

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS

INSTITUTO DE BIOLOGIA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS - BACHARELADO



Trabalho de Conclusão de Curso

**Análise microbiológica de linguiça suína tipo frescal
comercializada na cidade de Pelotas-RS, Brasil**

Mariana Almeida Iglesias

Pelotas, 2010

MARIANA ALMEIDA IGLESIAS

**ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE LINGUIÇA SUÍNA TIPO FRESCAL
COMERCIALIZADA NA CIDADE DE PELOTAS-RS, BRASIL**

Trabalho de conclusão de curso
apresentado a Universidade
Federal de Pelotas como parte das
exigências para obtenção do título de
Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientadora: Prof^a. Dra.Gladis Aver Ribeiro

Pelotas, 2010

Dados de catalogação na fonte:

Maria Beatriz Vaghetti Vieira – CRB 10/1032

Biblioteca de Ciência & Tecnologia - UFPel

I24a Iglesias, Mariana Almeida

Análise microbiológica de linguiça suína tipo frescal comercializada na cidade de Pelotas - RS / Mariana Almeida Iglesias. – 44f. – Monografia (Conclusão de curso). Universidade Federal de Pelotas. Instituto de Biologia. Pelotas, 2010. – Orientador Gladis Aver Ribeiro.

1.Biologia. 2.Saúde Pública. 3.Staphylococcus coagulase positiva. 4.Contaminação microbiana. 5.Salmonella. 6.Escherichia coli. 7. Linguiça. 8.Coliformes. I.Ribeiro, Gladis Aver. II.Título.

Banca Examinadora

Profª Dra. Gladis Aver Ribeiro

Prof. Dr. Eduardo Bernardi

Profª Dra. Kelly Lameiro Rodrigues

Dedico

Aos meus pais e minhas irmãs.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela minha vida;

Aos meus pais, Alexandre e Grazielle, pelo apoio e incentivo nos momentos felizes e pelo consolo e segurança que me ofereceram nos momentos mais complicados da minha vida;

A minha irmã Aline, pela amizade, companheirismo e alegrias que me proporcionou incansavelmente;

A minha irmã Alexandra, simplesmente por fazer parte da minha vida e por ser para mim um exemplo de que com esforço e determinação sempre conquistamos o que queremos;

A minha madrinha Cristina que mesmo longe, sempre esteve presente na minha caminhada;

A minha orientadora Prof^ª. Dra. Gladis Aver Ribeiro, pela paciência, amizade, incentivo a pesquisa e principalmente por me ajudar nessa caminhada e me fazer acreditar e buscar sempre mais;

A minha amiga Melina, pela amizade sincera, incentivo e descontração em todos os momentos durante o caminho percorrido na graduação e por ter compartilhado comigo os melhores anos da minha vida;

A amiga Rosana Serpa que quase como uma co-orientadora, me auxiliou a dar os meus primeiros passos dentro do laboratório de Bacteriologia;

Aos colegas de laboratório Anelize, Igor, Lisiane e Melina pelo companheirismo e auxílio em vários momentos desse trabalho e de outros que foram realizados;

Aos funcionários do Departamento de Microbiologia e Parasitologia, em especial a Luiz Carlo e Isaias, os quais sempre estiveram presentes e prestativos;

A todos que direta ou indiretamente me incentivaram para realização da graduação.

*Eu poderia suportar, embora não sem dor, que tivessem morrido todos os meus
amores, mas enlouqueceria se morressem todos os meus amigos.*

Fernando Pessoa

RESUMO

IGLESIAS, Mariana Almeida. **Análise microbiológica de linguiça suína tipo frescal comercializada na cidade de Pelotas-RS.** 2010. 44f. Monografia (Graduação) – Bacharelado em Ciências Biológicas. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

A contaminação microbiana dos alimentos é um dos principais problemas de saúde pública atualmente. Nos estabelecimentos comerciais, a contaminação de carnes e derivados cárneos é muito comum. A linguiça suína tipo frescal é um alimento exposto à contaminação e representa um excelente meio para desenvolvimento e multiplicação de microrganismos, além de possuir vida útil reduzida por não sofrer tratamento térmico que reduza a microbiota, e ainda possuir elevada atividade de água. Este trabalho teve como objetivo avaliar as condições microbiológicas de amostras de linguiça tipo frescal comercializadas na cidade de Pelotas, RS, Brasil, com a finalidade de verificar o grau de contaminação do produto. Foram analisadas 60 amostras de linguiça obtidas de seis estabelecimentos diferentes. Realizou-se a pesquisa de *Staphylococcus* coagulase positiva (ECP), *Salmonella* spp., Coliformes totais e termotolerantes, e identificação de *Escherichia coli*. Os resultados obtidos mostram que das 60 amostras analisadas, todas (100%) apresentaram contaminação por Coliformes totais e 35 (58%) estavam contaminadas por Coliformes termotolerantes, sendo confirmada a presença de *E. coli* em 30 (86%) amostras. Na análise de ECP, foi constatada a presença deste patógeno em 16 (27%) amostras de linguiça frescal analisadas. Já a presença de *Salmonella* spp. foi constatada em 8 (13%) amostras. Através dos resultados obtidos neste trabalho, evidencia-se a necessidade de uma fiscalização mais rigorosa e efetivo controle higiênico-sanitário no processamento desse tipo de alimento, bem como de seus manipuladores, evitando possíveis riscos para saúde do consumidor.

Palavras-chave: *Staphylococcus* coagulase positiva. *Salmonella*. *Escherichia coli*.

Linguiça. coliformes. contaminação microbiana.

ABSTRACT

IGLESIAS, Mariana Almeida. **Análise microbiológica de linguiça suína tipo fresco comercializada na cidade de Pelotas-RS.** 2010. 44f. Monografia (Graduação) – Bacharelado em Ciências Biológicas. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

Microbial contamination of food is a major public health problem today. In shops, the contamination of meat and its derivatives is very common. Pork sausage is a type of food exposed to contamination and represents an excellent medium for development and multiplication of microorganisms. This type of food also has a reduced life time because it doesn't undergo heat treatment to reduce the microflora, and it still has high water activity. This study aims to evaluate the microbiological conditions of samples of sausage sold in the city of Pelotas, Brazil, in order to ascertain the degree of contamination of the products. Sausage samples from six different establishments were analyzed, totaling 60 samples. The isolation and identification of coagulase positive *Staphylococcus* (ECP), *Salmonella* spp., total coliforms and thermotolerant, with identification of *Escherichia coli*, were held. The results show that of the 60 samples analyzed, all (100%) showed levels of total coliform and 35 (58%) were contaminated with thermotolerant coliforms, which confirmed the presence of *E. coli* in 30 (86%) samples. In the analysis of ECP, there was presence of this pathogen in 16 (27%) analyzed samples of fresh sausage. The presence of *Salmonella* spp. was found in 8 (13%) samples. The results obtained in this study highlight the need for more rigorous surveillance on effective sanitary-hygiene control in the processing of such food, as well as on their handlers, avoiding potential risks to consumer health.

Keywords: Coagulase positive *Staphylococcus*. *Salmonella*. *Escherichia coli*. Sausage. coliforms. microbial contamination.

Lista de figuras

Figura 1	Colônias metálicas características de <i>Escherichia coli</i> em meio seletivo ágar EMB (Eosin Methylene Blue).....	25
Figura 2	Presença de Coliformes Termotolerantes nas amostras de linguiça suína tipo frescal comercializadas em Pelota-RS.....	28
Figura 3	Percentual de amostras positivas para <i>Escherichia coli</i> isoladas de linguiça suína tipo frescal comercializadas na cidade de Pelotas- RS, Brasil.....	28
Figura 4	Colônias pretas com halo características de <i>Staphylococcus</i> spp. em meio seletivo ágar BP (Baird Parker).....	29
Figura 5	Presença de <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva em amostras de linguiça suína tipo frescal comercializadas em Pelotas-RS, Brasi.....	29
Figura 6	Colônias pretas características de <i>Salmonella</i> spp. em meio seletivo ágar XLD (Xylose lysine deoxycholate).....	31
Figura 7	Percentual de amostras positivas para <i>Salmonella</i> spp. isoladas de linguiça suína tipo frescal comercializadas em Pelotas-RS, Brasil.....	33
Figura 8	Percentual de microrganismos presentes nas amostras de linguiça suína tipo frescal comercializadas em Pelotas-RS por estabelecimento.....	34

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	13
2.1. Contaminação microbiana dos alimentos.....	13
2.2. Linguiça Frescal.....	15
2.3. Microrganismos Indicadores.....	16
2.3.1 Coliformes Totais e Termotolerantes.....	16
2.4. Microrganismos Patogênicos.....	16
2.4.1 <i>Escherichia coli</i>	16
2.4.2 <i>Staphylococcus aureus</i>	17
2.4.3 <i>Salmonella</i>	18
3. OBJETIVOS.....	20
4. METODOLOGIA.....	21
4.1. Descrição do local de coleta.....	21
4.2. Obtenção das amostras.....	21
4.3. Metodologia para isolamento e identificação de Coliformes Totais e Termotolerantes.....	21
4.4. Metodologia para isolamento e identificação de <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva.....	22
4.5. Metodologia para isolamento e identificação de <i>Salmonella</i> spp.....	23
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	25
6. CONCLUSÃO.....	35
7. REFERÊNCIAS.....	36
8. ANEXOS.....	41

1 INTRODUÇÃO

A carne constitui excelente meio para a multiplicação de microrganismos, podendo ser responsável pela transmissão de doenças para o homem através de bactérias patogênicas (D'AOUST; MAURER; BALEY, 2001). Dentre os derivados cárneos, a linguiça apresenta o maior risco, pois pode ocorrer contaminação e proliferação dos microrganismos durante o preparo, manufatura e estoque do produto (GIOVANNINI; PRENCIPE; CONTE, 2004).

