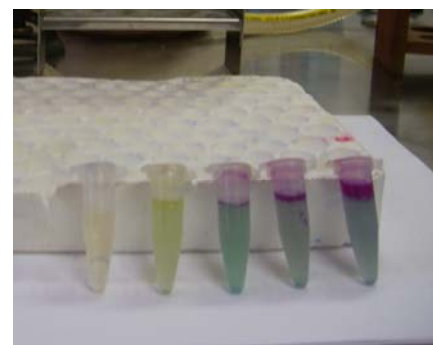


Figura 14 Esquerda para direita, tubo sem alteração da coloração original do meio; tubo com alteração da coloração original, mas com prova do indol negativa e três tubos com viragem do meio e prova do indol positiva.

Os tubos positivos em cada uma das diluições foram anotados, para posterior cálculo do Número Mais Provável (NMP) por grama de amostra, aplicando-se a seguinte fórmula:

$$\text{NMP} = \frac{\text{NMP da tabela} \times \text{fator de diluição intermediária} \times \text{fator de correção}}{100}$$

100

A tabela para obtenção do NMP utilizada foi baseada em Swanson, Petran e Hanlin (2001).

5.3.3.4 Isolamento e identificação de *Salmonella* spp.

Foi utilizado o método rápido proposto por Pignato et al. (1995).

Foram pesados assepticamente 25 g da amostra em embalagem plástica estéril e em seguida adicionados 225 mL de caldo Salmosyst base (Merck® 10153). Posteriormente, foi realizada a cominuição e a homogeneização da amostra em “stomacher” em velocidade normal por dois minutos, sendo incubada por seis horas a 35-37°C. Esta etapa consistiu no pré-enriquecimento, que objetivou minimizar os efeitos do processamento industrial dos alimentos, capazes de promover estresse nas células de *Salmonella* spp., sem inativá-las biologicamente.

Após incubação, foram retirados do caldo base 10 mL do meio crescido e transferidos para um tubo de ensaio contendo 1 mL do caldo Salmosyst suplemento (Merck® 10141), sendo incubados a 35-37°C por 18 horas, consistindo na etapa de enriquecimento não seletivo (Figuras 15 e 16). A presença de verde brilhante e sais de bile bovina na formulação deste suplemento inibem a microbiota acompanhante Gram positiva.

Após o período de incubação, foi realizado esfregaço em lâmina corado pelo método de Gram para a observação das características morfo-tintoriais. As subamostras que apresentaram presença de bastonetes Gram-negativos foram selecionadas e foram semeadas alíquotas dos cultivos correspondentes em caldo Salmosyst através da técnica de esgotamento em placas de Petri contendo os meios ágar *Salmonella* diferencial ou ágar Rambach (Himedia® M1078) e ágar “Brilliant-green Phenol-red Lactose Sucrose” (BPLS) para isolamento de *Salmonella* (Merck® 7232) para a realização da etapa de plaqueamento seletivo, que é baseada na

observação das características das colônias crescidas nos meios. As placas foram incubadas a 35-37°C por 24-48 horas.



Figura 15 Tubos contendo caldo Salmosyst suplemento antes da semeadura.



Figura 16 Tubo contendo caldo Salmosyst suplemento após a semeadura.

O ágar BPLS é um meio seletivo para isolamento de *Salmonella* spp., com exceção da *Salmonella typhosa*. Possui em sua formulação verde brilhante, lactose e sacarose. O verde brilhante inibe o crescimento da microbiota Gram positiva acompanhante. A maior parte das bactérias do gênero *Salmonella* não fermenta sacarose e lactose, não provocando alterações no meio e a fermentação da lactose por outros micro-organismos como coliformes, produzindo ácido é evidenciada pelo indicador de pH vermelho de fenol, que em faixa ácida passa a amarelo e em faixa alcalina a vermelho escuro. As colônias suspeitas de *Salmonella* spp. se apresentam róseas circundadas por uma zona avermelhada, as colônias suspeitas de Coliformes se apresentam amarelo esverdeadas (MERCK, 1996) (Figura 17).

O ágar Rambach é um substrato nutritivo que possui em sua formulação desoxicolato de sódio, propilenoglicol e cromógeno. O desoxicolato de sódio inibe o crescimento da microbiota Gram positiva acompanhante. A capacidade do gênero *Salmonella* de formar ácido a partir do propilenoglicol é evidenciada para diferenciá-lo das outras enterobacteriáceas. As colônias suspeitas de *Salmonella* spp. aparecerem no meio com coloração avermelhada em função da produção de ácido apontada pelo indicador de pH. O cromógeno permite a detecção da β -galactosidase e é utilizado para diferenciar *Salmonella* spp. de Coliformes. As colônias suspeitas de Coliformes se apresentam como azul esverdeadas ou roxo azuladas (MERCK, 1996) (Figura 18).

Após incubação, foi realizada a leitura das placas e foram consideradas como suspeitas de *Salmonella* spp as placas de ágar Rambach que apresentaram colônias vermelhas e as de ágar BPLS que apresentaram colônias róseas circundadas por uma zona avermelhada.



Figura 17 Crescimento bacteriano em meio BPLS, à esquerda colônias amarelas; à direita colônias róseas.

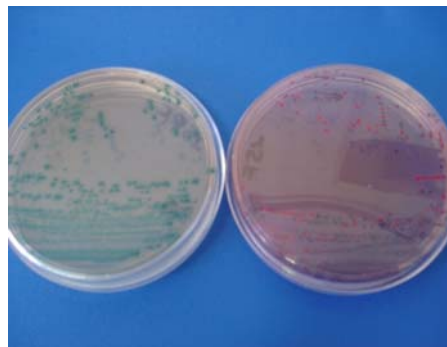


Figura 18 Crescimento bacteriano em meio Rambach, à esquerda colônias azul esverdeadas; à direita colônias avermelhadas.

Para cada amostra foram selecionadas cinco colônias suspeitas de *Salmonella* spp. de cada meio de plaqueamento e estas foram repicadas com alça de platina em tubos contendo caldo BHI e incubadas a 35-37°C por 24 horas.

Após incubação, as colônias foram submetidas às provas bioquímicas, para evidenciação das características fisiológicas e metabólicas das culturas suspeitas.

* Reação em ágar “Triple Sugar Iron” (TSI)

Foi inoculada com o auxílio de alça de platina uma alíquota do crescimento em BHI para o ágar TSI (Merck® 3915) através de picada profunda estriando na superfície. Em seguida foi incubado a 35-37°C por 24 horas.

No ágar TSI estão presentes glicose (1g/L), lactose (10g/L) e sacarose (10g/L) e como a glicose é um monossacarídeo e está em baixa concentração, é rapidamente fermentada anaerobicamente, formando ácido no fundo do tubo, o que torna o meio amarelo, pela viragem do indicador vermelho de fenol. A maior parte das bactérias do gênero *Salmonella* não fermenta sacarose e lactose, não provocando alterações no meio. Como a fonte de glicose é rapidamente esgotada, a bactéria passa a degradar aerobicamente o substrato protéico do meio, produzindo amônia (NH₃) alcalinizando o meio e modificando a coloração do bisel para

vermelho, devido ao indicador vermelho de fenol. Pode ocorrer uma coloração preta pela redução do tiosulfato de sódio do meio, formando gás sulfídrico na fase intermediária do tubo (MERCK, 1996).

Após incubação foi realizada a leitura e foram considerados positivos para *Salmonella* spp. os tubos que apresentaram-se ácidos na base (coloração amarelada), com ou sem produção de gás e alcalinos no bisel (coloração vermelha), com ou sem produção de gás sulfídrico (Figura 19).

* Descarboxilação da lisina

Foi inoculada com o auxílio de alça de platina uma alíquota do crescimento em BHI para o ágar “Lysine Iron Agar” (LIA) (Merck® 11640) através de picada profunda estriando na superfície. Em seguida, foi incubado a 35-37°C por 24 horas.

No ágar LIA, num primeiro momento, ocorre acidificação do meio pela fermentação da glicose, com viragem do indicador púrpura de bromocresol para amarelo. Posteriormente, ocorre a descarboxilação da lisina resultando na produção de uma diamina (cadaverina) e dióxido de carbono (CO₂) que conferem ao meio características de alcalinidade, e nova viragem do indicador, que passa de amarelo para violeta (MERCK, 1996).

Após incubação foi realizada a leitura e foram considerados positivos para *Salmonella* spp. os tubos que apresentaram-se alcalinos na base e no bisel (coloração violeta), com ou sem formação de gás sulfídrico (Figura 19).

* Desaminação da Fenilalanina

Foi inoculada com o auxílio de alça de platina uma alíquota do crescimento em BHI para o ágar Fenilalanina (Difco® 7450-01-9) através de estriamento na superfície. Em seguida foi incubado a 35-37°C por 24 horas.

Após incubação, foi realizada a leitura com o gotejamento de Cloreto férrico 10% e observação da alteração da coloração da cultura na superfície do bisel de amarelo para verde, indicando desaminação da fenilalanina. Foram considerados negativos para *Salmonella* spp. os cultivos que apresentaram mudança de coloração para verde, visto que a *Salmonella* spp. não desamina a fenilalanina (Figura 20).

* Produção de Urease

Foi semeada uma alíquota do crescimento em BHI para o caldo Uréia (Merck® 8483). Em seguida foi incubado a 35-37°C por 24 horas.

Após incubação, foi realizada a leitura através da observação da coloração do meio. Foram considerados negativos para *Salmonella* spp. os cultivos que apresentaram mudança de coloração de roxo para rosa, indicando alcalinização do meio devido à ação da urease sobre a uréia. Os cultivos em que a coloração do meio não se alterou, foram considerados positivos, visto que a *Salmonella* spp. não produz urease (Figura 21).



Figura 19 À esquerda meio TSI com fundo amarelo e bisel vermelho; à direita, meio LIA com coloração violeta.



Figura 20 Meio ágar Fenilalanina após gotejamento de Cloreto férrico, à esquerda, alteração da coloração da cultura de amarelo para verde; à direita manutenção da coloração da cultura.



Figura 21 Meio caldo Uréia, à esquerda e à direita, manutenção da coloração do meio; no centro, mudança de coloração do meio de roxo para rosa.

5.3.3.5 Enumeração de *Enterococcus* spp.

Foi utilizado o método de miniaturização (MERCK, 2000 modificado por FRANCO; LEITE, 2005).

A partir das diluições 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} e 10^{-4} , foram semeados 100 μ L das mesmas, em três séries de três micro tubos tipo “Eppendorf” contendo 1000 μ L do meio “Chromocult Enterococci Broth” (Merck® 10294), sendo posteriormente incubados a 45°C por 24-48 horas.

O meio Chromocult possui em sua formulação azida sódica que confere inibição das bactérias Gram negativas, além de substrato cromógeno que é metabolizado pela enzima β -D-glucosidase, resultando numa mudança de coloração do meio para verde azulado (MERCK, 1996).

Após incubação, foi realizada a leitura. Os tubos que não apresentaram mudança de coloração do meio, foram considerados negativos, os tubos que apresentaram mudança foram considerados positivos para *Enterococcus* spp (Figura 22).

Os tubos positivos em cada uma das diluições foram anotados, para posterior cálculo do NMP por grama de amostra, aplicando-se a seguinte fórmula:

$$\text{NMP} = \frac{\text{NMP da tabela} \times \text{fator de diluição intermediária} \times \text{fator de correção}}{100}$$

100



Figura 22 À esquerda, não alteração da coloração original do meio; à direita, viragem do meio para verde azulado.

5.3.3.6 Teste de Sensibilidade aos Antimicrobianos (TSA) para as estirpes de *Staphylococcus* spp. coagulase positiva e *Escherichia coli* isoladas

Foi utilizada metodologia preconizada pelo “Clinical and Laboratory Standards Institute” (CLSI, 2003).

Um subcultivo de cada amostra confirmada de *Staphylococcus* spp. coagulase positiva e três subcultivos da única amostra positiva para *Escherichia coli* foram submetidos ao TSA para determinação de sensibilidade das estirpes isoladas.

Uma alíquota de cada subcultivo, previamente repicado em BHI e incubado a 35-37°C por 24 horas, foi transferida com alça de platina e estriada na superfície do ágar Triptona de Soja (Oxoid CM 131), que foi em seguida incubado a 35-37°C por 24 horas. Após incubação, foi realizada uma emulsão com 2 a 4 mL de solução salina esterilizada e a suspensão foi ajustada para o padrão número um da escala de Mc Farland. Este padrão corresponde a $3,8 \times 10^8$ micro-organismos/mL. Com o uso de “swab” estéril, o inóculo foi espalhado homogeneamente na superfície de placa contendo ágar Mueller-Hinton (Merck® 5437) previamente vazado e incubado a 35-37°C uma hora antes da semeadura. Em seguida, com auxílio de pinça previamente flambada e esfriada, foram colocados os polidiscos (Sensifar-Cefar®) sobre a superfície do meio. As placas foram incubadas a 35-37°C por 24 horas.

A leitura foi realizada com o uso do halômetro (Cefar®) que permite a aferição do halo da zona de inibição. As estirpes foram classificadas em Sensíveis (S), Moderadamente Sensíveis (MS), Intermediárias (I) ou Resistentes (R) de acordo com o diâmetro da zona de sensibilidade padrão estabelecida para cada antimicrobiano (Figuras 23 e 24).

Os antimicrobianos testados para *Staphylococcus spp.* coagulase positiva foram: Aztreonam (ATM), Cefoxitina (CFO), Ceftriaxona (CRO), Clindamicina (CLI), Cloranfenicol (CLO), Eritromicina (ERI), Gentamicina (GEN), Oxacilina (OXA), Penicilina G (PEN), Tetraciclina (TET) e Vancomicina (VAN). Os antimicrobianos testados para *E. coli* foram: Amicacina (AMI), Ampicilina (AMP), ATM, Cefalotina (CFL), Cefotaxima (CTX), Cefoxitina (CFO), Ceftadizima (CAZ), Ceftriaxona (CRO), Cloranfenicol (CLO), Gentamicina (GEN), Sulfazotrim (SUT), Tetraciclina (TET) e Tobramicina (TOB).

5.3.3.7 Sorologia das estirpes isoladas de *Escherichia coli*

A técnica utilizada foi descrita por Ewing (1986). O subcultivo positivo para *E. coli* foi repicado em caldo BHI e incubado a 35-37°C por 24 horas.

Após incubação, uma alíquota do cultivo em BHI foi retirada com alça de platina e estriada na superfície do ágar Nutriente inclinado em tubo, que foi em seguida incubado a 35-37°C por 24 horas. Posteriormente, foi feita uma emulsão com 2 a 4 mL de solução salina esterilizada e a suspensão foi ajustada para o

padrão número um da escala de Mc Farland. Este padrão corresponde a $3,8 \times 10^8$ micro-organismos/mL. Com auxílio da alça de platina, foram retiradas alíquotas da emulsão e colocadas em placa de vidro para sorologia, em seguida, foram gotejados os soros polivalentes, homogeneizados por um minuto e observados contra a luz. Foram consideradas positivas as colônias testadas que apresentaram aglutinação (Figura 25). Todas as colônias positivas na soroaglutinação com os anti-soros polivalentes foram testadas com os anti-soros monovalentes correspondentes. O soro utilizado foi previamente testado com uma gota de solução salina esterilizada para verificar a ocorrência da aglutinação.