A linguiça tipo frescal, por seu próprio mecanismo de produção, comercialização e composição química, possui alto risco de contaminação por agentes microbianos, devendo ser acondicionada em ambientes higiênicos e sob refrigeração (RODRIGUES; TERRA; FRIES, 2000). A sanidade da matéria-prima, a higiene no manuseio, as condições de fabricação e conservação e a limpeza dos equipamentos são fatores importantes que estão ligados diretamente à qualidade dos embutidos frescais (JAY, 1992).

Visando a segurança dos alimentos, a contagem de coliformes termotolerantes, assim como a pesquisa da presença de *Salmonella*, tem sido utilizada para avaliar as condições higiênico-sanitárias dos alimentos. Coliformes termotolerantes constituem um grupo de enterobactérias capazes de fermentar a lactose a 45° C com produção de gás e ácido. Altas contagens de coliformes termotolerantes indicam falhas higiênicas ao longo do processamento e possibilidade da presença de microrganismos patogênicos (FRANCO e LANDGRAF, 2006)

Dentre os microrganismos patogênicos que potencialmente podem estar presentes no produto final destacam-se *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* (HOFFMANN et al., 1996).

Desta forma, em função da presença destes agentes, produtos cárneos podem constituir sérios problemas para a saúde pública, uma vez que estas bactérias são causas comuns de toxinfecções alimentares (PARDI et al., 1993).

Pelo exposto, nota-se a importância de realizar este trabalho, visando analisar o perfil microbiológico de linguiças tipo frescal, pois em sua maioria podem apresentar qualidade microbiológica comprometida oferecendo riscos aos consumidores.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Contaminação microbiana dos alimentos

Os alimentos de origem animal ou vegetal, frescos ou processados podem veicular diversos microrganismos patogênicos, causadores de diversas perturbações fisiológicas em humanos que os consomem. Os alimentos que, eventualmente, estejam contaminados por microrganismos causadores de doenças, ao serem ingeridos, permitem que os patógenos e/ ou seus metabólitos invadam os fluidos ou os tecidos do hospedeiro, causando distúrbios conhecidos como Doenças de Origem Alimentar (PINTO, 2007).

Atualmente, o consumo de alimentos saudáveis e sem risco para a população tem sido questão de grande importância, tanto para fabricantes como para as autoridades responsáveis pela fiscalização, pelo fato de alimentos contaminados representarem perdas econômicas para as empresas e colocarem em risco a saúde da população (RÊGO et al, 2001).

Na produção de alimentos, é essencial que medidas apropriadas sejam tomadas para garantir a segurança alimentar e a estabilidade do produto durante toda a sua vida de prateleira.

A contaminação microbiana dos alimentos pode ocorrer em todas as etapas de processamento de um alimento, desde a obtenção de sua matéria-prima bruta até o preparo e armazenamento, passando pelo processamento na indústria (SILVA; JUNQUEIRA; SILVEIRA, 1997).

As principais fontes de contaminação podem ser definidas pelas suas etapas de produção:

Na obtenção da matéria-prima, como carne bovina, suína, de peixes e aves, bem como leite e ovos, podem ocorrer contaminações provenientes de abatedouros clandestinos, sem fiscalização sanitária; locais de criação não fiscalizados e sem as devidas condições de higiene e limpeza; abatimento de animais com casos de mastite bovina, entre outros fatores, como ausência de locais de armazenamento e transporte adequados.

No armazenamento da matéria prima até o processamento na indústria: toda produção primária advinda da agricultura e pecuária passa por períodos de armazenamento e transporte até sua utilização pela indústria alimentícia. Os locais de armazenamento constituem fontes importantes de contaminação, pela presença de animais, principalmente insetos e roedores, que são veiculadores de microrganismos patogênicos e deteriorantes. Ainda, locais úmidos e sem a temperatura adequada de estocagem favorecem a proliferação de microrganismos, comprometendo a qualidade da matéria-prima.

Na indústria, durante o preparo dos alimentos, as contaminações geralmente ocorrem pela utilização de água e utensílios contaminados, bem como pelo contato dos manipuladores com os alimentos. Indivíduos enfermos, com lesões cutâneas, portadores assintomáticos e procedimentos anti-higiênicos são fatores que descrevem situações de risco para a higiene dos alimentos produzidos.

Na comercialização, as péssimas condições de alguns estabelecimentos, bem como a ausência de locais ideais para o armazenamento influenciam favoravelmente no crescimento microbiano nos alimentos (HOBBS e ROBERTS, 1998).

Na produção de alimentos, é essencial que medidas apropriadas sejam tomadas para garantir a segurança alimentar e a estabilidade do produto durante toda a sua vida de prateleira. Um alimento é considerado seguro para o consumo quando nele não há presença de microrganismos viáveis ou tampouco toxinas produzidas por eles, ou seja, que nenhum microrganismo do alimento tenha condições de se multiplicar até doses infecciosas (FORSYTHE, 2002).

2.2. Linguiça Suína Frescal

A higiene dos alimentos tem como principal objetivo estudar os métodos para a produção, acondicionamento e distribuição dos alimentos dentro de limites de segurança microbiológica, abrangendo não só a manipulação dos gêneros alimentícios e de bebidas, mas também o emprego de utensílios e equipamentos para o seu preparo, uso de matéria-prima de boa procedência, adoção de boas práticas de higiene pessoal dos manipuladores e qualidade higiênico-sanitário da área de preparação (UKUKU, 2006 ; SILVA JR, 1997).

Dentre os alimentos envolvidos com maior frequência como veiculadores de enfermidades no ser humano encontram-se as carnes bovina e de frango, bem como a linguiça (MANCHA, 1999). Ressalta-se que a linguiça frescal é um alimento exposto à contaminação e representa um excelente meio para desenvolvimento e multiplicação de microrganismos (AMARAL; NADER FILHO; LACAVA, 1984).

Embutidos, como linguiças, são definidos como alimentos condimentados contidos em envoltório natural ou artificial, cuja elaboração emprega carne de bovinos, suínos ou aves, bem como suas vísceras, podendo ser cozido ou não, curado, maturado e dessecado (CHAVES et al. , 2000)

As prováveis fontes de contaminação para esses produtos compreendem as carnes, os envoltórios, os temperos ou condimentos, bem como a água utilizada em todas as operações de limpeza e manutenção, manipulação, máquinas e utensílios (OLIVEIRA; FRANCO; CARVALHO, 1992).

Sua obtenção requer uma série de etapas de manipulação, o que eleva as possibilidades de contaminação por uma gama de espécies de microrganismos, patogênicos ou deteriorantes, podendo comprometer a qualidade microbiológica do produto final, desde que ocorram falhas durante o processamento. Diversas podem ser as fontes de introdução destes agentes na cadeia alimentar, como condições inadequadas de abate e evisceração, nas quais as carcaças podem ser contaminadas por enterobactérias presentes no trato gastrintestinal (BORCH; NESBAKKEN; CHRISTENSEN, 1996; TUTENEL et al., 2003).

2.3. Microrganismos Indicadores

2.3.1 Coliformes Totais e Termotolerantes

Os coliformes são microrganismos indicadores de condições sanitárias indesejáveis, principalmente neste caso, por se tratar de alimentos. A classificação dos coliformes é representada ainda pelo grupo de coliformes totais, que incluem as bactérias na forma de bastonetes gram-negativos, não esporogênicos, aeróbios ou aeróbios facultativos, mesófilos, capazes de fermentar lactose com produção de gás, em 24-48h/35°C. Sua presença serve como indicativo da qualidade higiênico-sanitária do produto (SILVA; JUNQUEIRA; SILVEIRA, 1997).

Dentre estes encontra-se um grupo de microrganismos amplamente estudado, os coliformes termotolerantes, que são indicadores de contaminação de origem fecal no processo de manipulação e armazenamento de alimentos (FRANCO e LANDGRAF, 2006).

Os coliformes termotolerantes diferenciam-se dos totais por fermentarem a lactose com produção de gás a uma temperatura de 44,5°C. O principal representante do grupo, e o indicador específico de contaminação fecal, é a *Escherichia coli* (TORTORA; FUNKE; CASE, 2005).

2.4 Microrganismos Patogênicos

2.4.1 *Escherichia coli*

O microrganismo mais estudado e mais conhecido na microbiota do homem é caracterizado por células em forma de bastonetes retos, móveis por flagelo peritríqueos ou imóveis, não esporulados, gram-negativos e anaeróbios facultativos. Constitui um habitante normal do intestino do homem e dos outros animais e só em determinadas situações pode causar infecções, sendo considerada um patógeno oportunista. Sorotipos diferentes podem causar ações lesivas por aderência na mucosa do trato intestinal, como é o caso das Enteropatogênicas, bem como produzir toxinas que possam causar danos ao endotélio vascular, como é o caso do sorotipo *Escherichia coli* O157:H7 (KONEMAN et al., 2001).

Os principais e mais frequentes sintomas de uma infecção por *E. coli* caracterizam-se pela ocorrência de diarreias, febre e náuseas que, normalmente, aparecem 6 a 36 horas após a ingestão do alimento contaminado (SILVA et al., 2005).

E. coli é a espécie bacteriana mais comumente isolada em laboratórios clínicos e já foi associada em doenças infecciosas envolvendo todos os tecidos e sistemas orgânicos humano (KONEMAN et al. 2001).

Dentre os alimentos, a carne é uma das fontes potenciais de *Escherichia coli* O157:H7, pelo fato de que o trato gastrointestinal dos animais é reservatório intermediário desses microrganismos (BETTELHEIM, 2005).

Sua detecção pode evidenciar falha no procedimento higiênico-sanitário da indústria, representando risco aos consumidores, já que algumas linhagens apresentam potencial patogênico (CAMPOS et al. 1999).

2.4.2 *Staphylococcus aureus*

As bactérias do gênero *Staphylococcus* são cocos gram-positivos, pertencentes a família Micrococcacea, anaeróbios facultativos, com crescimento mais relevante sob condições aeróbias. Diversas espécies do gênero *Staphylococcus* são associadas como agentes causadores de doenças tanto no homem quanto em animais.

A espécie *S. aureus* é citada como um dos grandes agentes de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA), responsável por intoxicação alimentar no homem, que por sua vez é causada pela ingestão de alimentos contaminados com toxinas pré-sintetizadas pelas bactérias, neste caso denominadas enterotoxinas estafilocócicas. Os principais sintomas caracterizam-se pelo aparecimento de náuseas, vômitos, dores abdominais e diarreia. Aparecem entre 2 a 6 horas após a ingestão do alimento contaminado, requerendo hospitalização em 10% dos casos (NORMANO et al., 2005).

Em função do risco à saúde pública que a presença de *S. aureus* em alimentos representa, estabeleceu-se obrigatoriedade de sua pesquisa e enumeração em diversos países, como parte da fiscalização sanitária de órgãos governamentais (SILVA et al., 2004).

Os portadores e os manipuladores de alimentos infectados com *Staphylococcus aureus* são importantes fontes de contaminação dos alimentos (HOLT et al., 1994).

O *Staphylococcus aureus* é produtor da enterotoxina mais importante das espécies estafilocócicas, o perigo nos alimentos não se dá pela sua presença e sim pela toxina que este pode produzir e que é responsável pela sintomatologia da intoxicação alimentar, (vômitos, diarreia, náuseas). As toxinas estafilocócicas se formam muitas vezes quando alimento não sofre nenhum tipo de tratamento térmico ou se este for insuficiente, visto que o microrganismo suporta temperaturas de 60° a 70° C (EVANGELISTA, 2000).

Nos alimentos, o grupo dos *Staphylococcus* coagulase positiva são importantes, por duas razões: sua presença em alimentos pode indicar deficiência no processamento e condições higiênicas inadequadas, e também porque a enterotoxina, uma vez presente no alimento, é termoresistente, sendo capaz de resistir a tratamentos térmicos como a pasteurização, podendo causar intoxicação alimentar.

A coagulase produzida por algumas espécies de *Staphylococcus*, é uma enzima extracelular que coagula o plasma sanguíneo e que é muito utilizada na rotina de testes para identificação do microrganismo em laboratório. Por conta das semelhanças entre as espécies de *Staphylococcus*, houve uma mudança na legislação brasileira, que passou a estabelecer a pesquisa e enumeração de *Staphylococcus* coagulase positiva ao invés da enumeração de *S. aureus* (SILVA; SOUZA; SOUZA, 2004).

2.4.3 *Salmonella*

O gênero *Salmonella* pertence a família Enterobacteriaceae e compreende bacilos gram-negativos, não produtores de esporos e anaeróbios facultativos (FRANCO e LANDGRAF, 2006). As bactérias do gênero *Salmonella* ocorrem geralmente nos animais, especialmente nas aves e nos suínos, estando presente também nos seres humanos, alimentos e meio ambiente, podendo ser patogênica para humanos e muitas espécies de animais (HOLT et al., 1994).

A transmissão de *Salmonella* ao homem ocorre geralmente pela ingestão de produtos de origem animal contaminados (WEGENER e BAGER, 1997).

A salmonelose em humanos é caracterizada primariamente por uma gastroenterite e não requer, na maioria das vezes, o tratamento com antimicrobianos. Porém, este procedimento é essencial quando há febre entérica, salmonelose invasiva e pacientes com risco de doença extraintestinal, principalmente em crianças e portadores do vírus da imunodeficiência humana (PARRY, 2003).

Os sintomas mais freqüentes caracterizam-se pelo aparecimento de diarreias, dores abdominais, febre e vômitos. Estes sintomas surgem, normalmente, entre 12 a 36 horas após ingestão dos alimentos contaminados (TORTORA; FUNKE; CASE, 2005).

Os alimentos mais susceptíveis à contaminação por *Salmonella* são os ovos, leite, queijos, chocolates, carnes frescas e carcaças de aves (KONEMAN et al., 2001).

A presença de *Salmonella* em suínos pode representar um risco para a saúde pública, uma vez que tem se observado o aumento do número de surtos, devido ao consumo de produtos suínos contaminados presentes em diversos países (SHINOHARA, 2008). Sendo assim, *Salmonella* é o mais importante contaminante de produtos alimentares e um dos principais agentes de infecções alimentares em diversos países (LACONHA et al., 2000; LOPALCO et al., 2000).

Ao longo do tempo, as aves e seus produtos derivados ocuparam maior importância como fonte de infecção por *Salmonella enterica* em humanos (BAGGESEN; WEGENER, 1994; OLIVEIRA; FRANCO; CARVALHO, 1992).

Porém, nos últimos anos, os suínos e seus derivados também vêm se tornando fonte dessa infecção, crescendo com destaque nos casos de salmonelose transmitida por produtos de origem animal. Em países desenvolvidos, a carne suína já é responsável por 5-30% dos casos (BERENDS et al., 1998).

A *Salmonella* é um dos microrganismos mais envolvidos em casos e surtos de doenças de origem alimentar em diversos países, inclusive o Brasil. A sua patogenicidade varia de acordo com o tipo sorológico, idade e condições de saúde do hospedeiro. As doenças causadas costumam ser divididas em febre tifóide, febre entérica e enterocolite ou salmonelose. (FRANCO e LANDGRAF, 2006).

3 OBJETIVOS

Verificar a contaminação microbiológica de amostras de linguiça suína tipo frescal comercializadas na cidade de Pelotas, RS, Brasil.

Verificar a ocorrência de Coliformes totais e termotolerantes com identificação de *Escherichia coli*.

Verificar a ocorrência de *Staphylococcus* coagulase positiva e *Salmonella* spp .

4 METODOLOGIA

4.1. Descrição do local de coleta

As amostras foram obtidas de três supermercados (A, B e C) e três bancas pertencentes a uma feira livre (D, E e F) da cidade de Pelotas, RS, Brasil. Sendo os estabelecimentos sorteados aleatoriamente.

4.2. Obtenção das amostras

As coletas foram realizadas no período de Março a Outubro de 2010. Sendo coletadas 10 amostras de cada estabelecimento, totalizando 60 amostras de linguiça suína tipo frescal, as quais foram submetidas à pesquisa de *Salmonella* spp., *Staphylococcus* coagulase positiva, Coliformes Totais e Termotolerantes, com identificação de *Escherichia coli*.

Imediatamente após a coleta, as amostras foram acondicionadas em caixa isotérmica contendo gelo e enviadas para o laboratório de Bacteriologia do Departamento de Microbiologia e Parasitologia do Instituto de Biologia (IB) da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL), para a realização das análises microbiológicas anteriormente descritas.

4.3. Metodologia para isolamento e identificação de Coliformes Totais e Termotolerantes (SILVA; JUNQUEIRA; SILVEIRA,1997):

Para realização do isolamento e identificação de coliformes totais e termotolerantes, pesou-se 25 gramas da amostra e diluiu-se em 225 mL de diluente contendo água peptonada a 0,1%, agitou-se no liquidificador até homogeneizar.

Após retirou-se 1 mL homogeneizado e depositou-se em 3 tubos contendo 9 mL de água peptonada estéril para diluição. Foram realizadas três diluições decimais, sendo que de cada diluição retirou-se 1 mL e colocou-se em tubos contendo 9 mL de caldo lactosado (CL) estéril, após incubou-se a 36°C/ 24-48 horas, com a finalidade de fazer um teste presuntivo de coliformes totais.

Com a verificação dos tubos positivos de caldo lactosado, tubos turvos com formação de gás nos tubos invertidos de Durhran, passa-se uma alçada de cada tubo positivo para os tubos de Caldo Lactosado Bile Verde Brilhante (CLBVB), para confirmação da presença de Coliformes totais, e incubou-se a 36°C/24-48 horas.

Após o período de incubação, verificou-se os tubos de CLBVB positivos, com turvação e formação de gás no tubo de Durhran, passa-se então uma alçada de cada tubo positivo para tubos de EC (*E. coli*) para confirmação de coliformes termotolerantes e incubou-se a 45°C/24-48 horas em banho maria.

Após o período de incubação contou-se os tubos positivos e verificou-se os resultados na tabela do Número Mais Provável (NMP). Para o teste confirmativo de *Escherichia coli*, pegou-se uma alçada de cada tubo de EC positivo e semeou-se pela técnica de esgotamento, para placas de Ágar Eosina Azul de Metileno (EMB), incubou-se a 36°C/24-48 horas. Após o período de incubação selecionou-se as colônias características (colônias circulares, pequenas, esverdeadas apresentando normalmente brilho metálico) e passou-se para Ágar nutriente (AN) para conservação e então foram feitas as provas bioquímicas: Vermelho de Metila (MR), Voges-Proskauer (VP), Citrato, Motilidade, Indol e produção de ácido sulfídrico (SIM) para confirmação da espécie, de acordo com Koneman et.al.,2001.