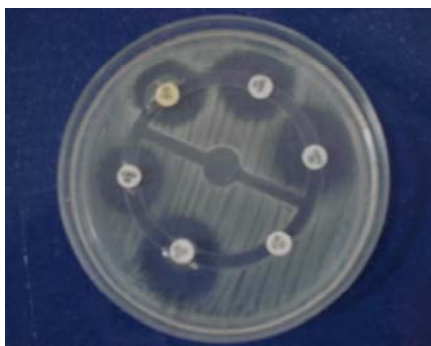


Figura 23 Placa de ágar Mueller Hinton evidenciando halos de sensibilidade e resistência aos antimicrobianos.



Figura 24 Leitura de halo da zona de inibição em Placa de ágar Mueller Hinton com halômetro.

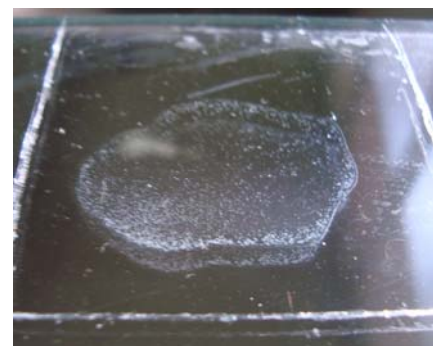


Figura 25 Aglutinação de soro polivalente para *E.coli*.

5.3.4 Determinação da atividade de água

A determinação da Aa foi realizada utilizando o aparelho PAwkit (Decagon Devices®) cedido pelo Laboratório de Controle Físico-Químico da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal Fluminense. Cada unidade amostral foi analisada em duplicata, com o aparelho previamente calibrado, seguindo o manual de operação do fabricante.

Foram colocadas fatias de cada amostra em um recipiente previamente lavado com água destilada. Em seguida o recipiente foi tampado e introduzido no local adequado no PAwkit. O equipamento foi ligado e após alguns minutos, deu-se a determinação da Aa (Figuras 26, 27 e 28). Após a colocação da amostra no equipamento, um sensor de umidade dielétrico detecta as mudanças na condução

elétrica que ocorrem com a alteração da umidade relativa do compartimento com a amostra. Por monitoração da mudança da atividade da condução elétrica, a umidade relativa do espaço é computada. Quando a Aa da amostra e a umidade relativa do ar atingem o equilíbrio, o aparelho fornece a Aa da amostra.



Figura 26 Introdução da amostra no recipiente.



Figura 27 Introdução do recipiente tampado no aparelho.



Figura 28 Determinação da Aa.

5.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para as análises estatísticas foram utilizadas ferramentas de estatística descritiva e de inferência. No caso de variáveis qualitativas, foram utilizados o Teste Exato de Fisher ou o Teste de qui-quadrado para comparação de grupos. Para as variáveis quantitativas, foi utilizado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis na comparação de duas ou mais amostras independentes e o teste não paramétrico de Mann-Whitney para comparação de duas amostras independentes. Foi realizada uma análise de correlação linear, adotando o coeficiente de correlação linear de Spearman, entre as variáveis quantitativas, com teste de significância para as mesmas. Foi adotado um nível de significância de 5% nas análises globais e um valor de 2% nas comparações múltiplas.

6 RESULTADOS

Os resultados observados na pesquisa encontram-se abaixo relacionados. As tabelas 1, 2 e 3 apresentam os resultados das análises bacteriológicas e da atividade de água realizadas sobre as amostras de salame e separadas por forma de comercialização. As demais tabelas e figuras encontram-se agrupadas por variável analisada para facilitar a interpretação dos resultados.

Tabela 1: Resultados referentes à marca, Aa, coliformes totais, *Escherichia coli*, *Enterococcus* spp., *Staphylococcus* spp. coagulase positiva, *Salmonella* spp. e bactérias lácticas para amostra inteira.

Marca	Aa	CT (NMP/g)	EC (NMP/g)	E/g (NMP/g)	SCP/g	S/25g	BL (UFC/g)
A	0,70	$2,3 \times 10^2$	0	$4,4 \times 10^2$	$3,3 \times 10^5$	0	$2,2 \times 10^7$
A	0,68	$2,4 \times 10^3$	0	0	$2,0 \times 10^4$	0	$3,2 \times 10^7$
B	0,70	$2,4 \times 10^3$	0	$7,0 \times 10^1$	$2,8 \times 10^4$	0	$2,1 \times 10^6$
C	0,76	$1,5 \times 10^4$	0	$1,1 \times 10^5$	$1,4 \times 10^6$	0	$1,4 \times 10^8$
C	0,71	$2,3 \times 10^2$	0	$1,1 \times 10^4$	$4,3 \times 10^6$	0	$4,0 \times 10^7$
D	0,67	$4,6 \times 10^3$	0	$4,0 \times 10^1$	$2,4 \times 10^5$	0	$7,2 \times 10^6$
D	0,67	$2,3 \times 10^3$	0	$9,3 \times 10^3$	$4,5 \times 10^5$	0	$1,6 \times 10^7$
E	0,67	$1,2 \times 10^3$	0	$9,0 \times 10^1$	$3,4 \times 10^4$	0	$6,9 \times 10^7$
E	0,72	$2,3 \times 10^2$	0	$4,4 \times 10^2$	0	0	$6,3 \times 10^5$
F	0,67	$4,3 \times 10^2$	0	0	$1,4 \times 10^4$	0	$1,8 \times 10^6$
F	0,69	$4,3 \times 10^2$	0	$3,0 \times 10^1$	0	0	$2,6 \times 10^6$
F	0,70	$1,1 \times 10^4$	0	$2,4 \times 10^3$	$1,4 \times 10^4$	0	$7,0 \times 10^7$
F	0,75	$9,0 \times 10^1$	0	$2,8 \times 10^2$	$5,4 \times 10^3$	0	$4,7 \times 10^4$
F	0,78	$1,1 \times 10^3$	0	$2,1 \times 10^2$	$1,1 \times 10^6$	0	$1,3 \times 10^7$
G	0,82	$2,3 \times 10^2$	0	$3,0 \times 10^1$	$2,2 \times 10^4$	0	$2,8 \times 10^7$
G	0,76	$2,3 \times 10^2$	0	$2,9 \times 10^2$	$2,8 \times 10^4$	0	$7,8 \times 10^7$
H	0,61	$9,3 \times 10^2$	0	$2,3 \times 10^2$	$8,9 \times 10^4$	0	$8,4 \times 10^6$
H	0,74	0	0	$4,3 \times 10^2$	0	0	$4,7 \times 10^4$
H	0,74	$2,3 \times 10^2$	0	$4,3 \times 10^3$	$7,2 \times 10^2$	0	$2,9 \times 10^7$
H	0,70	$4,3 \times 10^2$	0	$4,6 \times 10^3$	0	0	$9,9 \times 10^6$
H	0,71	$4,6 \times 10^3$	0	$9,0 \times 10^1$	$2,0 \times 10^5$	0	$1,5 \times 10^8$
H	0,75	$2,3 \times 10^2$	0	0	$3,7 \times 10^4$	0	$1,9 \times 10^7$
H	0,76	$9,0 \times 10^1$	0	$2,3 \times 10^2$	$2,7 \times 10^5$	0	$9,1 \times 10^7$
I	0,75	$4,0 \times 10^1$	0	$4,6 \times 10^3$	$2,0 \times 10^2$	0	$1,3 \times 10^7$
I	0,79	0	0	0	0	0	$2,4 \times 10^6$

* Aa – Atividade de água

* CT – Coliformes Totais

* EC – *Escherichia coli*

* E – *Enterococcus* spp.

* SCP – *Staphylococcus* spp. coagulase positiva

* S – *Salmonella* spp.

* BL – Bactérias Lácticas

Tabela 2: Resultados referentes à marca, Aa, coliformes totais, *Escherichia coli*, *Enterococcus* spp., *Staphylococcus* spp. coagulase positiva, *Salmonella* spp. e bactérias lácticas para amostra fatiada na indústria.

Marca	Aa	CT (NMP/g)	EC/g (NMP/g)	E/g (NMP/g)	SCP/g	S/25g	BL (UFC/g)
A	0,65	$2,3 \times 10^2$	0	$2,3 \times 10^2$	$4,6 \times 10^5$	0	$4,0 \times 10^7$
A	0,79	$2,3 \times 10^2$	0	$4,0 \times 10^1$	$1,3 \times 10^6$	0	$1,0 \times 10^7$
B	0,73	$2,3 \times 10^3$	0	$4,0 \times 10^1$	$6,4 \times 10^5$	0	$4,6 \times 10^7$
F	0,66	0	0	0	$6,3 \times 10^4$	0	$2,8 \times 10^7$
F	0,69	$2,3 \times 10^2$	0	0	$1,3 \times 10^5$	0	$4,6 \times 10^7$
F	0,71	$2,3 \times 10^2$	0	0	$6,0 \times 10^5$	0	$4,9 \times 10^7$
F	0,83	$4,6 \times 10^3$	0	$2,3 \times 10^2$	$2,3 \times 10^5$	0	$1,0 \times 10^8$
F	0,75	$2,3 \times 10^2$	0	0	0	0	$9,1 \times 10^7$
F	0,75	$2,3 \times 10^2$	0	0	$1,0 \times 10^2$	0	$2,2 \times 10^8$
F	0,79	$2,3 \times 10^2$	0	0	$4,0 \times 10^4$	0	$5,8 \times 10^6$
F	0,72	$2,3 \times 10^2$	0	0	$1,3 \times 10^4$	0	$1,3 \times 10^6$
F	0,79	$2,3 \times 10^3$	0	$1,5 \times 10^3$	$5,2 \times 10^5$	0	$1,2 \times 10^8$
F	0,65	$2,3 \times 10^2$	0	0	$1,4 \times 10^3$	0	$5,8 \times 10^6$
F	0,79	$2,3 \times 10^2$	0	$4,0 \times 10^1$	0	0	$3,2 \times 10^7$
H	0,56	$2,3 \times 10^2$	0	$7,0 \times 10^1$	$1,4 \times 10^5$	0	$6,8 \times 10^6$
H	0,72	$2,3 \times 10^2$	0	$3,0 \times 10^1$	$7,8 \times 10^3$	0	$1,2 \times 10^6$
H	0,73	$1,1 \times 10^4$	0	$9,0 \times 10^1$	$5,1 \times 10^7$	0	$2,5 \times 10^7$
H	0,79	$1,1 \times 10^4$	0	$1,5 \times 10^3$	$2,0 \times 10^6$	0	$5,0 \times 10^7$
H	0,72	$1,1 \times 10^4$	0	$1,5 \times 10^3$	$3,0 \times 10^6$	0	$2,4 \times 10^7$
H	0,89	$1,1 \times 10^5$	0	$4,3 \times 10^3$	$1,0 \times 10^7$	0	$4,3 \times 10^7$
H	0,79	$4,3 \times 10^2$	0	$1,1 \times 10^5$	$6,0 \times 10^2$	0	$3,0 \times 10^6$
H	0,70	$2,4 \times 10^3$	0	$2,4 \times 10^3$	$2,7 \times 10^5$	0	$1,0 \times 10^8$
H	0,71	$2,3 \times 10^2$	0	$2,3 \times 10^2$	$2,1 \times 10^4$	0	$5,3 \times 10^7$
H	0,76	$9,3 \times 10^2$	0	$3,0 \times 10^1$	$4,2 \times 10^6$	0	$2,8 \times 10^7$
H	0,78	$4,3 \times 10^3$	0	$2,3 \times 10^2$	$4,2 \times 10^6$	0	$9,8 \times 10^7$

* Aa – Atividade de água

* CT – Coliformes Totais

* EC – *Escherichia coli*

* E – *Enterococcus* spp.

* SCP – *Staphylococcus* spp. coagulase positiva

* S – *Salmonella* spp.

* BL – Bactérias Lácticas

Tabela 3: Resultados referentes à marca, Aa, coliformes totais, *Escherichia coli*, *Enterococcus* spp., *Staphylococcus* spp. coagulase positiva, *Salmonella* spp. e bactérias lácticas para amostra fatiada no estabelecimento varejista.

Marca	Aa	CT (NMP/g)	EC (NMP/g)	E (NMP/g)	SCP/g	S/25g	BL (UFC/g)
A	0,65	$2,3 \times 10^2$	0	$1,1 \times 10^4$	$3,5 \times 10^5$	0	$1,1 \times 10^5$
B	0,69	$9,3 \times 10^2$	0	$5,3 \times 10^2$	$1,8 \times 10^4$	0	$3,5 \times 10^7$
C	0,64	$1,1 \times 10^5$	$2,3 \times 10^2$	$3,9 \times 10^3$	$1,2 \times 10^6$	0	$1,2 \times 10^8$
E	0,68	$1,1 \times 10^4$	0	0	$2,4 \times 10^5$	0	$5,7 \times 10^7$
E	0,63	$1,1 \times 10^4$	0	$7,0 \times 10^1$	$2,4 \times 10^5$	0	$6,6 \times 10^7$
F	0,64	$1,2 \times 10^3$	0	$4,0 \times 10^1$	0	0	$9,1 \times 10^6$
F	0,73	$4,6 \times 10^3$	0	$2,4 \times 10^3$	$2,3 \times 10^3$	0	$1,6 \times 10^8$
F	0,61	$9,3 \times 10^3$	0	$2,3 \times 10^3$	$4,4 \times 10^3$	0	$2,0 \times 10^7$
F	0,68	$2,3 \times 10^2$	0	0	$2,7 \times 10^4$	0	$4,7 \times 10^7$
F	0,77	0	0	$1,1 \times 10^4$	$4,2 \times 10^4$	0	$1,2 \times 10^7$
G	0,61	$9,3 \times 10^2$	0	$4,6 \times 10^3$	$6,6 \times 10^4$	0	$7,8 \times 10^7$
G	0,76	$2,3 \times 10^2$	0	$1,1 \times 10^4$	$2,0 \times 10^4$	0	$7,8 \times 10^7$
G	0,65	$4,3 \times 10^3$	0	$2,8 \times 10^2$	$7,0 \times 10^4$	0	$7,8 \times 10^7$
G	0,68	$1,1 \times 10^4$	0	$1,1 \times 10^4$	$3,5 \times 10^4$	0	$4,2 \times 10^7$
H	0,62	$2,1 \times 10^3$	0	$1,1 \times 10^4$	$6,4 \times 10^5$	0	$1,3 \times 10^7$
H	0,67	$1,2 \times 10^3$	0	$4,0 \times 10^1$	$2,1 \times 10^4$	0	$1,0 \times 10^7$
H	0,66	$2,3 \times 10^2$	0	$4,3 \times 10^2$	0	0	$6,2 \times 10^6$
H	0,64	$1,1 \times 10^4$	0	$4,6 \times 10^3$	$2,6 \times 10^6$	0	$7,8 \times 10^7$
H	0,63	$1,1 \times 10^4$	0	$4,6 \times 10^3$	$1,8 \times 10^5$	0	$8,6 \times 10^6$
H	0,62	$1,1 \times 10^4$	0	$4,6 \times 10^3$	$1,8 \times 10^5$	0	$5,1 \times 10^5$
H	0,65	$2,3 \times 10^2$	0	$2,4 \times 10^3$	$4,3 \times 10^5$	0	$3,7 \times 10^8$
H	0,67	$4,6 \times 10^3$	0	$4,3 \times 10^2$	$4,5 \times 10^4$	0	$8,7 \times 10^6$
H	0,76	$4,3 \times 10^2$	0	$2,4 \times 10^3$	$2,3 \times 10^4$	0	$6,5 \times 10^6$
H	0,65	$2,3 \times 10^2$	0	$9,3 \times 10^3$	$7,6 \times 10^4$	0	$1,4 \times 10^8$
I	0,64	$6,1 \times 10^1$	0	$9,0 \times 10^1$	0	0	$3,6 \times 10^4$

* Aa – Atividade de água

* CT – Coliformes Totais

* EC – *Escherichia coli*

* E – *Enterococcus* spp.

* SCP – *Staphylococcus* spp. coagulase positiva

* S – *Salmonella* spp.

* BL – Bactérias Lácticas

6.1 BACTÉRIAS LÁTICAS

As marcas D, G, H e I não continham no rótulo a declaração da utilização de culturas “starter”, mas as amostras provenientes destas marcas apresentaram valores de contagens de bactérias lácticas semelhantes às demais marcas, que continham a declaração no rótulo (Tabelas 1, 2 e 3).

Na Tabela 4 encontram-se os dados referentes à análise exploratória da variável contagem de bactérias lácticas.

Tabela 4 Análise exploratória da variável bactérias lácticas para as três formas de comercialização, peça inteira, fatiada na indústria e fatiada no varejo.

Tipo	média	P ₂₅	Mediana(P ₅₀)	P ₇₅	desvio padrão	mínimo	máximo
PI	3,7x10 ⁷	6,0x10 ⁶	1,6x10 ⁷	4,9x10 ⁷	5,2x10 ⁷	4,7x10 ⁴	2,2x10 ⁸
FI	4,3x10 ⁷	4,9x10 ⁶	2,8x10 ⁷	7,0x10 ⁷	4,7x10 ⁷	5,1x10 ⁵	1,6x10 ⁸
FV	6,0x10 ⁷	1,0x10 ⁷	4,7x10 ⁷	7,8x10 ⁷	7,5x10 ⁷	3,6x10 ⁴	3,7x10 ⁸

* P₂₅ = 25% dos valores apresentam-se abaixo do valor P₂₅.

* Mediana (P₅₀) = 50% dos valores apresentam-se abaixo do valor P₅₀.

* P₇₅ = 75% dos valores apresentam-se abaixo do valor P₇₅.

Comparando-se os resultados obtidos, constatou-se heterogeneidade nos valores observados dentro de cada forma de comercialização, uma vez que o valor do desvio padrão apresentou-se maior que o valor da média, indicando variabilidade.

As amostras fatiadas na indústria foram as que apresentaram as menores variações nas contagens de bactérias lácticas (10⁵-10⁸).

Os valores da mediana diferiram pouco dos da média dentro de cada grupo observado. O maior valor da mediana foi observado nas amostras fatiadas no varejo, 50% destas apresentaram valores inferiores a 4,7x10⁷; o menor valor foi observado nas amostras inteiras, 50% destas apresentaram valores inferiores a 1,6x10⁷.

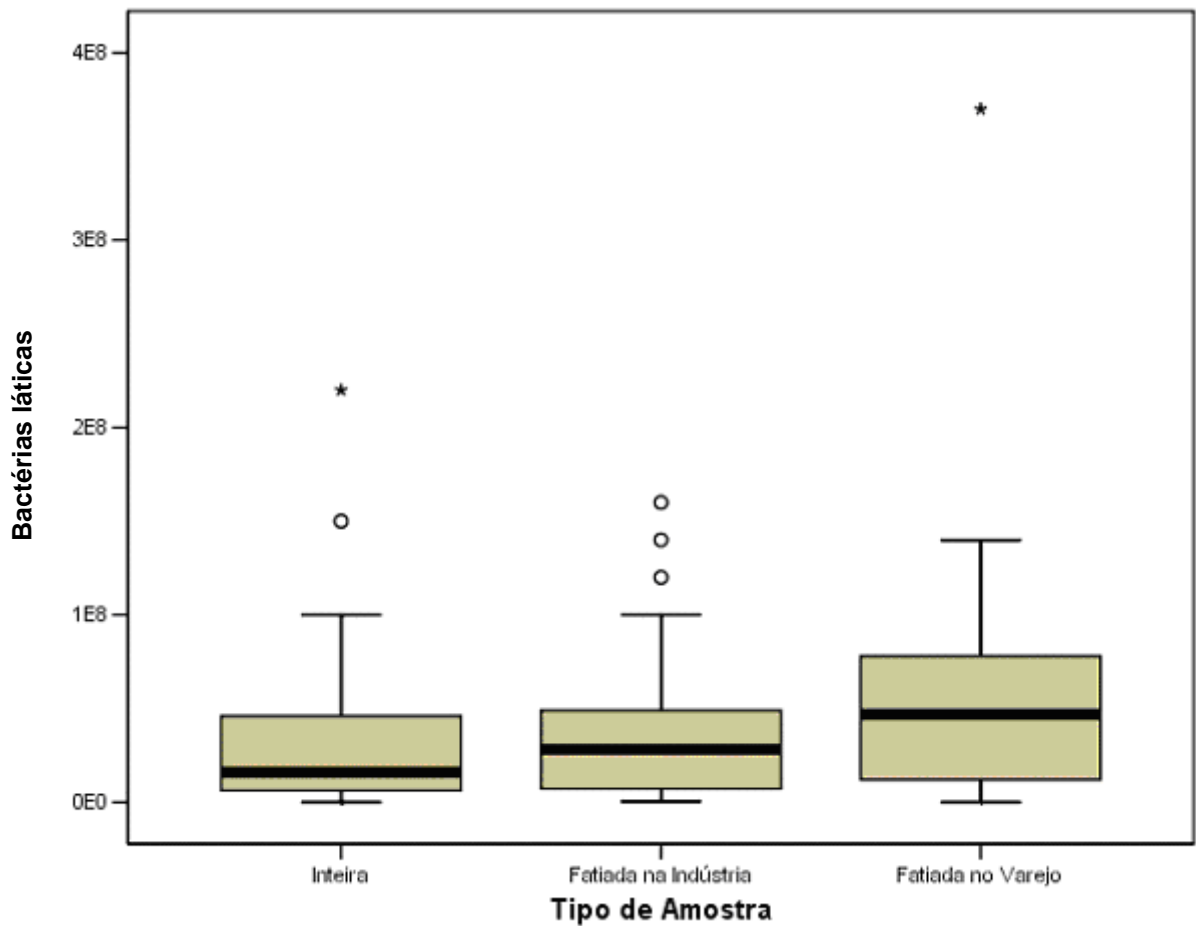
O maior valor do P₂₅ foi encontrado nas amostras fatiadas no varejo, 25% apresentaram valores inferiores a 1,0x10⁷; o menor valor foi observado nas amostras fatiadas na indústria, 25% apresentaram valores inferiores a 4,9x10⁶.

Os percentis P₇₅ apresentaram pouca diferença entre os grupos, o maior valor do P₇₅ foi encontrado nas amostras fatiadas no varejo, 75% apresentaram valores inferiores a 7,8x10⁷; o menor valor foi observado nas amostras inteiras, 75% apresentaram valores inferiores 4,9x10⁷.

Os valores da contagem de bactérias lácticas foram, em geral, menores nas amostras inteiras e os maiores valores foram observados nas amostras fatiadas no varejo (Figura 29).

Utilizando o teste de Kruskal-Wallis, não foi detectada a presença de alguma diferença estatisticamente significativa entre as três formas de comercialização quanto à contagem de bactérias lácticas (valor $p=0,336$).

Figura 29 Representação gráfica dos valores da contagem de bactérias lácticas encontrados para as três formas de comercialização.



- mediana
- P₂₅ – P₇₅
- cerca
- valores discrepantes
- * valores mais que discrepantes

6.2 *Staphylococcus* spp. COAGULASE POSITIVA

A aplicação da estatística descritiva sobre os dados da variável *Staphylococcus* spp. coagulase positiva é demonstrada nas tabelas 5, 6 e 7.

Tabela 5 Distribuição da frequência de *Staphylococcus* spp. coagulase positiva por forma de comercialização, peça inteira, fatiada na indústria e fatiada no varejo.

Tipo	Fora do padrão	Dentro do padrão	Total
PI	18 (72,0%)	7 (28,0%)	25 (100,0%)
FI	20 (80,0%)	5 (20,0%)	25 (100,0%)
FV	20 (80,0%)	5 (20,0%)	25 (100,0%)
PI+FI+FV	58 (77,3%)	17 (22,7%)	75 (100,0%)

Através dos valores apresentados na Tabela 5, foi possível perceber um maior número de amostras fora do padrão tanto no número total de amostras analisadas, quanto com relação à cada forma de comercialização. Foi observada semelhança entre os valores das estatísticas calculadas para as amostras inteiras, fatiadas na indústria e fatiadas no varejo.

Observa-se na Figura 30 que os valores da contagem de *Staphylococcus* spp. coagulase positiva apresentaram-se, em sua maior parte, fora do padrão para as três formas de comercialização, sendo que as amostras fatiadas na indústria e no varejo apresentaram maiores proporções de amostras fora do padrão que as amostras inteiras.

Utilizando o teste de qui-quadrado, não foi detectada diferença estatisticamente significativa entre as três formas de comercialização quanto à proporção de amostras fora do padrão, ao nível de significância de 5% (valor $p=0,738$).

Figura 30 Gráfico em colunas totais representando a distribuição de frequência encontrada para as três formas de comercialização para a variável *Staphylococcus* spp. coagulase positiva.

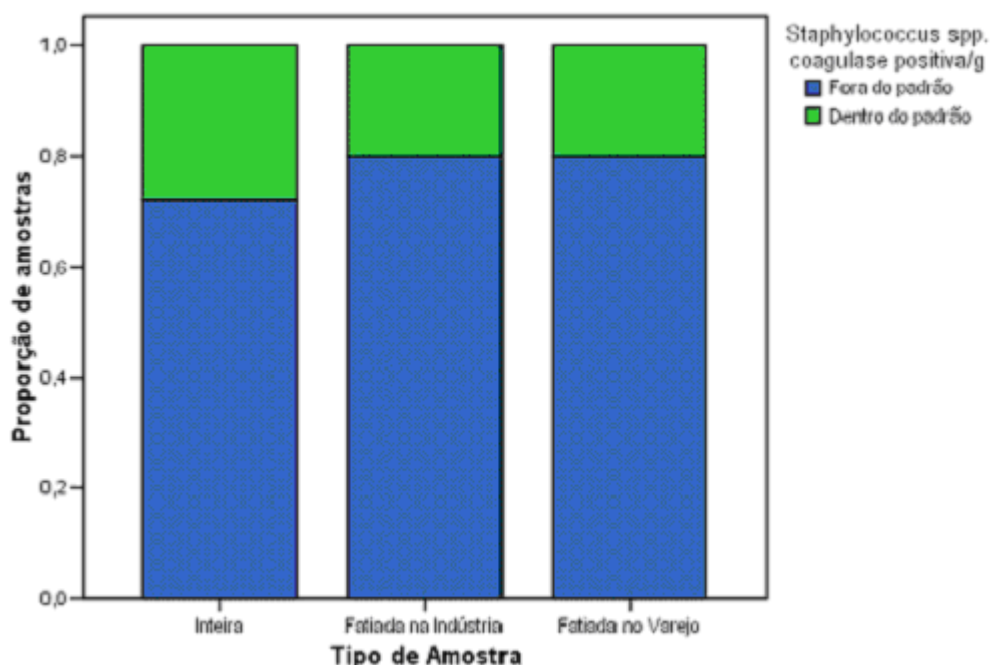


Tabela 6 Análise exploratória da variável *Staphylococcus* spp. coagulase positiva para as três formas de comercialização, peça inteira, fatiada na indústria e fatiada no varejo.

Tipo	média	P ₂₅	Mediana(P ₅₀)	P ₇₅	desvio padrão	mínimo	máximo
PI	3,4x10 ⁵	4,6x10 ²	2,8x10 ⁴	2,5x10 ⁵	8,9x10 ⁵	0	4,3x10 ⁶
FI	3,1x10 ⁶	1,0x10 ⁴	2,3x10 ⁵	1,6x10 ⁶	1,0x10 ⁷	0	5,1x10 ⁷
FV	2,6x10 ⁵	1,9x10 ⁴	4,5x10 ⁴	2,4x10 ⁵	5,5x10 ⁵	0	2,6x10 ⁶

* P₂₅ = 25% dos valores apresentam-se abaixo do valor P₂₅.

* Mediana (P₅₀) = 50% dos valores apresentam-se abaixo do valor P₅₀.

* P₇₅ = 75% dos valores apresentam-se abaixo do valor P₇₅.

Em relação à variável *Staphylococcus* spp. coagulase positiva, verificou-se que, para as três formas de comercialização do salame, o valor do desvio padrão apresentou-se maior que o valor da média, indicando heterogeneidade nos valores observados dentro de cada forma de comercialização. A maior variabilidade foi encontrada nas amostras fatiadas na indústria.

Os valores da mediana diferiram dos da média dentro de cada grupo, sinal de presença de valores discrepantes. O maior valor da mediana foi observado nas

amostras fatiadas na indústria, onde 50% apresentaram valores inferiores a $2,3 \times 10^5$; o menor valor foi observado nas amostras inteiras, 50% apresentaram valores inferiores a $2,8 \times 10^4$.