4.4. Metodologia para isolamento e identificação de *Staphylococcus* coagulase positiva (SILVA; JUNQUEIRA; SILVEIRA,1997):

Para contagem de *Staphylococcus* spp. foi utilizado o método Número mais provável (NMP) recomendado para alimentos naturais e não processados, com pouco crescimento de *Staphylococcus* spp. e altas contagens de microrganismos competidores.

Através das diluições prévias (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4}) inoculou-se uma série de três tubos por diluição contendo Caldo Trypticase de Soja (TSB) suplementado com 10% de NaCl, adicionando-se 1,0 mL de cada diluição por tubo contendo 10mL de Caldo TSB. Incubaram-se os tubos em uma estufa a 36°C/48h.

Os tubos de Caldo TSB que apresentaram turvação foram considerados positivos e então foram semeados pela técnica de esgotamento em placas contendo Ágar Baird-Parker (BP). Após, incubou-se as placas em estufa a 36°C/48h. Decorrido este período selecionou-se de três a quatro colônias características de *Staphylococcus* (colônias circulares, pretas e pequenas, convexas e rodeadas por um halo opaco ou transparente). As colônias foram retiradas com uma alça de platina e transferidas para tubos contendo 1mL de Caldo Infusão Cérebro Coração (BHI) e incubados em cultivo de 18h a 36°C, para realização de coloração de gram e posteriormente a realização da prova de coagulase.

Para o teste de coagulase, foi mantido nos tubos de BHI uma quantidade de 0,2mL do inóculo e adicionou-se 0,2mL coagu-plasma® , misturando com movimentos de rotação, sem agitar para não interferir na coagulação. Incubou-se novamente em estufa a 36°C por seis horas. Após o período de incubação observou-se se houve formação de coágulo firme, considerando positivos os tubos que apresentarem esta característica.

4.5. Metodologia para isolamento e identificação de *Salmonella* spp. (SILVA; JUNQUEIRA; SILVEIRA,1997):

A metodologia recomendada seguiu basicamente cinco etapas. Primeiramente foi feito o pré-enriquecimento em caldo o lactosado (CL) onde foi homogeneizada 25g da amostra em 225mL de CL incubados a 36°C por 24h.

Na próxima etapa fez-se o enriquecimento em caldos seletivos sendo inoculado 1 mL do pré-enriquecimento para tubos com 10mL dos Caldos Tetrionato (TT) (adicionando-se na hora da incubação 0,2ml de solução de iodo e 0,1ml de verde malaquita) e 0,1mL para o Caldo Rappaport (RR) sendo todos mantidos a 36°C por 24h. Logo após o período de incubação de cada tubo inoculado, retirou-se uma alíquota e semeou-se em placas contendo Ágar Hektoen-enteric (HE) e Ágar Xylose Lysine Desoxycholate (XLD) para isolamento das colônias, incubou-se por 24 horas a 36°C.

Depois deste período, foram realizadas as provas bioquímicas com as colônias típicas de *Salmonella* spp. (no Ágar HE são colônias transparentes, verde-azuladas, com ou sem centro preto, cepas fortemente produtoras de H₂S podem produzir colônias inteiramente pretas, colônias fermentadoras de lactose ou sacarose são de cor salmon; no Ágar XLD são colônias transparentes, cor rosa escuro, com ou sem centro preto, cepas fortemente produtoras de H₂S podem produzir colônias com centro preto grande e brilhante ou inteiramente pretas, cepas fermentadoras de lactose ou sacarose produzem colônias amarelas com ou sem centro negro) em Ágar Tríplice de Ferro (TSI), Agar Lisina Ferro (LIA) e Caldo Uréia, de acordo com Koneman et.al.,2001. Havendo resultados típicos de *Salmonella* spp. nestes testes, as colônias foram então submetidas a identificação sorológica com a utilização do soro salmonella polivalente somático.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com os resultados obtidos, verificou-se que das 60 amostras de lingüiça suína tipo frescal analisadas, 35 (58%) apresentaram contaminação por coliformes termotolerantes acima dos padrões vigentes na legislação, que é de 5×10^3 NMP/g de alimento (BRASIL, 2001). Em todas as amostras foi detectada a presença de colônias características de *Escherichia coli* (Fig.1), as quais foram submetidas as provas bioquímicas para confirmação da espécie. Foi confirmada a presença de *E. coli* em 30 (50%) amostras de lingüiça frescal analisadas neste trabalho, resultados já esperados visto que, a lingüiça frescal é um produto de origem animal, e *E. coli* é encontrada no trato gastrointestinal de animais de sangue quente, podendo permanecer nas carcaças durante o processamento e contaminar a carne utilizada como matéria prima para produção de embutidos frescais.

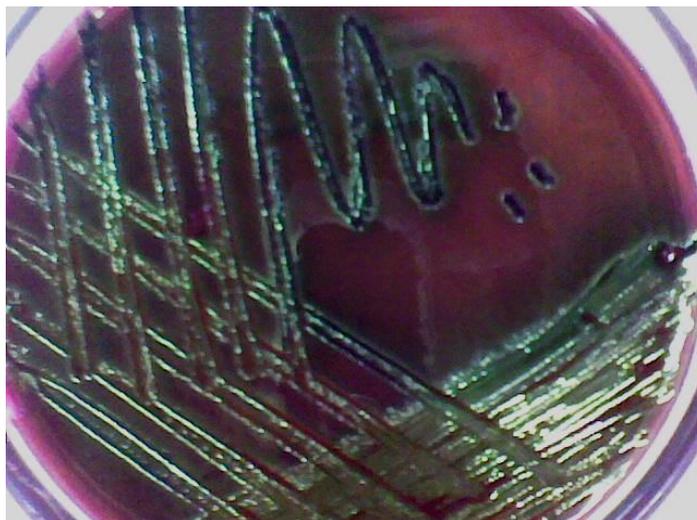


Figura 1 – Colônias metálicas características de *Escherichia coli*. em Ágar Eosin Methylene Blue (EMB).

Na literatura, são encontrados diversos trabalhos com índices bastante elevados para presença de *E.coli*, como o realizado por Moreira (2001) que encontrou esse patógeno em 100% das amostras de linguiça analisadas. Já Mata (2002), ao analisar 40 amostras de linguiça suína frescal comercializadas em feiras livre de Pelotas, RS observou que 85% das amostras ultrapassaram o valor permitido de contaminação por Coliformes termotolerantes e 55% apresentaram contaminação por *E. coli*, resultado este semelhante ao encontrado neste trabalho, onde das 60 amostras analisadas 30 (50%) apresentaram contaminação por este microrganismo. Essa contaminação pode ter ocorrido durante o processamento do produto, principalmente no momento da obtenção da matéria prima, durante o abate e a evisceração. É possível também considerar como uma das fontes de contaminação o invólucro da linguiça frescal, visto que muitas vezes as próprias vísceras do animal são utilizadas para este fim, o que aumenta a probabilidade da presença de Enterobactérias.

Carvalho, Oliveira e Franco (1985) ao verificarem a ocorrência de coliformes totais e fecais (termotolerantes) em embutido frescal, encontraram 89% das amostras positivas para este grupo de microrganismo, sendo destas 77% confirmadas para *E.coli*.

Analisando carne suína, Calderon e Furlaneto (1990) encontraram 23,3% das amostras contaminadas por coliformes fecais e *E. coli* acima do máximo permitido pelos padrões adotados pela Secretaria de estado da Saúde de São Paulo.

Já Chaves et al. (2000) detectaram que 33,33% das amostras de linguiças comercializadas no Rio de Janeiro estavam em desacordo com a legislação. Marques et al.(2005) verificaram que 35% das amostras de linguiça frescal adquiridas em Lavras e Três Corações, MG encontravam-se fora do padrão legal vigente para Colifomes termotolerantes, valores inferiores aos detectados neste trabalho que apresentou 58% das amostras contaminadas por este grupo de microrganismos.

Moreira (2001) pesquisaram *E. coli* em toda a linha de processamento de linguiça mista, em indústria da cidade de Araraquara (SP) e encontraram o microrganismo em todos os pontos amostrados, que incluíam a matéria-prima, superfícies de equipamentos e utensílios, mãos de manipuladores, condimentos e produto final. Através desses resultados pode-se supor que a contaminação por *E.*

coli. no produto final pode ser decorrente tanto das etapas de produção da linguiça frescal quanto da má higienização de seus manipuladores, podendo ocorrer em qualquer um desses pontos, o que justifica o índice elevado de contaminação por este microrganismo encontrado neste trabalho.

Estudos realizados no Brasil, Estados Unidos e Inglaterra, demonstram que, segundo Bettelheim (2005) em geral a *E.coli* presente em carnes é proveniente das fezes e conteúdo intestinal de animais e ao sobreviver ao abate e ao processamento, seja a provável fonte de disseminação desse microrganismo na população animal e nos produtos de origem animal. Este fato evidencia a grande probabilidade de contaminação dos derivados cárneos, como a linguiça frescal, devido suas várias etapas de manipulação, sendo um fator de alto risco ao consumidor visto que indica contaminação fecal recente.

A contagem de coliformes totais mostrou que todas as amostras apresentaram-se positivas, porém a legislação não prevê contagem de coliformes totais nos alimentos, pois a presença deste grupo de microrganismo não indica, necessariamente, contaminação fecal recente ou ocorrência de patógenos. Os mesmos resultados foram encontrados em estudos realizados por Mendonça e Granada (1999) e Ritter et al. (2001) que analisando produtos cárneos, encontraram 100% das suas amostras contaminadas com coliformes totais.

Já Bezerra et al. (2007) analisando o mesmo produto, observaram que 27% das amostras comercializadas no município de Soletânea, PB, apresentaram elevados valores de Coliformes totais.