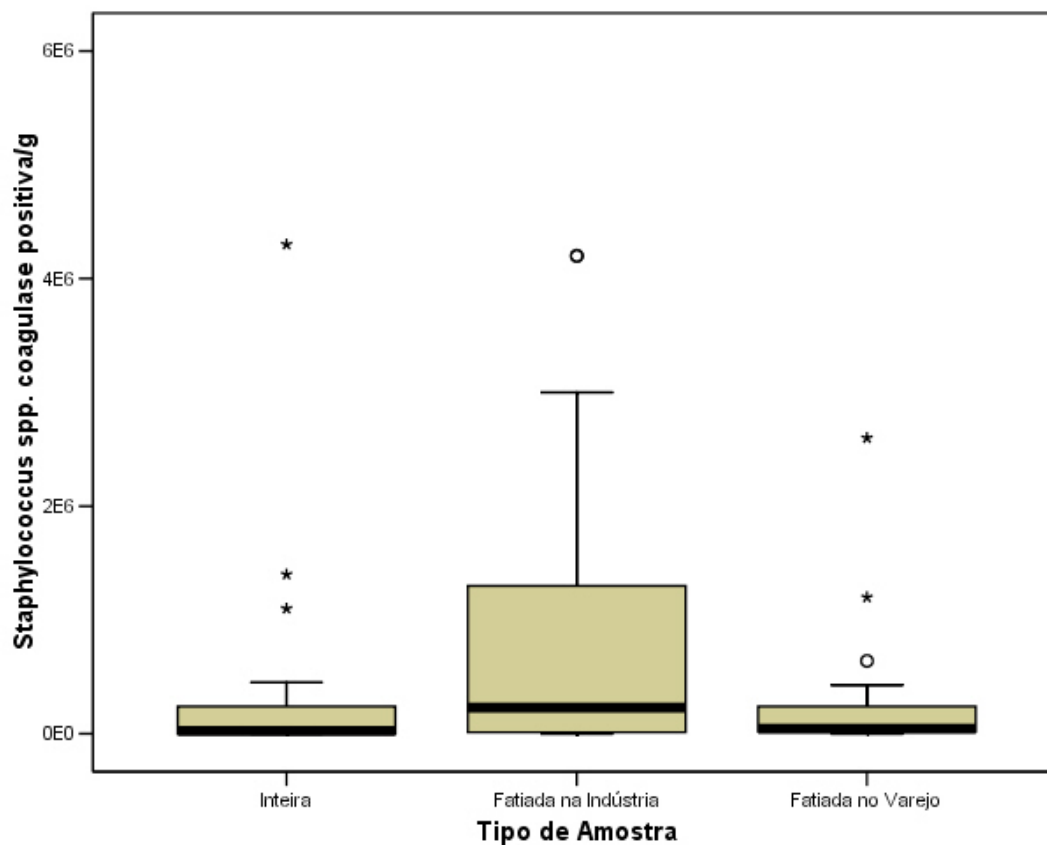
Os percentis P_{25} apresentaram diferença entre os grupos, o maior valor do P_{25} foi encontrado nas amostras fatiadas no varejo, 25% apresentaram valores inferiores a $1,9 \times 10^4$; o menor valor foi observado nas amostras inteiras, 25% apresentaram valores inferiores a $4,6 \times 10^2$.

Os percentis P_{75} apresentaram diferença entre os grupos, o maior valor do P_{75} foi encontrado nas amostras fatiadas na indústria, 75% apresentaram valores inferiores a $1,6 \times 10^6$; o menor valor foi observado nas amostras fatiadas no varejo, 75% apresentaram valores inferiores $2,4 \times 10^5$.

Os valores da contagem de *Staphylococcus* spp. coagulase positiva foram, em geral, menores nas amostras inteiras e fatiadas no varejo e os maiores valores foram observados nas amostras fatiadas na indústria (Figura 31).

Utilizando o teste de Kruskal-Wallis, não foi detectada a presença de alguma diferença estatisticamente significativa entre as três formas de comercialização quanto à contagem de *Staphylococcus* spp. coagulase positiva (valor $p=0,124$).

Figura 31 Representação gráfica dos valores da contagem de *Staphylococcus* spp. coagulase positiva encontrados para as três formas de comercialização.



- mediana
- P₂₅ – P₇₅
- cerca
- valores discrepantes
- * valores mais que discrepantes

Tabela 7 Comportamento das estirpes de *Staphylococcus* spp. coagulase positiva isoladas nas três formas de comercialização, frente aos antimicrobianos testados.

	ATM	CFO	CLI	CLO	CRO	ERI	GEN	OXA	PEN	TET	VAN
R	84,0%	8,0%	21,3%	13,3%	9,3%	17,3%	6,7%	22,7%	54,7%	8,0%	12,0%
I	0%	0%	28,0%	13,3%	0%	10,7%	1,3%	16,0%	0%	12,0%	0%
MS	1,3%	0%	0%	0%	37,3%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
S	1,3%	78,7%	37,3%	60,0%	40,0%	58,7%	78,7%	48,0%	32,0%	66,7%	74,7%
S/C	13,3%	13,3%	13,3%	13,3%	13,3%	13,3%	13,3%	13,3%	13,3%	13,3%	13,3%
T	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

- * R – resistente
- * I – resistência intermediária
- * MS – moderadamente sensível
- * S – sensível
- * S/C – sem crescimento
- * T – total

Através dos valores apresentados acima, foi possível perceber que as estirpes de *Staphylococcus* spp. coagulase positiva isoladas das 75 amostras apresentaram 84,0% de resistência ao Aztreonam e 54,7% de resistência à Penicilina G.

Com relação à sensibilidade, as estirpes apresentaram 78,7% de sensibilidade à Gentamicina; 78,7% de sensibilidade à Cefoxitina; 74,7% de sensibilidade à Vancomicina; 66,7% de sensibilidade à Tetraciclina; 60,0% de sensibilidade ao Cloranfenicol; 58,7% de sensibilidade à Eritromicina; 48,0% de sensibilidade à Oxacilina; 40,0% de sensibilidade à Ceftriaxona e 37,3% de sensibilidade e 28,0% de resistência intermediária à Clindamicina.

Foi realizado o teste de qui-quadrado para os antimicrobianos testados, para observar se havia semelhança entre as três formas de comercialização, com relação à sensibilidade antimicrobiana. O valor p para cada antimicrobiano testado encontra-se na tabela 8.

Tabela 8 Valor p para os antimicrobianos testados nas estirpes isoladas de *Staphylococcus* coagulase positiva nas três formas de comercialização.

Antimicrobiano	ATM	CFO	CLI	CLO	CRO	ERI	GEN	OXA	PEN	TET	VAN
Valor p	0,661	0,304	0,804	0,686	0,692	0,846	0,853	0,970	0,887	0,917	0,994

* indica diferença estatística

Os valores p não indicam a presença de diferença estatisticamente significativa entre as formas de comercialização quanto à sensibilidade de cada antimicrobiano testado.

6.3 COLIFORMES TOTAIS E *Escherichia coli*

Na Tabela 9 estão contidos os valores obtidos através da análise exploratória da variável enumeração de coliformes totais para as três formas de comercialização.

Tabela 9 Análise exploratória da variável coliformes totais para as três formas de comercialização, peça inteira, fatiada na indústria e fatiada no varejo.

Tipo	média	P ₂₅	Mediana(P ₅₀)	P ₇₅	desvio padrão	mínimo	máximo
PI	1,9x10 ³	2,3x10 ²	4,3x10 ²	2,3x10 ³	3,6x10 ³	0	1,5x10 ⁴
FI	6,5x10 ³	2,3x10 ²	2,3x10 ²	3,3x10 ³	2,2x10 ⁴	0	1,1x10 ⁵
FV	8,3x10 ³	2,3x10 ²	1,2x10 ³	1,1x10 ⁴	2,2x10 ⁴	0	1,1x10 ⁵

* P₂₅ = 25% dos valores apresentam-se abaixo do valor P₂₅.

* Mediana (P₅₀) = 50% dos valores apresentam-se abaixo do valor P₅₀.

* P₇₅ = 75% dos valores apresentam-se abaixo do valor P₇₅.

Na análise exploratória sobre os dados observou-se que, para as três formas de comercialização do salame, o valor do desvio padrão apresentou-se maior que o valor da média, indicando variabilidade nos valores observados dentro de cada forma de comercialização.

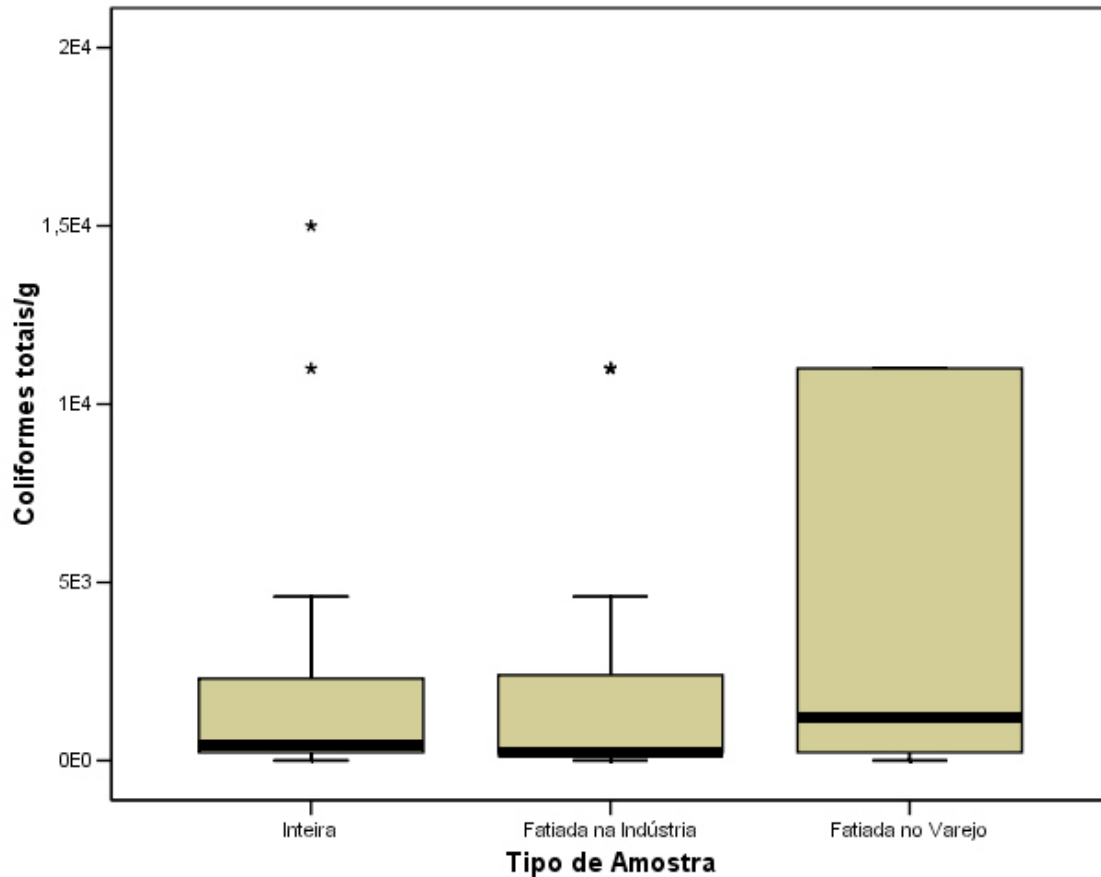
Os valores das medianas dentro de cada grupo diferiram dos das médias, sinal de presença de valores discrepantes nos resultados obtidos. O maior valor da mediana foi encontrado nas amostras fatiadas no varejo, 50% apresentaram valores inferiores a 1,2x10³; o menor valor foi observado nas amostras fatiadas na indústria, 50% apresentaram valores inferiores a 2,3x10².

Através da análise dos percentis, foi possível perceber que as amostras das três formas de comercialização apresentaram 25% dos valores inferiores a 2,3x10². As amostras fatiadas na indústria, apresentaram o mesmo valor de P₂₅ e P₅₀. A diferença entre as três formas de comercialização foi evidenciada na observação do P₇₅, cujo maior valor encontrado foi nas amostras fatiadas no varejo (1,1x10⁴) e o menor valor encontrado foi nas amostras inteiras (2,3x10³).

Os valores da enumeração de coliformes totais foram, em geral, menores nas amostras inteiras e os maiores valores foram apresentados nas amostras fatiadas no varejo. Em geral, a variabilidade foi maior no grupo de FV. Foram observados valores muito discrepantes nas amostras fatiadas na indústria e no varejo, correspondendo aos seus máximos apresentados na Tabela 9, que foram retirados da Figura 32 para facilitar a visualização.

Utilizando o teste de Kruskal-Wallis, não foi detectada a presença de alguma diferença estatisticamente significativa entre as três formas de comercialização quanto à enumeração de coliformes totais (valor p=0,155).

Figura 32 Representação gráfica dos valores da enumeração de coliformes totais encontrados para as três formas de comercialização.



- mediana
- P₂₅ – P₇₅
- ┌ cerca
- valores discrepantes
- * valores mais que discrepantes

Entre as 75 amostras analisadas, apenas uma (14FV) apresentou presença de *E. coli*, porém, o valor encontrado na enumeração foi inferior ao estabelecido na legislação para coliformes a 45°C.

A sorologia e o teste de sensibilidade frente aos antimicrobianos foram realizados com o subcultivo positivo da amostra 14FV.

A amostra 14FV foi identificada sorologicamente como EPEC Poli B O 114.

Tabela 10 Comportamento da estirpe de *Escherichia coli* isolada da amostra FV frente aos antimicrobianos testados.

AMI	AMP	ATM	CAZ	CFL	CFO	CLO	CRO	CTX	GEN	SUT	TET	TOB
S	R	R	I	R	R	I	S	S	S	S	S	S

Através da análise dos dados do comportamento da estirpe de *E. coli* isolada, foi possível perceber que houve resistência aos seguintes antimicrobianos: Ampicilina, Aztreonam, Cefalotina e Cefoxitina; resistência intermediária aos seguintes antimicrobianos: Ceftadizima e Cloranfenicol e sensibilidade aos seguintes antimicrobianos: Amicacina, Cefotaxima, Ceftriaxona, Gentamicina, Sulfazotrim, Tetraciclina e Tobramicina,

6.4 *Salmonella* spp.

Entre as 75 amostras analisadas, nenhuma apresentou presença de *Salmonella* spp.

6.5 *Enterococcus* spp.

Os valores da estatística descritiva resultantes da análise da variável enumeração de *Enterococcus* spp. estão contidos na Tabela 11.

Tabela 11 Análise exploratória da variável *Enterococcus* spp. para as três formas de comercialização, peça inteira, fatiada na indústria e fatiada no varejo.

Tipo	média	P ₂₅	Mediana(P ₅₀)	P ₇₅	desvio padrão	mínimo	máximo
PI	6,0x10 ³	3,5x10 ¹	2,3x10 ²	3,3x10 ³	2,2x10 ⁴	0	1,1x10 ⁵
FI	4,9x10 ³	0	4,0x10 ¹	8,6x10 ²	2,2x10 ⁴	0	1,1x10 ⁵
FV	3,9x10 ³	1,8x10 ²	2,4x10 ³	6,9x10 ³	4,2x10 ³	0	1,1x10 ⁴

* P₂₅ = 25% dos valores apresentam-se abaixo do valor P₂₅.

* Mediana (P₅₀) = 50% dos valores apresentam-se abaixo do valor P₅₀.

* P₇₅ = 75% dos valores apresentam-se abaixo do valor P₇₅.

Pelos resultados obtidos com relação a variável *Enterococcus* spp., foi possível perceber que para as três formas de comercialização do salame, o valor do desvio padrão apresentou-se maior que o valor da média, indicando variabilidade nos valores observados dentro de cada forma de comercialização.

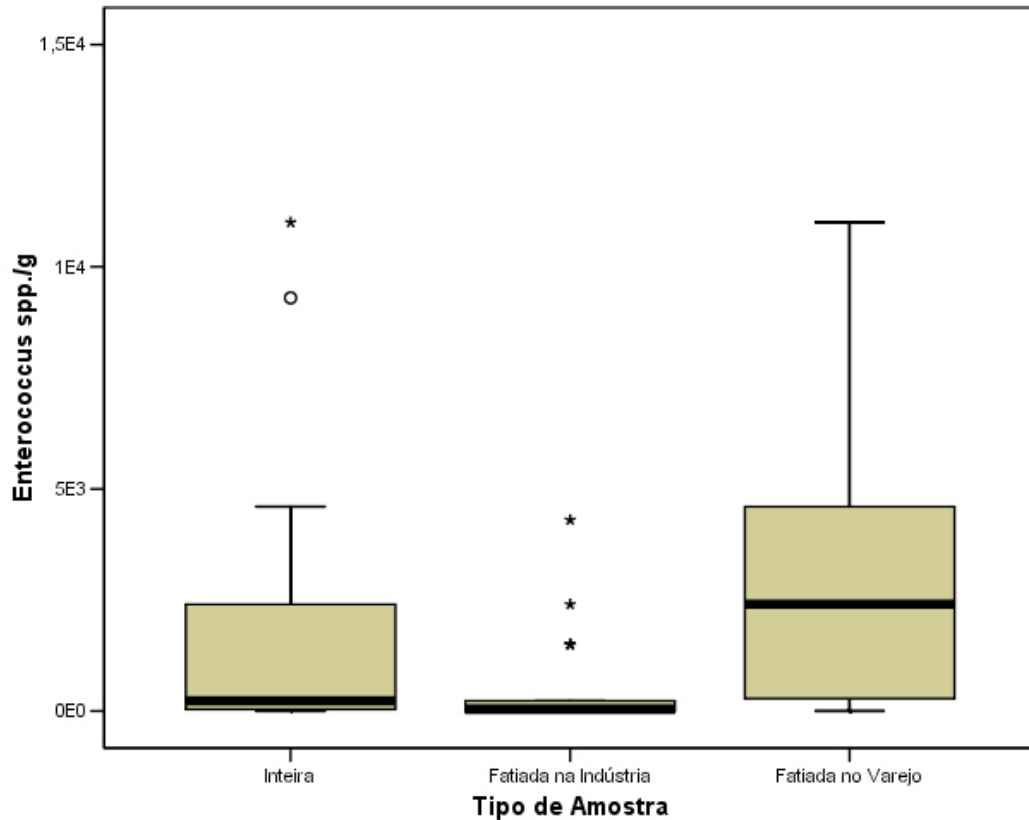
Os valores da mediana diferiram dos da média dentro de cada grupo, sinal de presença de valores discrepantes. O maior valor da mediana foi encontrado nas amostras fatiadas no varejo, 50% apresentaram valores inferiores a $2,4 \times 10^3$; o menor valor foi observado nas amostras fatiadas na indústria, 50% apresentaram valores inferiores a $4,0 \times 10^1$.

Os percentis P_{25} apresentaram diferença entre os grupos, o maior valor do P_{25} foi encontrado nas amostras fatiadas no varejo, 25% apresentaram valores inferiores a $1,8 \times 10^2$; o menor valor foi observado nas amostras fatiadas na indústria, 25% destas apresentaram valores iguais a 0.

Os percentis P_{75} apresentaram diferença entre os grupos, o maior valor do P_{75} foi encontrado nas amostras fatiadas no varejo, 75% apresentaram valores inferiores a $6,9 \times 10^3$; o menor valor foi observado nas amostras fatiadas na indústria, 75% apresentaram valores inferiores a $8,6 \times 10^2$.

Ocorreu o mesmo comportamento entre os valores maiores e menores da mediana com relação às três formas de comercialização para as variáveis enumeração de coliformes totais e enumeração de *Enterococcus* spp.

Figura 33 Representação gráfica dos valores da enumeração de *Enterococcus* spp. encontrados para as três formas de comercialização.



- mediana
- P₂₅ - P₇₅
- ┆ cerca
- valores discrepantes
- * valores mais que discrepantes

Observa-se na Figura 33 que os valores da enumeração de *Enterococcus* spp. foram, em geral, menores nas amostras fatiadas na indústria e que os maiores valores foram observados nas amostras fatiadas no varejo.

Utilizando o teste de Kruskal-Wallis, foi detectada a presença de alguma diferença estatisticamente significativa entre as três formas de comercialização quanto à enumeração de *Enterococcus* spp. (valor $p=0,002$). Na comparação múltipla entre essas formas, utilizando-se o teste de Mann-Whitney para evidenciar qual(is) era(m) a(s) diferença(s) encontrada(s), identificou-se que as amostras fatiadas na indústria e fatiadas no varejo diferiram significativamente, em relação aos

valores da enumeração de *Enterococcus* spp. As amostras inteiras não diferiram significativamente quanto a esta variável, das amostras fatiadas na indústria e no varejo. Na tabela 12 estão contidos os valores-p obtidos na comparação múltipla das três formas de comercialização.

Tabela 12 Valores p da comparação entre as três formas de comercialização, peça inteira, fatiada na indústria e fatiada no varejo para a variável *Enterococcus* spp.

Amostras comparadas	Valor p
PI x FI	0,92
PI x FV	0,052
FI x FV	0,001*

* indica diferença estatística

6.6 ATIVIDADE DE ÁGUA

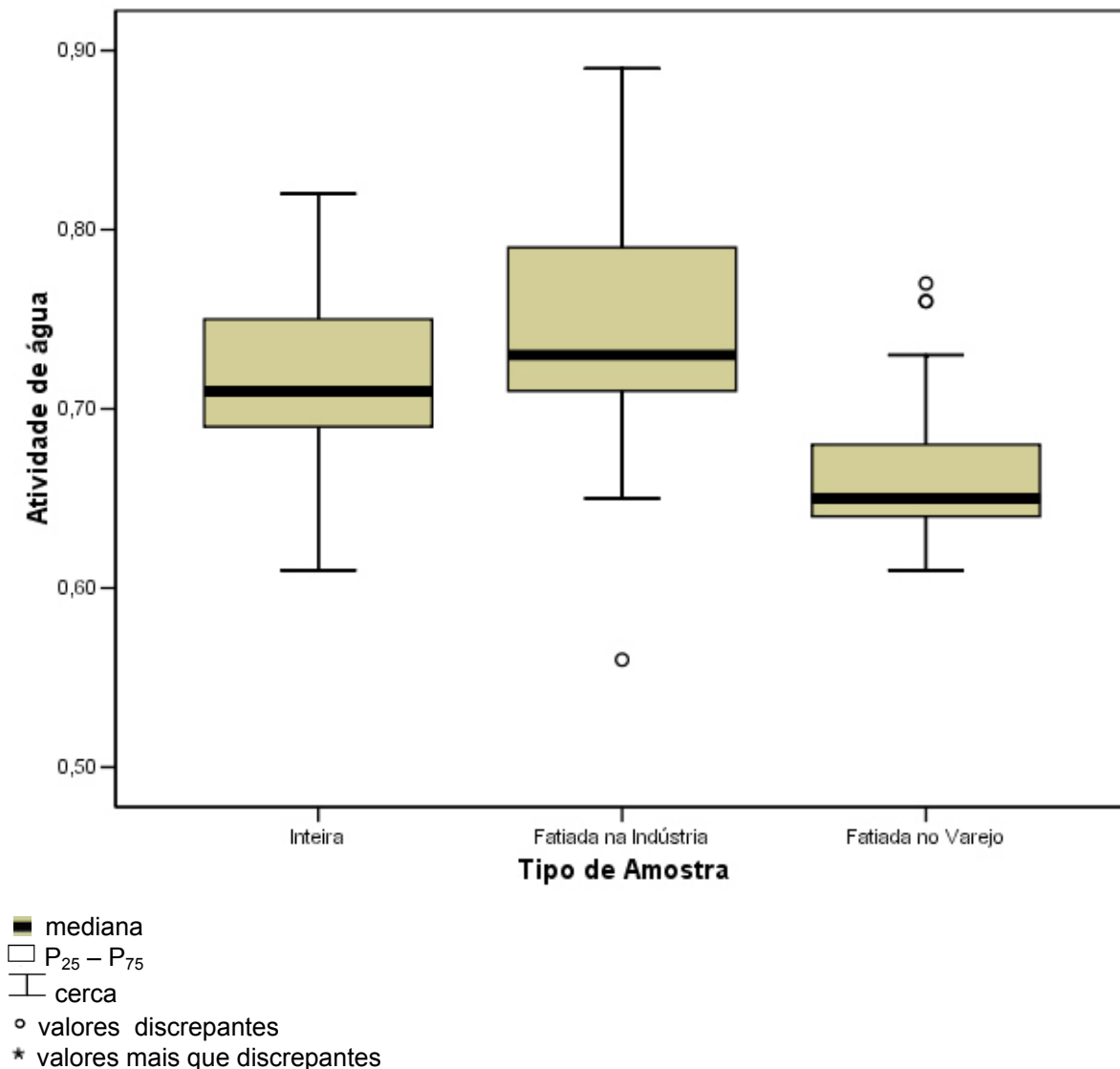
A Tabela 13 apresenta os resultados obtidos com a aplicação de ferramentas de estatística descritiva sobre os dados coletados.

Tabela 13 Análise exploratória da variável Aa para as três formas de comercialização, peça inteira, fatiada na indústria e fatiada no varejo.

Tipo	média	mediana	desvio padrão	mínimo	máximo
PI	0,72	0,71	0,047	0,61	0,82
FI	0,74	0,73	0,068	0,56	0,89
FV	0,66	0,65	0,046	0,61	0,77

Através dos valores produzidos e apresentados na Tabela 13, foi possível perceber uma certa homogeneidade nos valores observados dentro de cada forma de comercialização, uma vez que a variabilidade – medida através do desvio padrão – apresentou-se pequena frente ao valor da média de cada grupo. Foi possível notar uma certa semelhança entre os valores das estatísticas calculadas para as amostras inteiras e fatiadas na indústria.

Figura 34 Representação gráfica dos valores de Aa encontrados para as três formas de comercialização.



Observa-se na Figura 34 que os valores de atividade de água foram, em geral, menores nas amostras fatiadas no varejo e que os maiores valores de atividade de água foram observados nas amostras fatiadas na indústria.

Utilizando o teste de Kruskal-Wallis, foi detectada a presença de alguma diferença estatisticamente significativa entre as três formas de comercialização quanto à atividade de água (valor $p < 0,001$). Na comparação múltipla entre essas formas, utilizando-se o teste de Mann-Whitney para evidenciar qual(is) era(m) a(s) diferença(s) encontrada(s), identificou-se que as amostras fatiadas no varejo

diferiram significativamente, em relação aos valores de Aa, das amostras inteiras e, também, das amostras fatiadas na indústria, sendo essas duas últimas consideradas semelhantes entre si quanto a essa variável. Na tabela 14 estão contidos os valores-p obtidos na comparação múltipla das três formas de comercialização.

Tabela 14 Valores p da comparação entre as três formas de comercialização, inteira, fatiada na indústria e fatiada no varejo para a variável atividade de água.

Amostras comparadas	Valor p
PI x FI	0,189
PI x FV	<0,001*
FI x FV	<0,001*

* indica diferença estatística

6.7 AVALIAÇÃO DA ASSOCIAÇÃO ENTRE VARIÁVEIS QUANTITATIVAS

A análise de correlação para verificação da possível associação entre as variáveis analisadas foi realizada, não encontrando correlação entre quaisquer variáveis quantitativas do banco de dados (bactérias lácticas, *Staphylococcus* spp. coagulase positiva, coliformes totais, *E. coli*, *Salmonella* spp., *Enterococcus* spp. e Aa).

7 DISCUSSÃO

7.1 BACTÉRIAS LÁTICAS

Apesar de não existirem valores de referência para a contagem de bactérias lácticas na legislação nacional, sabe-se que durante o processamento industrial do salame, esta microbiota deve ser adicionada como ingrediente, portanto sua contagem no produto final deve ser elevada. No presente trabalho, ocorreu variação de 10^4 a 10^8 UFC/g nas 75 amostras analisadas, valores semelhantes aos estudados por Pereira (2006) que observou uma variação de 10^5 a 10^8 UFC/g em salames e com amplitude superior àos encontrados por Carvalho et al. (1998) que relataram contagem média variando entre 10^7 e 10^8 UFC/g em linguiças artesanais.

Apesar de Biasi et al. (2007), Lizaso, Chasco e Beriain (1999), Metaxopoulos et al. (1981), Metaxopoulos, Samelis e Papadelli (2001), Montel et al. (1996), Nassu, Gonçalves e Beserra (2002), Terra (1997) e Tompkin, Mcnamara e Acuff (2001) relatarem que a atividade metabólica das bactérias lácticas tornou-se essencial para o controle do crescimento espontâneo de micro-organismos patogênicos e/ou a deterioração bacteriana, os valores encontrados para a contagem de *Staphylococcus* spp. coagulase positiva na presente pesquisa levam à interpretação de que a atividade inibidora das bactérias lácticas não tenha sido 100% efetiva, pois do total de 75 amostras analisadas, 65 apresentaram presença de *Staphylococcus* spp. coagulase positiva.

7.2 *Staphylococcus* spp. COAGULASE POSITIVA

Considerando-se a importância fundamental na produção de alimentos seguros, consta na legislação nacional, a tolerância para amostra indicativa de 5×10^3 *Staphylococcus* spp. coagulase positiva/g (BRASIL, 2001). Das 75 amostras analisadas, 58 (77,3%) apresentaram-se fora do padrão estabelecido na legislação (BRASIL, 2001).

As elevadas contagens de *Staphylococcus* spp. coagulase positiva observadas nos três grupos evidenciaram alta contaminação das amostras analisadas, porém poucas são as citações de intoxicações causadas por este micro-organismo sendo veiculado por salames (SIRVETA, 2007).

Na presente pesquisa, não foi realizada a análise para verificação da presença de enterotoxina estafilocócica, contudo detectou-se contagens acima de 2×10^6 em uma amostra inteira, cinco amostras fatiadas na indústria e uma amostra fatiada no varejo, sendo importante salientar que estas amostras apresentam contaminação compatível com produção de enterotoxina, sendo passíveis de causar danos a saúde do consumidor, conforme relatado por Niskaen e Nurmi (1976).

O resultado da contagem de *Staphylococcus* spp. coagulase positiva encontrado na presente pesquisa, assemelha-se com os valores encontrados por Hoffmann, Garcia-Cruz e Vinturim (1997) que, ao analisarem amostras inteiras de salames industrializados, encontraram presença de *Staphylococcus aureus* acima do permitido pela legislação em 75% das amostras.