Pelo exposto, apesar de não existir padrões microbiológicos para este grupo de microrganismos, nota-se a importância de se realizar este tipo de análise com o intuito de conhecer as condições higiênicas em que estes produtos se encontram.

O alto índice de contaminação por coliformes totais e termotolerantes nas linguiças tipo frescal analisadas neste estudo pode ser decorrente da falta de higiene de seus manipuladores, bem como da precariedade no processamento e armazenagem do produto.

O percentual das amostras de linguiça suína frescal analisadas que apresentaram coliformes termotolerantes acima do limite permitido pela legislação pode ser observado na Fig.2.

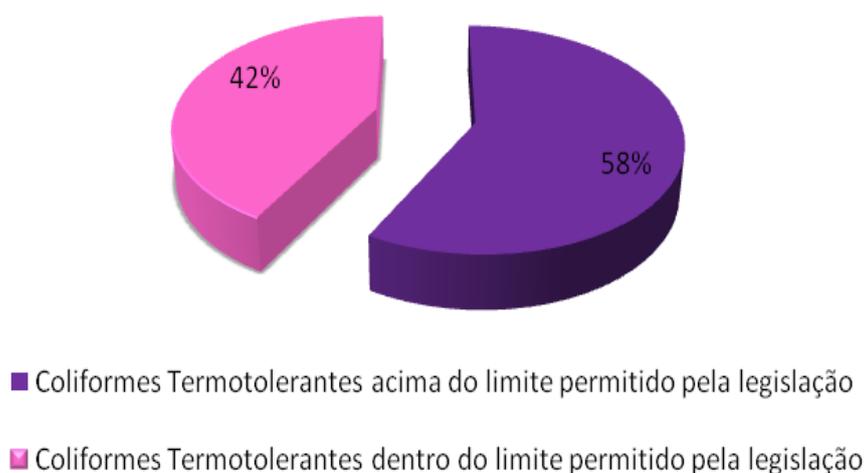


Figura 2: Presença de Coliformes Termotolerantes nas amostras de linguiça suína tipo fresco comercializadas em Pelota-RS.

O percentual de amostras de linguiça fresca contaminadas por *E. coli* pode ser observada na Fig.3.

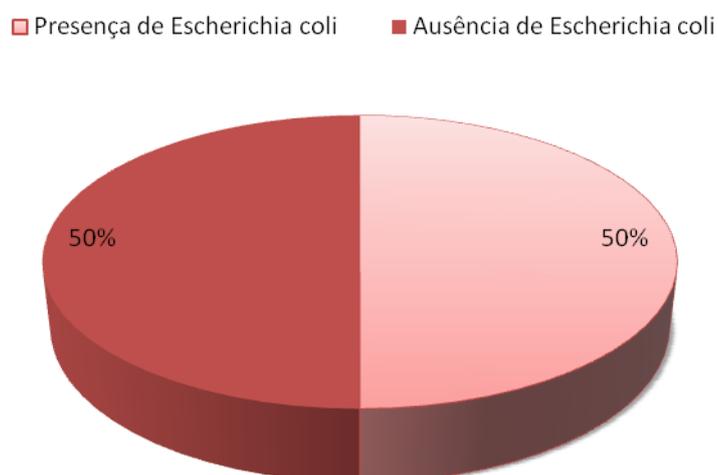


Figura 3: Percentual de amostras positivas para *Escherichia coli* isoladas de linguiças suína tipo fresco comercializadas na cidade de Pelotas- RS, Brasil.

Na verificação da ocorrência de *Staphylococcus* spp. (Fig.4) observou-se neste estudo que todas as amostras encontraram-se contaminadas, porém apenas 17 (28%) delas estavam acima dos padrões permitidos pela legislação que é de 5×10^3 NMP/g de alimento.



Figura 4: Colônias pretas com halo características de *Staphylococcus* spp. em Ágar Baird Parker (BP).

Das 60 amostras analisadas, foi confirmada a presença de *Staphylococcus* coagulase positiva (ECP) acima do limite permitido pela legislação em 16 (27%) delas. Estes resultados podem ser visualizados na Fig.5.

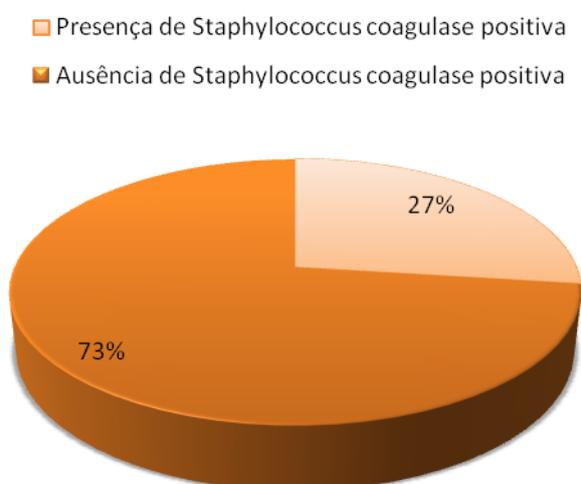


Figura 5: Presença de *Staphylococcus* coagulase positiva em amostras de linguiça suína tipo frescal comercializadas em Pelotas-RS, Brasil

Considerando os dados encontrados em estudos relacionados com ECP em linguiça fresca suína, Amaral et al. (1984), El-Khateib (1997) e Chaves et al. (2000), relataram 12,5%, , 29,3% e 40%, respectivamente, das amostras positivas. Alves et al. analisando amostras de carne moída bovina observaram a presença de ECP em 7,6% das amostras analisadas, todas com contagem acima do permitido pela legislação.

Analisando linguiça suína fresca em Pelotas-RS, Mata (2002) encontrou 72,5% de suas amostras contaminadas por *Staphylococcus* coagulase positiva, sendo que 20% destas estavam acima do permitido pela legislação. Assim como Marques et al. (2001) em Lavras, MG analisando linguiça fresca encontraram 25% das amostras contaminadas por ECP acima dos limites permitidos na legislação. Enquanto que no estudo feito por Almeida Filho e Sigarini (2002) encontraram 60% das amostras contaminadas com *Staphylococcus aureus*, sendo que destas, todas encontravam-se fora dos padrões exigidos na legislação.

Neste trabalho das 17 amostras que apresentaram contaminação acima do permitido, em 16 (94%) delas confirmou-se a presença de ECP. A diferença no índice de contaminação por *Staphylococcus* coagulase positiva acima do limite permitido pela legislação encontrado neste trabalho e no realizado por Mata (2002) pode ser consequência da proveniência dos produtos analisados, visto que neste trabalho foram analisadas linguiças suínas tipo fresca comercializadas tanto em feiras livre como em supermercados enquanto que Mata (2002) analisou apenas linguiças provenientes de feiras livre.

Como *Staphylococcus* spp. tem como habitat natural as vias aéreas superiores, mãos, cabelos e pele dos seres humanos, faz com que o manipulador torne-se uma fonte de contaminação. Por consequência disto, é possível que o fato de nos supermercados o fluxo de manipuladores ser maior que o observado nas feiras livres, onde a manipulação do produto é feita na maioria das vezes por uma pessoa apenas, seja uma das causas do alto índice de contaminação por este patógeno.

Cortez et. al. (2004) analisando vários tipos de linguiça tipo fresca, encontraram 4,8% das suas amostras contaminadas por ECP acima dos padrões permitidos pela legislação.

Assim como no trabalho realizado por Chaves et al. (2000) no Rio de Janeiro que encontraram 5% das amostras em desacordo com a legislação. Resultados pouco expressivos se comparados aos obtidos neste trabalho, o qual apresentou 27% das amostras contaminadas por ECP.

Nos últimos anos, vários *Staphylococcus* que contaminam produtos alimentares, incluindo a carne vermelha, tem sido implicados em surtos de intoxicação alimentar (BENITO et al., 2000; MIWA et al.,2001).

O índice de ECP nas amostras analisadas é bastante significativo, uma vez que a presença deste microrganismo significa risco a saúde do consumidor, pois são potencialmente patogênicos cujas toxinas são capazes de resistir a tratamentos térmicos como a pasteurização, podendo causar intoxicação alimentar.

Em todas as amostras analisadas foi detectada a presença de colônias características de *Salmonella* spp. (Fig.6) Essas amostras foram submetidas a provas bioquímicas e posteriormente ao teste sorológico para pesquisa do antígeno somático.

O índice de *Salmonella* spp. encontrado neste estudo é bastante preocupante, visto que 8 (13%) das amostras encontravam-se contaminadas por este microrganismo, uma vez que esta bactéria entérica é responsável por quadros graves de septicemia e infecções alimentares. As amostras de linguiça suína fresca cuja presença de *Salmonella* spp. foi confirmada pertenciam a três bancas de feira livre e a dois supermercados de Pelotas.

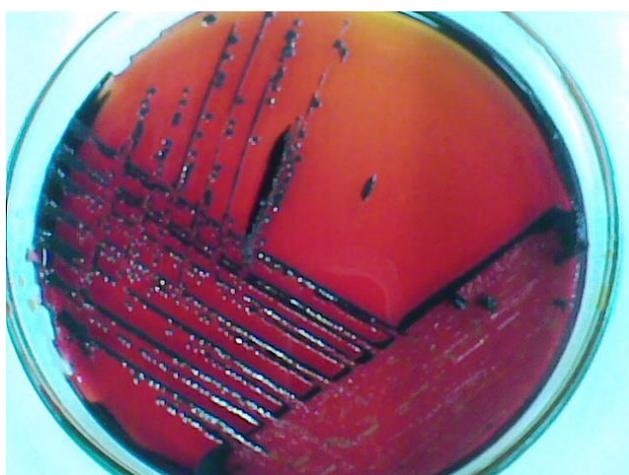


Figura 6 - Colônias pretas características de *Salmonella* spp. em meio seletivo Ágar Xylose Lysine Deoxycholate (XLD).