As elevadas contagens de *Staphylococcus* spp. coagulase positiva encontradas na presente pesquisa foram semelhantes as observados para salames coloniais (DALLA SANTA, 2008; KLEIN et al., 2006; LOBO et al., 2001; PERAZZOLI; GELINSKI, 2006). Entretanto, nas amostras de salames coloniais, como não há adição de culturas “starter”, a fermentação se dá através da microbiota de crescimento espontâneo da matéria prima, ocasionando um menor controle de micro-organismos patogênicos e/ou deterioração bacteriana. Por isso, esperava-se contagens maiores de *Staphylococcus* spp. coagulase positiva nas amostras de salame coloniais do que nas amostras de salames industrializados, o que não foi constatado pelo estudo.

Não foi possível relacionar a presença de *Staphylococcus* spp. coagulase positiva com a manipulação no momento do fatiamento porque os valores observados na proporção das amostras dentro e fora do padrão dos três grupos, foram semelhantes. As amostras inteiras apresentaram menor frequência de amostras fora do padrão (72,0%), mas o maior valor médio entre as três formas de comercialização. As amostras fatiadas na indústria e fatiadas no varejo apresentaram o mesmo número de amostras fora do padrão (80,0%), sendo que a fatiada no varejo apresentou o menor valor da média. Era esperada uma menor frequência de amostras fora do padrão no grupo das amostras inteiras, devido a menor manipulação do produto, mas a observação dos valores constatou alta variabilidade dentro de cada grupo e na comparação múltipla entre os grupos, não foi detectada a presença de alguma diferença estatisticamente significativa entre as três formas de comercialização.

As estirpes de *Staphylococcus* spp. coagulase positiva isoladas das amostras apresentaram maior frequência de sensibilidade do que de resistência aos antimicrobianos testados.

Os antimicrobianos mais eficazes foram a Cefoxitina (78,7% de sensibilidade), a Gentamicina (78,7% de sensibilidade), a Vancomicina (74,7% de sensibilidade) e a Tetraciclina com (66,7% de sensibilidade) e os menos eficazes foram o Aztreonam (84,0% de resistência) e a Penicilina G com (54,7% de resistência).

Tavares (2000) relatou que no Brasil, *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis* mostraram-se resistentes a Penicilina G em mais de 70% das estirpes isoladas. Na presente pesquisa, os valores encontrados para as estirpes isoladas foram menores, apresentando 54,7% de resistência à Penicilina G.

7.3 COLIFORMES TOTAIS E *Escherichia coli*

Os alimentos de origem animal podem desempenhar um importante papel na veiculação de coliformes totais, coliformes termotolerantes e *E. coli* aos humanos, sendo este fato considerado importante para a saúde coletiva.

Não consta na legislação nacional valor máximo para coliformes totais.

As amostras fatiadas no varejo apresentaram o maior valor médio e as inteiras apresentaram o menor valor médio.

Os valores médios de coliformes totais para as três formas de comercialização foram da ordem de 10^3 , sendo considerada elevada quando comparada aos valores encontrados para enumeração de *Escherichia coli*.

Para coliformes termotolerantes, a ANVISA estabelece através da RDC nº 12 (BRASIL, 2001) a tolerância para amostra indicativa de 10^3 /g. Na presente pesquisa, foi realizada a enumeração de *E. coli*, micro-organismo pertencente ao grupo dos coliformes termotolerantes, sendo encontrada presença em apenas uma amostra e o valor encontrado foi inferior ao estabelecido na legislação para coliformes termotolerantes.

Os resultados desta pesquisa possuíram valores semelhantes aos obtidos por Pereira (2006) que observou 100% das amostras de salame industrializado dentro do padrão da legislação para coliformes termotolerantes. O mesmo foi relatado por Hoffmann, Garcia-Cruz e Vinturim (1997) que observaram a presença de *E. coli* em valores inferiores aos limites da legislação em 25% das amostras de salame industrializado.

Contudo, os achados deste trabalho diferiram dos valores encontrados por Dalla Santa (2008), Lobo et al. (2001), Magnani et al. (2000), Magro (2004), Perazzoli e Gelinski (2006), Ritter et al. (2003) e Viott, Stolberg e Pelisser (2006), que ao analisarem salames coloniais, observaram presença de coliformes termotolerantes acima dos limites da legislação.

Supeitou-se que ocorreria uma menor frequência de *E. coli* nas amostras da presente pesquisa quando comparadas aos estudos com amostras de salame colonial, devido a adição de culturas “starter” nas primeiras e, conseqüentemente, ao maior controle de micro-organismos patogênicos e/ou deteriorantes, o que foi constatado.

Considerando-se isoladamente a enumeração de *Escherichia coli*, as amostras analisadas apresentaram boa qualidade em função dos baixos números encontrados.

A única amostra em que foi encontrada presença de *Escherichia coli* foi proveniente do grupo das fatiadas no varejo. O que pode ser explicado pelo fato do produto fatiado apresentar maior superfície de contato, estando mais susceptível à

contaminação pelo ar, além de ser bastante manipulado por indivíduos nem sempre preparados para a função, o que pode ocasionar sua contaminação.

A presença de *E. coli* em apenas uma amostra quando comparada aos elevados valores encontrados na contagem de *Staphylococcus* spp. coagulase positiva e na enumeração de *Enterococcus* spp., leva à interpretação de que dependendo da natureza do produto analisado, a utilização do indicador de contaminação fecal (*E. coli*) para indicação de contaminação por micro-organismos patogênicos pode nem sempre ser verdadeira.

A estirpe de *E. coli* isolada apresentou perfil de resistência múltipla a quatro dos 13 antimicrobianos testados, Ampicilina, Aztreonam Cefalotina e Cefoxitina e intermediária a dois, Cefotaxima e Cloranfenicol. Tal aspecto deve ser analisado com rigor, pois, possivelmente esta amostra é proveniente de animais que foram submetidos à tratamento por antimicrobianos sem ter sido respeitado o período de depleção.

Os antimicrobianos eficazes foram Amicacina, Cefotaxima, Ceftriaxona, Gentamicina, Sulfazotrim, Tetraciclina e Tobramicina.

7.4 *Salmonella* spp.

Salmonella spp. é um dos principais agentes causadores de doenças de origem alimentar no Brasil e em outros países, sendo os produtos cárneos frequentemente associados com surtos de salmonelose.

Consta, na legislação nacional, a tolerância para amostra indicativa de ausência de *Salmonella* spp./25g de amostra (BRASIL, 2001).

Do total de 75 amostras analisadas, em nenhuma foi observada presença de *Salmonella* spp., logo todas as amostras apresentaram-se em conformidade com o padrão presente na legislação.

Os resultados foram semelhantes aos observados por Dalla Santa (2008) com salames coloniais e por Metaxopoulos, Samelis e Papadelli (2001) com salames europeus, que encontraram ausência em 100% das amostras analisadas. Pereira (2006) analisando salames industrializados relatou presença em uma amostra.

Suspeitou-se que ocorreria uma maior frequência de amostras fora do padrão no grupo das amostras fatiadas, devido a maior manipulação do produto e ao grande número de portadores assintomáticos da doença, o que não foi constatado.

Com base nos resultados com relação a pesquisa de *Salmonella* spp., as amostras analisadas apresentaram boa qualidade.

7.5 *Enterococcus* spp.

Não consta na legislação nacional valor máximo para *Enterococcus* spp.

Apesar dos micro-organismos do gênero *Enterococcus* pertencerem ao grupo das bactérias lácticas, estes não são utilizados como cultura “starter” em produtos fermentados devido à insegurança em torno de sua utilização para produção de alimentos, conforme relatado por Eaton e Gasson (2001), Giraffa (2002) e Mullan (2001). Portanto, os micro-organismos presentes na enumeração de *Enterococcus* spp. da pesquisa, são componentes da microbiota patogênica e não da microbiota adicionada, e sua presença sinaliza práticas sanitárias inadequadas ou exposição do alimento analisado a condições que permitam a multiplicação de micro-organismos indesejáveis, conforme descrito por Franco, Landgraf (2005).

Os valores médios obtidos para os três grupos são da ordem de 10^3 , valores elevados quando comparados aos encontrados para enumeração de *Escherichia coli*, o que pode ser explicado pela maior resistência às condições adversas que o gênero *Enterococcus* apresenta em relação aos coliformes termotolerantes, conforme relatos de Jay (2005).

As amostras inteiras apresentaram o maior valor médio e as fatiadas no varejo apresentaram o menor valor médio. Os valores da mediana diferiram dos da média dentro de cada grupo, indicando a presença de valores discrepantes. A variável *Enterococcus* spp. apresentou alta variabilidade dentro de cada grupo e na comparação múltipla entre os grupos, identificou-se que apenas as amostras fatiadas na indústria e fatiadas no varejo diferiram significativamente.

7.6 ATIVIDADE DE ÁGUA

A Aa é um dos fatores mais relevantes para a multiplicação microbiana e, conseqüentemente, para a estabilidade dos alimentos. Considerando-se a importância da determinação da Aa para a segurança na produção de alimentos, consta na IN nº 22 o valor máximo aceitável para salame tipo italiano de 0,90 (BRASIL, 2000). Todas as 75 amostras apresentaram-se em conformidade com o valor estabelecido pela legislação. Os valores encontrados variaram de 0,61 a 0,82 para as amostras inteiras, 0,56 a 0,89 para fatiadas na indústria e de 0,61 a 0,77 para fatiadas no varejo.

Os valores médios de Aa encontrados por Pereira (2006) ao analisar salames industrializados peça inteira, encontraram-se na faixa entre 0,82 e 0,87, valores superiores aos observados na presente pesquisa.

A média das três formas de comercialização encontrou-se numa faixa descrita como desfavorável ao crescimento de micro-organismos patogênicos, fato semelhante foi observado Nishimoto et al. (2005) que analisaram amostras de Jerked beef e relataram crescimento de *Staphylococcus* spp. coagulase positiva em Aa de 0,71 e por Terra, Freitas e Cichoski (2007) que estudaram amostras de paleta suína curada, maturada e fermentada e detectaram crescimento de cultura de *Staphylococcus xylosus* em Aa de 0,80, ambos valores de Aa descritos como desfavoráveis ao crescimento de *S. aureus* segundo Scott, Clavero e Troller (2001). Franco e Landgraf (2005) e Jay (2005) relataram o crescimento de bactérias do gênero *Staphylococcus* em Aa de 0,83 em condições ideais.

Os baixos valores de Aa podem justificar a ausência de *Salmonella* spp. e presença em apenas uma amostra de *Escherichia coli*, que possuem valor mínimo de Aa para crescimento de 0,95, conforme relatos de Scott, Clavero e Troller (2001). Entretanto não justificam a detecção de *Staphylococcus* spp. coagulase positiva em Aa de 0,56, quando o valor mínimo de Aa para crescimento de *Staphylococcus aureus* é 0,86.

Fai et al. (2007) são enfáticos em relatar que os produtos fatiados são mais susceptíveis à contaminação pelo ar, retenção de umidade relativa e conseqüentemente, ao aumento da Aa. Essas interações não foram observadas na presente pesquisa, pois as amostras fatiadas no varejo apresentaram os menores

valores médios de Aa, além do menor valor máximo dos três grupos. Entretanto nas amostras fatiadas na indústria, foram observados os maiores valores de Aa. Porém este grupo, mesmo apresentando o valor mais alto encontrado na pesquisa (0,89), também apresentou o valor mais baixo (0,56).

Sabendo-se que os valores de Aa encontrados nas amostras pesquisadas apresentaram-se baixos, é possível que durante o processamento industrial dos salames e/ou no seu processo de estocagem, tenha ocorrido acentuada perda de umidade, que associada à presença de sais, ocasionou uma maior perda de água e consequentemente menores valores de Aa.

Atenta-se para o fato que não procedeu-se a determinação do pH das amostras devido a obras no laboratório e à consequente impossibilidade de utilização do aparelho, durante a fase do experimento. Portanto não pôde ser feita uma verificação da existência de associação entre a Aa, o pH e o crescimento de micro-organismos patogênicos nas amostras.

8 CONCLUSÕES

Em conformidade com os objetivos iniciais e os resultados obtidos e discutidos nesta pesquisa, pode-se concluir que:

* Do total de 75 amostras analisadas, 58 apresentaram-se fora do padrão estabelecido na legislação nacional, o que as torna impróprias para o consumo, representando um risco à saúde dos consumidores.

* Embora os salames analisados tenham sido provenientes de indústrias inspecionadas pelo SIF, a elevada contaminação das amostras leva à interpretação de que é necessária uma maior preocupação por parte das indústrias com fatores relacionados à qualidade sanitária da matéria prima, às condições de higiene e à tecnologia utilizada em sua fabricação.

* A atividade inibidora das bactérias lácticas não foi totalmente efetiva, pois foi detectada presença de micro-organismos patogênicos nas amostras analisadas.

* O micro-organismo de maior ocorrência nas amostras foi o *Staphylococcus* spp. coagulase positiva, presente em 65 das 75 amostras analisadas. Destas 65 amostras, 58 apresentaram contagens acima do padrão permitido na legislação nacional, sendo que em 7 foram observadas contagens compatíveis com a produção de enterotoxina.

* Os antimicrobianos mais eficazes nas estirpes de *Staphylococcus* spp. coagulase positiva foram, em ordem, a Cefoxitina, a Gentamicina, a Vancomicina e a Tetraciclina. Os menos eficazes foram o Aztreonam e a Penicilina G.

* A média dos valores da enumeração de coliformes totais para as três formas de comercialização, apresentou-se elevada, quando comparada aos valores para enumeração de *Escherichia coli*.

* Foi detectada a presença de *E.coli* em apenas uma amostra e o valor encontrado foi inferior ao estabelecido na legislação para coliformes termotolerantes.

* O perfil de resistência múltipla aos antimicrobianos apresentado pela estirpe isolada de *E. coli* da amostra fatiada no varejo representa um risco para o consumidor de produtos cárneos, cujas estirpes contaminantes apresentem perfis semelhantes.

* Todas as amostras apresentaram ausência de *Salmonella* spp.

* A média dos valores da enumeração de *Enterococcus* spp. para as três formas de comercialização, mostrou-se elevada, quando comparada aos valores para enumeração de *E.coli*.

* Os salames analisados apresentaram valores de atividade de água em conformidade com os parâmetros da legislação nacional, mas inferiores aos descritos na literatura.

* A atividade de água não atuou como fator limitante da viabilidade e multiplicação de micro-organismos patogênicos, pois houve crescimento de *Staphylococcus* spp. coagulase positiva em mais de uma amostra em valores de Aa descritos como desfavoráveis ao crescimento de micro-organismos patogênicos.

* Não foi verificada qualquer correlação linear significativa entre as variáveis bactérias lácticas, *Staphylococcus* spp. coagulase positiva, coliformes totais, *E. coli*, *Salmonella* spp., *Enterococcus* spp. e Aa.

* Não foi possível associar a maior contaminação por bactérias patogênicas com a forma de comercialização do salame para nenhuma das variáveis estudadas.

* Foi constatada diferença estatisticamente significativa entre as amostras fatiadas na indústria e no varejo para a contagem de *Enterococcus* spp.

* Foi observada diferença estatisticamente significativa entre as amostras fatiadas no varejo e as demais com relação a variável Aa.

9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDREWS, W. H.; FLOWER, R. S.; SILLIKER, J.; BAILEY, J. S. Salmonella. In: DOWNES, F. P.; ITO, K. *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*. 4. ed. Washington: "American Public Health Association" (APHA), 2001. 676p. cap. 37, p. 357-380.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA PRODUTORA E EXPORTADORA DE CARNE SUÍNA. *Estatísticas: ranking de abate 2004 a 2006*. Disponível em: <<http://www.abipecs.org.br/>>. Acesso em: 30 out. 2007a.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA PRODUTORA E EXPORTADORA DE CARNE SUÍNA. *Produção brasileira de carne suína 2002 a 2006*. Disponível em: <<http://www.abipecs.org.br/>>. Acesso em: 30 out. 2007b.

BACUS, J. Update: Meat fermentation 1984. *Food technology*. p. 59-63, jun. 1984.

BALDUINO, R.; OLIVEIRA, A. S.; HAULY, M. C. O. Cultura láctica mista com potencial de aplicação como cultura iniciadora em produtos cárneos. *Ciência e Tecnologia dos Alimentos*. v. 19, n. 3, set. 1999.

BAÚ, T. R. (In)segurança alimentar: principais fontes de contaminação da carne. *Revista Nacional da Carne*. ano XXXII, n. 369, p. 68-74, nov. 2007.

BERNARDI, S.; OETTERER, M.; CASTILLO, C. J. C. Embutidos cárneos. *Revista Nacional da Carne*. ano XXXII, n. 378, p. 30-38, ago. 2008.

BIASI, V.; BORTOLINI, F.; PIANOVSKI, P. B.; HUBER, E. Estudo do efeito da cultura starter sobre a microbiota da carne durante a fabricação de salame tipo italiano. *Revista Nacional da Carne*. n. 361, p. 114-122, mar. 2007.

BORGES, M. F.; SIQUEIRA, R. S. de; BITTENCOURT, A. M.; VANETTI, M. C. D.; GOMIDE, A. M. Occurrence of *Listeria monocytogenes* in salami. *Revista de Microbiologia*. v. 30, n. 4, out./dez. 1999.

BOURROUL, G.; PARMIGIANI, P. Forte dentro e fora do país: após mais um ano positivo para o setor cárneo, Brasil tem perspectivas otimistas para abastecer os

mercados interno e externo. *Revista Nacional da Carne*. ano XXXII, n. 370, p. 52-68, dez. 2007.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 22, de 31 de julho de 2000. *Aprova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Copa, de Jerked Beef, de Presunto tipo Parma, de Presunto Cru, de Salame, de Salaminho, de Salame tipo Alemão, de Salame tipo Calabres, de Salame tipo Friolano, de Salame tipo Napolitano, de Salame tipo Hamburgues, de Salame tipo Italiano, de Salame tipo Milano, de Lingüiça Colonial e Pepperoni*. Disponível

em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegisconsulta/consultarLegislacao.do;jsessionid=c0a8017b30d693cddb3da2fa4f9d8a8086ccc8409f69.e3uQaNuLa3eMe3qSa3eKc3yPai0?operacao=visualizar&id=2239>>. Acesso em 30 out. 2007.

_____. _____. Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. Aprova os métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*, Brasília, DF, p.14, 18 set. 2003, Seção 1, 2003.

_____. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº12 de 02 de janeiro de 2001. *Aprova o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos*. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12_01rdc.htm>. Acesso em 17 set. 2007.

BRENNER, D. J. Family I. *Facultatively anaerobic Gram-negative rods*. In: KRIEG, N. R.; HOLT, J. G.; *Bergey's Manual of systematic bacteriology*. Baltimore: Williams & Wilkins, 1984, v. 1. 964 p. Seção 5, p. 408-516.

BRESSAN, M. C.; LODI, F.; FERREIRA, M. W.; ANDRADE, P. L.; BOARI, C. A.; PICOLLI, R. H. Influência da embalagem na vida útil de presuntos fatiados. *Ciência e Agrotecnologia*. v. 31, n. 2, p. 433-438, mar./abr. 2007.

BROMBERG, R. Carnes cozidas: um meio ambiente para os microrganismos. *Revista Nacional da Carne*. n. 359, p. 74-75, jan. 2007.

CAPLICE, E.; FITZGERALD, G. F. Food fermentation: role of microorganisms in food production and preservation. *International Journal of Food Microbiology*. v. 50, p. 131-149, 1999.

CARIONI, F. O.; PORTO, A. C. S.; PADILHA, J. C. F.; SANT'ANNA, E.S. Uso de culturas iniciadoras para a elaboração de um embutido à base de carne de pato (*Cairina moschata*). *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. v. 21, n.3, p. 334-338, set./dez. 2001.

CARVALHO, C. R. de; SANTOS, W. L. M. dos; PRADO, C. S.; MOREIRA, E. C.; COSTA, J. O. Atividade inibidora de bactérias lácticas, em embutidos de carne curados. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*. v. 5, n. 1, p. 11-14, jan./abr., 1998.

CASTRO, L. C.; LUCHESE, R. H.; MARTINS, J. F. P. Efeito do uso da cepa starter de *Penicillium nalgiovenense* na qualidade de salames. *Ciência e Tecnologia dos Alimentos*. v. 20, n. 1, abr. 2000.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). *Escherichia coli* O157:H7 outbreak linked to commercially distributed dry-cured salami: Washington and California, 1994. *Morbidity and Mortality Weekly Report*. v. 44, n. 9, p. 157-160, mar. 1995.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). Preliminary FoodNet Data on the Incidence of Infection with Pathogens Transmitted Commonly Through Food-10 States, United States, 2005. *Morbidity and Mortality Weekly Report*. v. 55, n. 14, p. 392-395, abr. 2006.

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing - 8 ed. *CLSI Document M2-AB*, v. 23, n. 1, jan. 2003.

COCOLIN, L.; URSO, R.; RANTSIOU, K.; CANTONI, C.; COMI, G. Multiphasic approach to study the bacterial ecology of fermented sausages inoculated with a commercial starter culture. *Applied and Environmental Microbiology*. vol. 72, n.1. p. 942-945, jan. 2006.

COELHO, H. S.; MORANDINI, L. M. B.; SANTANA, A. M.; TERRA, N. N. Características microbiológicas do salame tipo italiano, contendo couro suíno cozido. *Higiene Alimentar*. v. 15, n. 87, p. 44-49, ago. 2001.

CURI, J. D. P. *Condições microbiológicas de lanches (cachorro-quente) adquiridos de vendedores ambulantes, localizados na parte central da cidade de Limeira - SP. Piracicaba, 2006*. 109f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

DABÉS, A. C. Compostos antimicrobianos produzidos por bactérias ácido lácticas. *Revista Nacional da Carne*, v. 282, p. 24-28, 2000.

DALLA SANTA, O. R. *Avaliação da qualidade de salames artesanais e seleção de culturas "starter" para a produção de salame tipo italiano*. Curitiba, 2008. 133f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal do Paraná.

DEIBEL, R. H.; WILSON, G. D.; NIVEN JUNIOR, C. F. Microbiology of Meat Curing. *American Meat Institute Foundation*. n. 207, p. 239-243, 1960.

DIVISÃO DE DOENÇAS DE TRANSMISSÃO HÍDRICA E ALIMENTAR DO CENTRO DE VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA DA SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE - SP. Toxinfecção alimentar por Salmonella em um evento científico, São Paulo, 2004. *Revista de Saúde Pública*. v. 39, n.3, p. 515-518, jun. 2005.

EATON, T. J.; GASSON, M. J. Molecular Screening of Enterococcus Virulence Determinants and Potential for Genetic Exchange between Food and Medical

Isolates. *Applied and Environmental Microbiology*. v. 67, n. 4, p. 1628-1635, abr. 2001.

EWING, W.A. *Identification of Enterobacteriaceae*. 2. ed.: Minneapolis: Burgess Publishing, 1986. 187p.

FAI, A. E. C.; FIGUEIREDO, E. A. T. de; VERDIN, S. E. F.; PINHEIRO, N. M. de S.; BRAGA, A. R. C.; STAMFORD, T. L. M. *Salmonella spp. e Listeria monocytogenes em presunto suíno comercializado em supermercados de Fortaleza/CE: fator de risco para a saúde pública*. Revista Ciência & Saúde Coletiva. 2007. Disponível em: http://www.abrasco.org.br/cienciaesaudecoletiva/artigos/artigo_int.php?id_artigo=2432. Acesso em : 12 dez. 2008.

FARIA, I. G.; FERREIRA, J. M.; GARCIA, S. K. Mercado consumidor de carne suína e derivados em Belo Horizonte. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. v. 58, n. 2, p. 251-256, 2006.

FENG, P.; WEAGANT, S.D.; GRANT, M.A. Enumeration of *Escherichia coli* and the Coliform Bacteria. *Bacteriological Analytical Manual Online*. 8. ed. set. 2002. Disponível em: <http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-4.html>. Acesso em: 30 out. 2007.

FERNÁNDEZ, M.; ORDÓÑEZ, J. A.; BRUNA, J. M.; HERRANZ, B.; HOZ, L. Accelerated ripening of dry fermented sausages. *Trends in Food Science & Technology*. v.11, p. 201-209, 2000.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. *Microbiologia dos alimentos*. São Paulo: Atheneu, 2005. 182p.

GARCIA, F. T.; GACLEAZZI, U. A.; SOBRAL, P. J. A. Variação das Propriedades Físicas e Químicas do Salame Tipo Italiano Durante Secagem e Fermentação. *Brazilian Journal of Food Technology*. v.3, p. 151-158, 2000.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. *Higiene e Vigilância Sanitária de alimentos*. São Paulo: Livraria Varela, 2001. 629p.

GIRAFFA, G. Enterococci from foods. *FEMS Microbiology Reviews*. v. 26, n. 2, p. 163-171, 2002.

GOMES, B. C. *Enterococcus em amostras de alimento e água: avaliação da virulência e do desempenho como indicadores de higiene*. São Paulo, 2007. 151f. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos). Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

GRIS, E. F.; BORTOLUZZI, R.; SANTO, M. L. P. E.; DAMIAN, C. Produtos fermentados. *Revista Nacional da Carne*. n. 308, p. 94-98, 2002.

HALL, P. A.; LEDENBACH, L.; FLOWERS, R. S. Acid-Producing Microorganisms. In:

DOWNES, F. P.; ITO, K. *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*. 4. ed. Washington: APHA, 2001. 676p. cap. 19, p. 201-215.

HARTMAN, P. A.; DEIBEL, R. H.; SIEVERDING, L. M. Enterococci. In: DOWNES, F. P.; ITO, K. *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*. 4. ed. Washington: APHA, 2001. 676p. cap. 9, p. 83-86.

HOBBS, B. C.; ROBERTS, D. *Toxinfecções e controle higiênico-sanitário de alimentos*. São Paulo: Livraria Varela, 1998. 376 p.

HOFFMANN, F. L.; GARCIA-CRUZ, C. H.; VINTURIM, T. M. Estudo higiênico-sanitário preliminar de amostras de salame. *Higiene Alimentar*. v. 11, n. 47, jan./fev., 1997.

HOLLEY, R. A.; LAMMERDING, A.M.; TITTIGER, F. Microbiological safety of traditional and starter-mediated processes for the manufacture of Italian dry sausage. *International Journal of Food Microbiology*. n. 7, p. 49-62, 1988.

HOLT, J. G.; KRIEG, N. R.; SNEATH, P. H. A.; STALEY, J. T.; WILLIAMS, S. T. Genus *Enterococcus*. In: _____. *Bergey's manual of Determinative Bacteriology*. 9. ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1994. 787p. Grupo 17, p. 527-558.

HOLZAPFEL, W. H.; GEISEN, R.; SCHILLINGER, U. Biological preservation of foods with reference to protective cultures, bacteriocins and food-grade enzymes. *International Journal of Food Microbiology*. v. 24, p. 343-362, 1995.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). *Pesquisa Industrial Anual – Produto*. Disponível em: http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/industria/pia/produtos/produto_2000/tabela_produtos_2000.shtm. Acesso em: 13 out. 2007.

JARDIM, F.; TOSO, A. O exótico e o tradicional. *Revista Nacional da Carne*. ano XXXII, n. 374, p. 84-87, abr. 2008.

JAY, M. J. *Microbiologia de alimentos*. 6.ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 711p.

JURGENSEN, C. A.; JURGENSEN, L. D. Passivação do cobre, alternativa para obtenção da condição de anaerobiose. *Revista Brasileira de Patologia Clínica*. v. 18, n. 3, 1982.

KLEIN, C. S.; ZOTTI, T. R.; GAVA, A.; PELISSER, M. R. Qualidade microbiológica de salames tipo colonial comercializados na cidade de Concórdia-SC: análise de *Staphylococcus aureus* e *Toxoplasma gondii*. *Embrapa suínos e aves Comunicado Técnico*. n. 446, dez. 2006.

KLOOS, W. E.; SCHLEIFER, K. H. Genus IV. *Staphylococcus*. In: SNEATH, P. H. A.; MAIR, N. S.; SHARPE, M. E.; HOLT, J. G. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Baltimore: Williams & Wilkins, 1986, v. 2, p.1013-1035.

KORNACKI, J. L.; JOHNSON, J. L. *Enterobacteriaceae*, Coliforms, and *Escherichia coli* as Quality and Safety Indicators. In: DOWNES, F. P.; ITO, K. *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*. 4. ed. Washington: APHA, 2001. 676p. cap. 8, p. 69-71.

LANCETTE, G. A.; BENNETT, R. W. *Staphylococcus aureus* and Staphylococcal Enterotoxins. In: DOWNES, F. P.; ITO, K. *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*. 4. ed. Washington: APHA, 2001. 676 p. cap. 39, p. 387-403.

LEISTNER, L. New concepts for product safety. *Fleischwirtschaft International*. vol. 2, p. 81-83, 2001.

LIZASO, G.; CHASCO, J.; BERIAIN, M. J. Microbiological and biochemical changes during ripening of salchichón, a Spanish dry cured sausage. *Food Microbiology*. v. 16, p. 219-228, 1999.

LOBO, M. de V.; UGALDE, M. G.; FRIES, L. L. M.; KUBOTA, E. H. Avaliação microbiológica de salames coloniais comercializados no município de Santa Maria – RS. *Higiene Alimentar*. v. 15, n. 88, set. 2001.

MAGNANI, A. L.; GIOMBELLI, A.; SCHUCK, M. S.; BUSATO, M. A.; SILVA, N. L. da. Incidência de *Salmonella* e *Escherichia coli* em carne suína in natura e salame colonial, consumidos pela população de Chapecó – SC. *Higiene Alimentar*. v. 14, n. 73, jun. 2000.