No Brasil, segundo a Secretaria de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde, foram confirmados 42,9% de casos de infecções por *Salmonella* spp. No Rio Grande do Sul, foram evidenciados vários surtos epidemiológicos entre os anos de 1987 e 1998, onde este microrganismo foi responsável por 32% dos casos (Rio Grande do Sul, 1998).

Silva et al. (2002), ao analisar linguiças mistas tipo frescal em Pelotas, RS, verificaram que cinco (17,86%) das 32 amostras estavam contaminadas com *Salmonella* spp. Resultados similares ao encontrado neste estudo, visto que das 60 amostras analisadas 13% apresentaram contaminação por *Salmonella* spp. Assim como nos resultados encontrados por Tessmann et al. (2001) que ao analisar linguiça suína comercializada em Pelotas,RS, encontrou *Salmonella* spp. em 20% das 25 amostras testadas.

Analisando linguiças mista tipo frescal, Sabione et al. (1999), verificaram a ocorrência de *Salmonella* spp em 17,9% das amostras obtidas em Ouro Preto (MG). Porém, em Lavras (MG) não foi isolada *Salmonella* spp. em nenhuma das 20 amostras de linguiças analisadas por Marques et al. (2001).

Diversas podem ser as fontes de introdução deste agente na cadeia alimentar, como condições inadequadas de abate e evisceração, nas quais as carcaças podem ser contaminadas por enterobactérias presentes no trato gastrointestinal (BORCH et al., 1996; TUTENEL et al., 2003).

Os resultados obtidos neste estudo vão de encontro aos padrões estabelecidos pela legislação, a qual preconiza a ausência de *Salmonella* spp. em 25 gramas de alimento (BRASIL, 2001), evidenciando que mesmo com a rigorosa vigilância ainda ocorrem falhas durante a elaboração do produto, visto que este requer inúmeras etapas de manipulação podendo haver contaminação em alguma das etapas de seu processamento, tornando-se um risco a saúde do consumidor, uma vez que este microrganismo possui alto grau de patogenicidade.

É importante ressaltar que todos os sorotipos desse gênero são patogênicos ao homem, apresentando apenas diferenças de sintomatologia em decorrência da variação no mecanismo de patogenicidade (GERMANO, 1993).

Embora se saiba que a *Salmonella* spp. presente nas amostras analisadas poderá ser inativada pelo processamento térmico do alimento, pode haver riscos de contaminação cruzada de outros alimentos em contato com a mesma superfície de

preparo onde linguiça suína frescal foi preparada, bem como a recontaminação desse alimento, após o tratamento térmico, não podem ser descartados.

O percentual das amostras positivas para *Salmonella* spp. pode ser visualizado na Fig. 7.

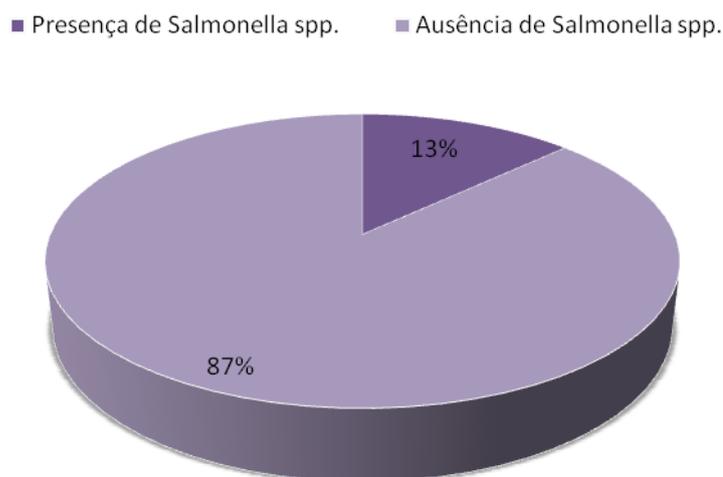


Figura 7 : Percentual de amostras positivas para *Salmonella* spp. isoladas de linguiça suína tipo frescal comercializada em Pelotas-RS, Brasil.

O alto índice de contaminação por microrganismos patogênicos das amostras analisadas pode ser explicado pela sua forma de produção, a qual requer inúmeras etapas, podendo ocorrer contaminação e proliferação dos microrganismos durante o preparo, a manufatura e o estoque do produto, visto que muitos refrigeradores são incorretamente ajustados operando acima da temperatura recomendada proporcionando o crescimento de microrganismos mesófilos como *Salmonella* spp.

As condições higiênicas dos estabelecimentos e dos utensílios utilizados na comercialização bem como a manipulação excessiva implicam diretamente nos resultados obtidos neste trabalho.

Outro fator importante, no que diz respeito a presença destes microrganismos na linguiça suína frescal, é a possibilidade de haver contaminação cruzada, uma vez que foi observado o uso do mesmo utensílio em todos os produtos comercializados, o que aumenta a chance de haver algum tipo de contaminação no produto, sendo um risco a saúde do consumidor.

O percentual de microrganismos patogênicos encontrados nos seis estabelecimentos selecionados para realização do estudo pode ser observado na Fig. 8.

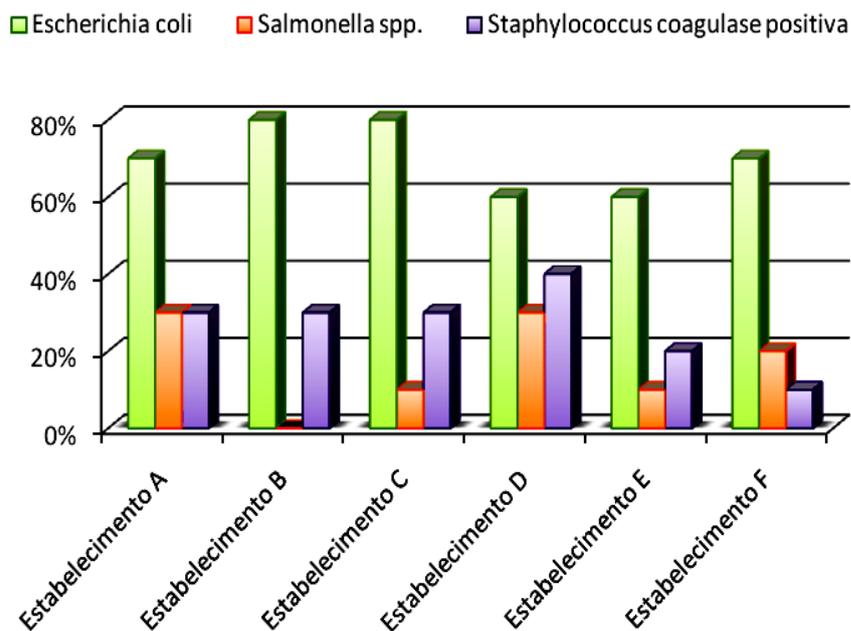


Figura 8: Percentual de microrganismos presentes nas amostras de linguiça suína tipo fresca comercializadas em Pelotas-RS.

6 CONCLUSÃO

Das 60 amostras analisadas, 50% apresentaram-se contaminadas por *Escherichia coli*.

27% das amostras analisadas apresentaram níveis de contaminação por *Staphylococcus* coagulase positiva acima do limite permitido pela legislação.

A presença de *Salmonella* spp. foi confirmada em 13% das amostras de linguiça suína frescal analisadas.

Os valores de contaminação encontrados neste trabalho indicam que pode estar havendo falhas durante o abate dos animais, o processamento da carne, bem como a manipulação inadequada do produto.

Evidencia-se a necessidade de uma fiscalização mais rigorosa e efetivo controle higiênico-sanitário no processamento desse tipo de alimento, bem como de seus manipuladores, evitando possíveis riscos para saúde do consumidor.

7 REFERÊNCIAS

ALMEIDA FILHO ES, SIGARINI CO. Características microbiológicas de linguiça frescal, produzida sob inspeção federal e sob condições artesanais, comercializada no município de Cuiabá-MT. **Higiene Alimentar**. 2002

AMARAL, L.A.; NADER FILHO, A.; LACAVA, P. M. Colimetria e pesquisa de *Staphylococcus aureus* em linguiças de carne suína do tipo frescal, comercializadas em Jaboticabal, SPP. **Higiene Alimentar**., v. 3, n 3/4, p. 211-214, 1984.

BAGGESEN, D. L.; WEGENER, H. C. Phage types of *Salmonella enterica* ssp. *enterica* serovar *Typhimurium* isolated from production animals and humans in Denmark. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 35, n. 4, p. 349-354, 1994.

BENITO Y, KOLB FA, ROMBY P, LINA G, ETIENNE J, VANDENESCH F. Probing the structure RNAIII, the *Staphylococcus aureus agr* regulatory RNA, and identification of the RNA domain involved in repression of protein A expression. *RNA* **6**: 668–679, 2000.

BERENDS, B. R.; VAN KNAPEN, F.; MOSSEL, D. A. A. et al. Impact on human health of *Salmonella* spp. on pork in The Netherlands and the anticipated effects of some currently proposed control strategies. **International Journal of Food Microbiology**, v. 44, n. 3, p. 219-229, 1998.

BETTELHEIM, K.A. et al. The diversity of *Escherichia coli* serotypes and biotypes in cattle faeces. **Journal of Applied Microbiology**, v.98, p. 699-709, 2005.

BEZERRA, W.I.; MARTINS, T.D.D.; BATISTA, E.S.; SANTOS, J.G.; ARRUDA, J.C.B.; MOREIRA, R.T.; SILVA, L.P.G. Qualidade microbiológica de linguiça mista tipo frescal comercializada no município de Sertãozinho-PB, Brasil. In: **II Jornada Nacional da Agroindústria**, Bananeiras, 2007.

BORCH, E.; NESBAKKEN, T.; CHRISTENSEN, H. Hazard identification in swine slaughter with respect to food borne bacteria. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 30, n. 1/2, p. 9-25, 1996.

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução nº12, de 02 de Janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da Republica Federativa do Brasil**, Brasil, nº7 – E, P 46-53, Seção I, 10 de Janeiro de 2001.

CALDERON, D. F.; FURLANETO, S. M. P. Análise bacteriológica de carne suínas comercializadas em açougues da cidade de São Paulo. **Higiene Alimentar**, v.21, n.4, p. 331-336, 1990.

CARVALHO, J.C.A.P.; OLIVEIRA, L.A.T.; FRANCO, R.M. Incidência de coliformes totais e fecais em embutido frescal (lingüiça) comercializada na cidade de Niterói. **Higiene Alimentar**, v.4, n.2/3, p.136-137,1985.

CAMPOS, L.; TRABULSI, R.T.; ALERTHUM, F.; CANDEIAS, J.N.; GOMPETZ, O.F. **Microbiologia**, 3ª ed, 586 p. , São Paulo: Ed. Atheneu, 1999.

CHAVES,G.M.C.; GONÇALVES, P.M.R.; FRANCO, R.M.; CARVALHO, J.C.A.P. Avaliação Microbiológica de lingüiça frescal suína comercializada no Município do Rio de Janeiro-RJ. **Higiene Alimentar**, v.14, n.73, p.48-52, 2000.

CORTEZ, A.L.L.; CARVALHO, A.C.F.B.; AMARAL, L.A.; SALOTTI, B.M.; VIDAL-MARTINS, A.M.C. Fecal coliforms, coagulase positive staphylococci (CPS), *Salmonella* spp. and *Campylobacter* spp. in fresh sausage. **Alim. Nutr.**, Araraquara, v. 15, n. 3, p. 215-220, 2004.

D'AOUST, J.; MAURER, J.; BAILEY, J.S. *Salmonella* Species. In: DOYLE, G.L.; ABRAHAM, A.G.; ANTONI, G.L. **Food Microbiology – Fundamentals and Frontiers**. 2nd ed. Washington: ASM, p.141-178, 2001.

EL-KHATEIB, T. Microbiological status of Egyptian salted meat (Blaterma) and fresh sausage. **J. Food Saf.**, v. 17, p. 141-150, 1997.

EVANGELISTA J. **Tecnologia de Alimentos**, Ed. Atheneu, São Paulo-SP,2000.

FORSYTHE S.J. **Microbiologia da segurança alimentar**, Editora ArtMed, Porto Alegre-RS, 424p., 2002.

FRANCO, BDGM. & LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**, Ed. Atheneu, São Paulo,182p., 2006.

GIOVANNINI, A.; PRENCIPE, V.; CONTE, A. Quantative risk assessment of *Salmonella* spp. infection for the consumer of pork products in an italian region. **Food Control**, v.15, p.139-144, 2004.

GERMANO P. M. L. Prevenção e controle das toxinfecções de origem alimentar **Higiene Alimentar**. 1993.

HOBBS, B. C. e ROBERTS, D. **Toxinfecções e controle higiênico-sanitário de alimentos**. 4. ed. São Paulo: Varela, 1998. 376 p.

HOFFMANN, F. L.; GARCIA-CRUZ, C. H.; GODOY, J. H. F.; VINTURIM, T. M. Análise microbiológica e sensorial de lingüiça de frango produzida artesanalmente. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, São Paulo, v. 14, n. 1, p. 40-45, 1996.

HOLT J.G., KRIEG N.R., SNEATH P. H. A. **Bergey's manual of determinative Bacteriology**. 9th ed. – Baltimore: Williams and Wilkins, 1994. – 787 p.

JAY, J.M. **Microbiologia moderna de los alimentos**, 3ª ed., Ed. Acribia S.A. Zaragoza, p. 279-513, 1992

KONEMAN, E.W.; ALLEN, S.D.; JANDA, W.M.; SCHRECKENBERGER, P.C.; JUNIOR, W.C.W. **Diagnóstico Microbiológico – Texto e Atlas Colorido**. 5.ed., Rio de Janeiro: Medsi, 2001, 1466p.

LACONHA I., BAGESSEN D.L., REMENTERIA A., GARAIJAR J. 2000. **Genotypic characterization by PFGE of Salmonella Enterica serotype Enteritidis phage types 1, 4, 6 and 8 isolated from animal and human source in three European countries**. *Veterinary Microbiology*. 75:155-165.

LOPALCO P. L., GERMINARIO C., DI MARTINO V., FRISOLI L., PAGANO A., QUARTO M., BARBUTI S. 2000. **Epidemiologic study and cost analisys of an Salmonella Enteritidis epidemic**. *Annali d'igiene*. 12: 279-285.

MANCHA, J. S. *Salmonella* spp. en tres tipos de chorizos como peligro dentro de un sistema de análisis de riesgos e identificación de puntos críticos de control (HACCP), en una empacador de la ciudad de México. **Vet. Méx.**, v. 30, n. 2, p. 157-165, 1999.

MARQUES, S.C. ; BOARI, C. B.; BRCKO, C. C.;NASCIMENTO, A. R.; PICCOLI, R. H.Qualidade higiênico-sanitária de lingüiças tipo frescal comercializadas no município de Lavras (MG). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 21, Foz do Iguaçu, 2001. **Resumos...** Foz do Iguaçu: Armazém das Letras, 2001. p. 394.

MATA, M.M. **Avaliação miicrobiologica de lingüiça suína frescal comercializada em feira-livre na cidade de Pelotas-RS**,In: Monografia apresentada a Universidade Federal de Pelotas, Pelotas,2002, p. 57

MENDONÇA, C.; GRANADA, G.G. Coliformes em Açougues de Pelotas-RS, **Revista Brasileira de Agrociência**, v.5, n.1, p.76-77, 1999.

MIWA, N.; KAWAMURA, A.; MASUDA, T.; AKIYAMA, M. Na outbreak of food poisoning due to egg yolk reaction-negative *Staphylococcus aureus*. **International Journal of Food Microbiology**, v. 64, p. 361-366, 2001.

MOREIRA, F.C. Qualidade microbiológica na linha de processamento de lingüiça mista. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 21, Foz do Iguaçu, 2001. **Resumos...** Foz do Iguaçu: Armazém das Letras, 2001. p. 369.

NORMANO, G.; FIRINU, A.; VIRGILIO, S.; *et al.*, Coagulase-positive Staphylococci and *Staphylococcus aureus* in food products marketes in Italy. **International Journal Food Microbiology**. v.98, p.73-79, 2005.

OLIVEIRA, L. A. T.; FRANCO, R. M.; CARVALHO, J. C. A. P. *Enterobacteriaceae* em especiarias utilizadas na elaboração de embutidos cárneos. **Hig. Alim.**, v. 6, n. 22, p. 27-33, 1992.

PARDI, M. C.; SANTOS, I. F.; SOUZA, E. R.; PARDI, H. S. **Ciência, higiene e tecnologia da carne: tecnologia da sua obtenção e transformação**. Goiânia: Universidade de Goiás, 1993, v. 1, 586 p.

PARRY, C. M. Antimicrobial drug resistance in *Salmonella enterica*. **Current Opinion in Infectious Diseases**, v. 16, n. 5, p. 467-472, 2003.

PINTO, A.F.M.A: **Doenças de origem microbiana transmitidas pelos alimentos**. Disponível em: <www.ipv.pt/millenium/ect4_1.htm>. Acessado em julho de 2009.

RÊGO, J.C.; STAMFORD, T.L.M; PIRES, E.M.F.; JUNIOR, E.A.S. Prroposta de um programa de boas praticas de manipulação e processamento de alimentos para unidades de alimentação e nutrição. **Revista Higiene Alimentar**, vol. 15, nº89, p.22-27, 2001.

RIO GRANDE DO SUL. Secretaria Estadual de Saúde e do Meio Ambiente. Divisão de Vigilância Sanitária. **Relatórios anuais de enfermidades transmitidas por alimentos (ETA) - 1987-1998**. Porto Alegre, 1998.

RITTER PL, STEWART AL, KAYMAZ H, SOBEL DS, BLOCK DA, LORIG KR. Self-reports of health care utilization compared to provider records. **J Clin Epidemiol** 2001 Feb;54(2):136-141.

RODRIGUES, R.A.; TERRA, N.N.; FRIES, L.L.N. Lactato de sódio, um conservante natural no processamento de lingüiça frescal. **Higiene Alimentar**. São Paulo, v.14, n.75, p.56-21, 2000.

SABIONI, J.G. et al. Avaliação microbiológica de lingüiça frescal comercializada na cidade de Ouro Preto, MG. **Higiene Alimentar**. v.12, n.61, 1999, p.110-112.

SILVA, C.A.; SOUZA, E.L.; SOUZA, C.P. Estudo da qualidade sanitária de carne moída comercializada na cidade de João Pessoa, PB. **Higiene Alimentar**, vol. 18, nº126, p.90-95, 2004.