MAGRO, G. R. *Avaliação microbiológica de salames coloniais comercializados no município de Concórdia/SC*. Concórdia, 2004. 45f. Trabalho de Conclusão de Curso (Ciências Biológicas). Universidade do Contestado, Concórdia, 2004.

MAIDEN, M. C. J. Horizontal Genetic Exchange, Evolution, and Spread of Antibiotic Resistance. *Clinical Infectious Diseases*. v. 27, n. 1, p. 12-20, 1998.

MARCHESI, C. M.; CICHOSKI, A. J.; ZANOELO, E. F.; DARIVA, C. Influência das condições de armazenamento sobre os pigmentos cárneos e a cor do salame italiano fatiado. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. v. 26, n.3, p. 697-704, jul./set. 2006.

MARCHESINI, B.; BRUTTIN, A.; ROMAILLER, N.; MORETON, R. S.; STUCCHI, C.; SOZZI, T. Microbiological events during commercial meat fermentations. *Journal of Applied Bacteriology*. n. 73, p. 203-209, 1992.

MARTINS, L. L. *Avaliação do perfil bacteriológico de salsichas tipo “hot dog” tradicional e de frango comercializadas nos municípios do Rio de Janeiro e Niterói – RJ com determinação de atividade de água e pH*. Niterói, 2006. 196f. Dissertação (Mestrado em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal). Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2006.

MATSUBARA, E. N. *Condição higiênico-sanitária de meias carcaças de suínos após o abate e depois do resfriamento e análise de Lista de Verificação para*

avaliar boas práticas no abate de suínos. São Paulo, 2005. 152f. Dissertação (Mestrado em Epidemiologia experimental aplicada às zoonoses). Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

MCEWEN, S. A.; FEDORKA-CRAY, P. J. Antimicrobial Use and Resistance in Animals. *Clinical Infectious Diseases*. v. 34, n.3, p. 93-106, 2002.

MERCK, 2000, modificado por FRANCO, R. M.; LEITE, A. M. O. *Enumeração e identificação de Enterococcus spp e cepas de Escherichia coli patogênicas em coxa de frango e estudo da atividade antimicrobiana das cepas isoladas*. In: XV SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E PRÊMIO UFF VASCONCELLOS TORRES DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA, 2005, Niterói. *Anais...* Niterói, 2005. CD-ROM.

MERCK, 2000, modificado por FRANCO, R. M.; MANTILLA, S. P. S. *Escherichia coli em corte em corte de carne (acém): avaliação de metodologia e sensibilidade de antimicrobianos aos sorovares predominantes*. In: XIV SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E PRÊMIO UFF VASCONCELLOS TORRES DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA, 2004, Niterói. *Anais...* Niterói, 2004. CD-ROM.

MERCK. *Microbiology Manual*. Darmstadt, Germany, 1996. 405p.

METAXOPOULOS, J.; GENIGEORGIS, C.; FANELLI, M. J.; FRANTI, C.; COSMA, E. Production of Italian Dry Salami: Effect of Starter Culture and Chemical Acidulation on Staphylococcal Growth in Salami Under Commercial Manufacturing Conditions. *Applied and Environmental Microbiology*. v. 42, n. 5, p. 863-871, nov. 1981.

METAXOPOULOS, J.; SAMELIS, J.; PAPADELLI, M. Technological and microbiological evaluation of traditional processes as modified for the industrial manufacturing of dry fermented sausage in Greece. *Italian Journal of Food Science*. n.1, v. 13, p. 3-18, 2001.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. *Morbidade hospitalar*. Datasus. Informações de saúde. Epidemiológicas e morbidade. Disponível em: <<http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/defthtm.exe?sih/cnv/nrrj.def>>. Acesso em 19 out. 2008.

MIRALLES, M. C.; FLORES, J.; PEREZ-MARTINEZ, G. Biochemical tests for the selection of *Staphylococcus* strains as potential meat stater cultures. *Food Microbiology*. n. 13, p.227-236, 1996.

MONTEL, M. C.; REITZ, J.; TALON, R.; BERDAGUÉ, J. L.; ROUSSET-AKRIM, S. Biochemical activities of Micrococcaceae and their effects on the aromatic profiles and odours of a dry sausage model. *Food Microbiology*. v. 13, p. 489-499, 1996.

MOTA, R. A.; SILVA, K. P. C. da; FREITAS, M. F. L. de; PORTO, W. J. N.; SILVA, L. B. G. da. Utilização indiscriminada de antimicrobianos e sua

contribuição a multirresistência bacteriana. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*. v. 42, n.6, p. 465-470, 2005.

MULLAN, W. M. A. *Microbiology of starter cultures*. UK: 2001. Disponível em: <<http://www.dairyscience.info/cheese-starters.htm>>. Acesso em: 10 jan. 2009.

MUNIZ, C. R.; RABELO, J. L.; FREITAS, C. A. S.; SERIO, J.; DODOU, H. D. Observação microscópica de biofilmes em amostras de presuntos fatiados refrigerados comercializados em supermercados de Fortaleza, Ceará. *Higiene Alimentar*. v. 21, n. 150, p. 97-98, 2007.

NASSU, R. T.; GONÇALVES, L. A. G.; BESERRA, F. J. Utilização de diferentes culturas starter no processamento de embutido fermentado de carne de caprinos. *Ciência Rural*. v. 32, n. 6, p. 1051-1055, dez. 2002.

NAWAZ, M. S.; ERICKSON, B. D.; KHAN, A. A.; KHAN, S. A.; POTHULURI, J. V.; RAFII, F.; SUTHERLAND, J. B.; WAGNER, R. D.; CERNIGLIA, C. E. Human Health Impact and Regulatory Issues Involving Antimicrobial Resistance in the Food Animal Production Environment. "*Food and Drug Administration*" (FDA): *Regulatory Research Perspectives*. v. 1, n. 1, jul. 2001. Disponível em: <<http://www.fda.gov/nctr/science/journals/text/vol1iss1/rrp0701.htm>>. Acesso em: 20 nov. 2008.

NISHIMOTO, E. J.; DENARDI, C. A. S.; TELLES, E. O.; BALIAN, S. de C. Atividade de água, umidade residual e contagem de *Staphylococcus coagulase* positiva em amostras de Jerked Beef, carne bovina salgada, curada e dessecada, comercializadas na cidade de São Paulo. *Higiene Alimentar*. v. 19, n. 137, p.101-103, nov./dez., 2005.

NISKAEN, A.; NURMI, E. Effect of Starter Culture on Staphylococcal Enterotoxin and Thermonuclease Production in Dry Sausage. *Applied and Environmental Microbiology*. v. 31, n.1, p. 11-20, jan. 1976.

NOVELLO, D.; FREITAS, R. J. S.; QUINTILIANO, D. A. Teor de gordura e coloesterol na carne suína e de frango. *Nutrire: revista da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição*. v. 31, n. 2, p. 103-121, ago. 2006.

OLIVEIRA, K. A. M.; MENDONÇA, R. C. S. Efeito da fermentação sobre a microbiota de embutidos cárneos. *Higiene Alimentar*, vol. 18, n. 123, ago. 2004.

OLIVEIRA, M. S. *Utilização de carne mecanicamente separada (CMS) na produção de salame cozido*. Santa Maria, 1999. 108f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos). Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 1999.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. *Información estadística sobre Enfermedades Transmitidas por los Alimentos en Europa: Peligros Microbiológicos Y Químicos*. Disponível em: <<http://www.fao.org/DOCREP/MEETING/004/x6865s.htm>>. Acesso em: 25 out. 2007.

PARDI, M. C.; SANTOS, I. F. dos; SOUZA, E. R. de; PARDI, H. S. *Ciência, higiene e tecnologia da carne*. 2. ed. Goiânia: Ed. da UFG, 2001. 2 v. v. 1. 623 p.

PELCZAR, M. J.; REID, R.; CHAN, E. C. S. *Microbiologia*. São Paulo: McGraw-Hill do Brasil, 1980. 2 v. v.1 573p.

PERAZZOLI, G. P.; GELINSKI, J. M. L. N. Avaliação higiênico-sanitária de salame artesanal elaborado por agricultores em município do Meio-Oeste catarinense. *Evidência*. v. 6, n. 2, p. 195-202, jul./set. 2006.

PEREIRA, K. S. *Identificação e verificação do potencial enterotoxigênico de Staphylococcus spp. coagulase negativa isolados a partir de salames brasileiros industrializados e avaliação da qualidade microbiológica do produto*. Campinas, 2006. 99f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos). Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2006.

PEREIRA, K. S. Levantamento sobre a qualidade microbiológica de salames brasileiros. *Revista Nacional da Carne*. n. 362, p. 44-48, abr. 2007.

PIGNATO, S.; MARINO, A. M.; EMANUELE, M. C.; IANNOTTA, V.; CARACAPPA, S.; GIAMMANCO, G. Evaluation of new culture media for rapid detection and isolation of Salmonellae in foods. *Applied and Environmental Microbiology*. v. 61, n. 5, p. 1996-1999, maio, 1995.

RADDI, M. S. G.; LEITE, C. Q. F.; MENDONÇA, C. P. *Staphylococcus aureus*: portadores entre manipuladores de alimentos. *Revista de Saúde Pública*. v. 22, n.1, p. 36-40, fev. 1988.

RITTER, R.; SANTOS, D. dos; AGOSTINI, F. S.; CARBONI, A. R.; BERGMANN, G. P. Microbiologia contaminante e patogênica de linguiça (salame) colonial, analisada em quatro períodos distintos. *Higiene Alimentar*. v. 17, n. 113, out. 2003.

RÖDEL, W.; KRISPIEN, K.; HOFMANN, G. Importancia y determinación de la actividad agua <<superficial>> em carne y productos cárnicos. *Fleischwirtsch español*. n. 2, p. 26-36, out. 1982.

SAKATE, R. I.; ARAGON, L. C.; RAGHIANTE, F.; LANDGRAF, M.; FRANCO, B. D. G. M.; DESTRO, M, T. Quantificação de *Listeria monocytogenes* em salames fatiados embalados à vácuo. *Archivos latinoamericanos de nutrición*. v. 53, n. 2, 2003.

SAUER, C. J.; MAJKOWSKI, J.; GREEN, S.; ECKEL, R. Foodborne illness outbreak associated with a semi-dry fermented sausage product. *Journal of Food Protection*. v. 60, n. 12, p. 1612-1617, dez. 1997.

SAWITZKI, M. C.; TERRA, N. N.; FIORENTINI, A. M. Produção de salame tipo italiano, com bactéria láctica isolada de salame artesanal. *Higiene Alimentar*. v. 21, n. 152, p. 31-37, jun. 2007.

SCOTT, V. N.; CLAVERO, R. S.; TROLLER, J. A. Measurement of Water Activity (Aw), Acidity, and Brix. In: DOWNES, F. P.; ITO, K. *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*. 4. ed. Washington: APHA, 2001. 676p. cap. 64, p. 649-657.

SILVA, L. P. G. Preconceitos e verdades sobre a carne suína. *Conceitos*. n. 11, p. 143-149, jul. 2004/jun.2005.

SILVA, M. C. da. *Avaliação da qualidade microbiológica de alimentos com a utilização de metodologias convencionais e do sistema Simplate*. Piracicaba, 2002. 75f. Dissertação (Mestrado em Ciências). Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.

SILVA, W. P.; GANDRA, E. A. estafilococos coagulase positiva: patógenos de importância em alimentos. *Higiene Alimentar*. v. 18, n.122, p. 32-40, jul. 2004.

SILVEIRA, P. R. S. da; TALAMINI, D. J. D. A cadeia produtiva de suínos no Brasil. *Revista Conselho Federal de Medicina Veterinária*. ano 13, n. 42, p. 11-20, set, out, nov e dez. 2007.

SISTEMA DE INFORMACION PARA LA VIGILANCIA DE LAS ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR LOS ALIMENTOS (SIRVETA). Disponível em: <<http://www.panalimentos.org/sirveta>>. Acesso em: 24 outubro 2007.

SMITH, J. L.; PALUMBO, S. A. Injury to *Staphylococcus aureus* during sausage fermentation. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 36, n. 6. p. 857-860. dez. 1978.

SOUZA, C. S. Uma guerra quase perdida. *Revista Ciência Hoje*, v. 23, n. 138, p. 27-35, 1998.

SWANSON, K. M. J.; PETRAN, R. L.; HANLIN, J. H. Culture methods for enumeration of microorganisms. In: DOWNES, F. P.; ITO, K. *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*. 4. ed. Washington: APHA, 2001. 676p. cap. 6, p. 53-62.

TAVARES, W. Bactérias gram-positivas problemas: resistência do estafilococo, do enterococo e do pneumococo aos antimicrobianos. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. v. 33, p. 281-301, maio/jun. 2000.

TERRA, A. B. M.; FRIES, L. L. M.; TERRA, N. N. *Particularidades na fabricação de salame*. São Paulo: Varela, 2004. 152p.

TERRA, N. N. Fermentação como fator de segurança e qualidade para o consumidor. *Revista Nacional da Carne*, n. 239, p. 26-32, jan. 1997.

TERRA, N. N. *Apontamentos de tecnologia de carnes*. São Leopoldo: Unisinos, 1998. 216p.

TERRA, N. N.; FREITAS, R. J. S.; CICHOSKI, A. J. Atividade de água, pH, umidade e desenvolvimento de *Staphylococcus xylosum* durante o processamento e armazenamento da paleta suína curada, maturada e fermentada. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. v. 27, n. 4, p. 756-760, out. 2007.

TILDEN JUNIOR, J.; YOUNG, W.; MCNAMARA, A.M.; CUSTER, C.; BOESEL, B.; LAMBERT-FAIR, M. A.; MAJKOWSKI, J.; VUGIA, D.; WERNER, S. B.; HOLLINGSWORTH, J.; MORRIS, J. G. A new route of transmission for *Escherichia coli*: infection from dry fermented salami. *American Journal of Public Health*. v. 86, n. 8, p. 1142-1145, ago. 1996.

TOMPKIN, R. B.; MCNAMARA, A. M.; ACUFF, G.R. Meat and Poultry Products. In: DOWNES, F. P.; ITO, K. *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*. 4. ed. Washington: APHA, 2001. 676p. cap. 45, p. 463-471.

TONIAL, C. A. *Informações sobre salame*. [mensagem pessoal]. Mensagem recebida por: <priandreoli@gmail.com> em 22 out. 2007.

TRABULSI, L. R.; TOLEDO, M. R. F. de. *Microbiologia*, 2.ed. São Paulo: Atheneu, 1998. 398p.

TROLLER, J. A. Influence of Water Activity on microorganisms in Foods. *Food Technology*. p. 76-83. maio. 1980.

VIOTT, A.; STOLBERG, J.; PELISSER, M. R. Qualidade microbiológica e físico-química de salames tipo coloniais da região do Alto Uruguai Catarinense. *Higiene Alimentar*. v. 20, n. 138, p. 78-82, jan./fev. 2006.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). *Food safety and foodborne illness*. Fact sheet. n. 237, mar. 2007. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs237/en/>>. Acesso em: 21 out. 2007.