SILVA, C.R.B.; BARROS, J.J.C.; MIRANDA, F.A.; ROSSI, D.A. Efeito do congelamento e resfriamento na preservação de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, inoculadas em carne moída bovina estocada para investigação de surtos de toxinfecção alimentar. **Higiene Alimentar**, v.19, n.128, p.95-98, 2005.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de métodos de análises microbiológica de alimentos**. São Paulo: Varela, 1997,295p.

SILVA, W. P.; GANDRA, E. A.; DUVAL, E. H.; JANTZEN, M. M.; TESSMANN, C.; LIMA, A. S. Qualidade microbiológica de linguiças mistas tipo frescal produzidas na cidade de Pelotas (RS). **B. CEPPA**, v.20, n.2, p.257-266, 2002.

SILVA, W. P.; LIMA, A. S.; GANDRA, E. A.; ARAÚJO, M. R.; MACEDO, M. R. P. DUVAL, E. H. *Listeria* spp. no processamento de linguiça frescal em frigoríficos de Pelotas, RS, Brasil. **Ciência Rural**, v.34, n.3, p.911-916, 2004.

SILVA Jr., E. A. **APPCC na qualidade e segurança microbiológica dos alimentos: análise de perigos e pontos críticos de controle para garantir a qualidade e a segurança de alimentos**. União Internacional das Sociedades de Microbiologia. São Paulo: Varela, 1997, 377p.

SHINOHARA, N.K.S. *Salmonella* spp., importante agente patogênico veiculado em alimentos. **Cadernos de Saúde Pública**, São Paulo, v.13, n.5, p.1675-1683, 2008.

TESSMANN, C.; LIMA, A. S.; DUVAL, E. H.; MACEDO, M. R. P.; SILVA, W. P. Prevalência de *Salmonella* sp. e *Staphylococcus aureus* em linguiças do tipo frescal derivadas de carne suína. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 21., 2001, p.390.

TORTORA, G.J.; FUNKE, B.R.; CASE, C.L. **Microbiologia**. 8.ed., Porto Alegre: Artmed, 2005. 894p.

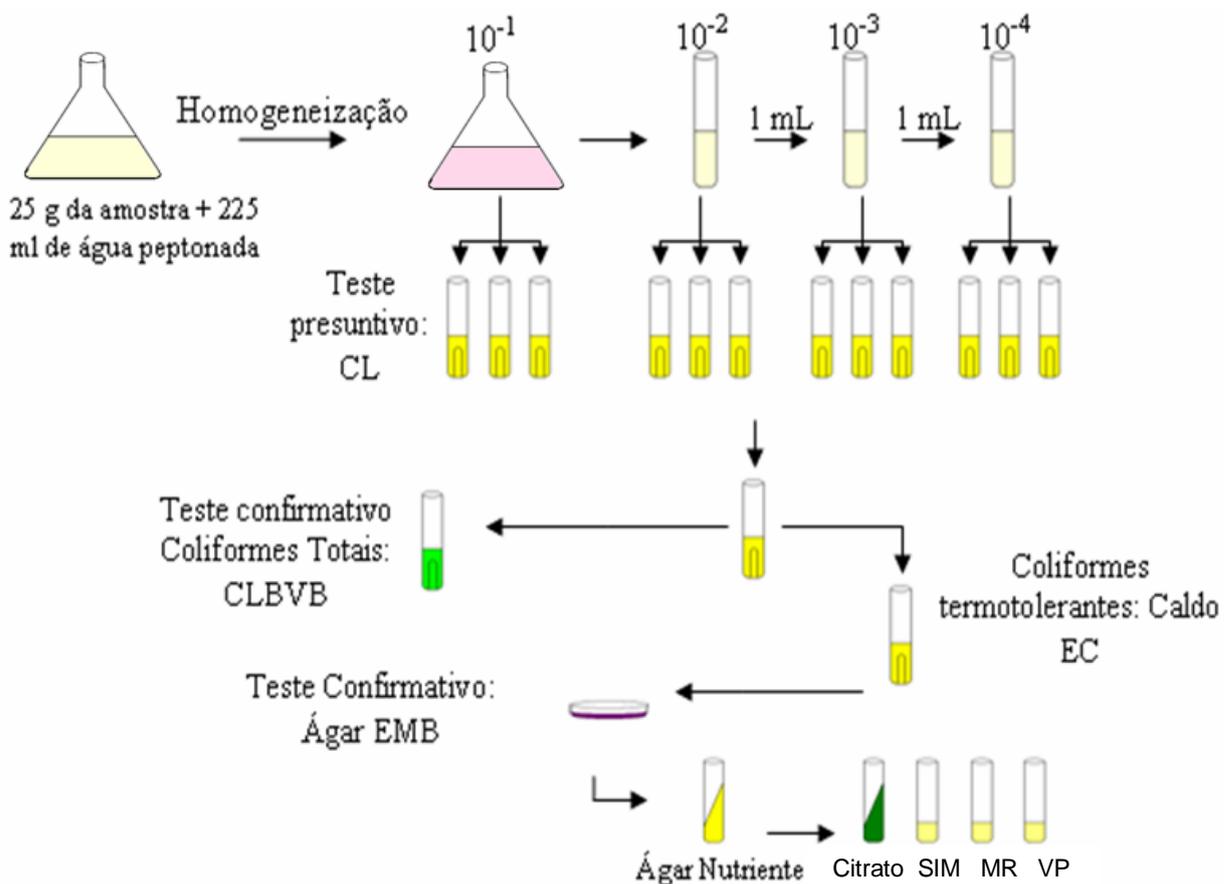
TUTENEL, A. V.; PIERAD, D.; HOFF, J. V.; CORNELIS, M.; ZUTTER, L. Isolation and molecular characterization of *Escherichia coli* O157 isolated from cattle pigs and chickens at slaughter. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. **84**, n. **1**, p. 63-69, 2003.

UKUKU DO. Effect of sanitizing treatments on removal of bacteria from cantaloupe surface, and recontamination with *Salmonella*. **Food Microbiology** 2006; 23(3):289-293.

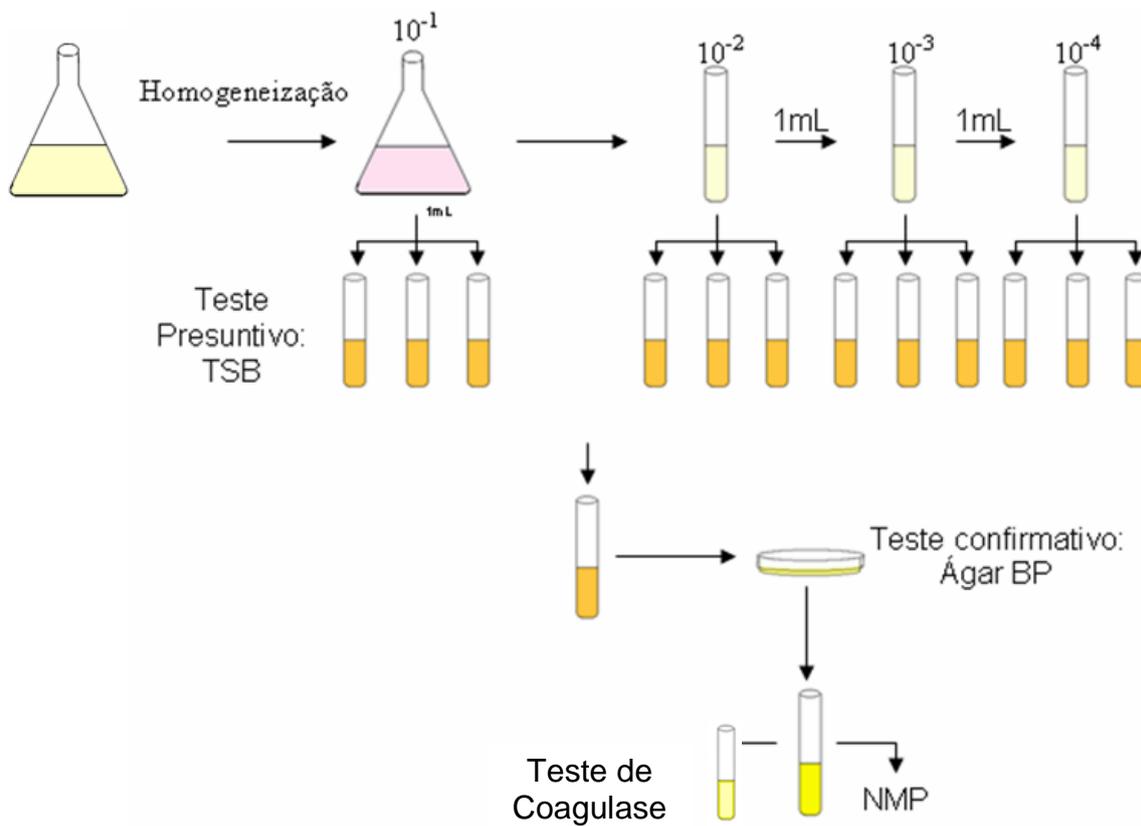
WEGENER, H.C.; BAGER, F. Pork as a source of human salmonellosis. In: **INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON EPIDEMIOLOGY AND CONTROL OF SALMONELLA IN PORK**, 2., 1997, Copenhagen. Proceedings. Copenhagen: [s.n], 1997. p. 3-8.

ANEXOS

Anexo 1 - Esquema de análise para contagem de coliformes totais e termotolerantes pelo método do Número Mais Provável e identificação de *Escherichia coli*.



Anexo 2 - Esquema de análise pelo Número Mais Provável para identificação de *Staphylococcus coagulase positiva*.



Anexo 3 - Metodologia para isolamento e identificação de *Salmonella* spp.