



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Instituto de Biociências de Botucatu

Departamento de Microbiologia

**Análise higiênico-sanitária de produtos cárneos
comercializados na cidade de Botucatu**

Orientadora: Profa. Dra. Vera Lúcia Mores Rall

Aluna: Ana Claudia Simões

Botucatu

2011

Ana Claudia Simões

Análise higiênico-sanitária de produtos cárneos comercializados na cidade de Botucatu

Monografia apresentada ao Departamento de Microbiologia/Imunologia do Instituto de Biociências – UNESP, Campus de Botucatu, para a obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientadora: Prof^a. Dra. Vera Lúcia Mores Rall

BOTUCATU – SP

2011

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE

Simões, Ana Claudia.

Análise higiênico-sanitária de produtos cárneos comercializados na cidade de Botucatu /Ana Claudia Simões. – Botucatu : [s. n.], 2011

Trabalho de conclusão de curso (bacharelado - Ciências Biológicas) -
Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Botucatu

Orientador: Vera Lúcia Mores Rall

Capes: 21201021

1. Carne – Inspeção – Aspectos higiênicos. 2. Carne – Qualidade.

Palavras-chave: Carne; Coliformes termotolerantes; Qualidade higiênico-sanitária; *Salmonella*.

Este trabalho de conclusão de curso está apresentado na forma de um artigo científico, redigido segundo as normas da revista “Higiene Alimentar”.

Análise higiênico-sanitária de produtos cárneos comercializados na cidade de Botucatu

Hygienic sanitary analysis of meat products marketed in Botucatu city

Simões, A. C.^{1*}, Rall, V.L.M.¹

¹ Departamento de Microbiologia e Imunologia, Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, caixa posta 510, cep 18618-970, Botucatu, São Paulo.

*anaa.csimoes@gmail.com

Resumo

O Brasil é um dos maiores produtores de proteína de origem animal. Em 2010, a produção de carnes (bovina, suína e de aves) foi estimada em 24,5 milhões de toneladas, sendo que 75% foi consumida no país. A carne é uma fonte primária de água, gordura e contém entre 20% e 35% de proteínas, fornecendo todos os aminoácidos essenciais e vários micronutrientes e vitaminas. Devido ao grande consumo desse alimento, sua qualidade é extremamente importante e a pesquisa de alguns micro-organismos indicadores torna-se imprescindível, para a avaliação da qualidade higiênico-sanitária dos alimentos, apontando contaminação de origem fecal, com a possível presença de patógenos ou para identificar a deterioração do alimento. Desse modo, o estudo teve como objetivo determinar a qualidade higiênico-sanitária de 90 amostras de carnes e produtos cárneos manipulados e pré-preparados, comercializados na cidade de Botucatu - SP, segundo os parâmetros exigidos pela ANVISA (RDC nº 12, 2001). Dentre as amostras analisadas todas foram negativas para a enumeração de *Staphylococcus* coagulase positiva e estavam dentro do limite permitido pela ANVISA para a presença de *Clostridium* sulfito redutor (até 3×10^3 UFC/g). A presença de *Salmonella* foi confirmada em apenas uma das amostras (1,1%), contrariando os parâmetros legais. Em relação aos coliformes termotolerantes, 54,40% das

amostras estavam fora do limite aceitável pela legislação (até 5×10^3 NMP/g). Portanto, a presença desses de patógenos e dos micro-organismos indicadores apontam condições inadequadas de higiene dos manipuladores e equipamentos utilizados na produção desses alimentos, os quais são considerados impróprios para o consumo.

Palavras-chave: carne, qualidade higiênico-sanitária, Coliformes termotolerantes, *Salmonella*.

Abstract

Brazil is one of the largest producers of animal protein. In 2010, the production of meat (beef, pork and poultry) was estimated at 24.5 million tons and 75% was consumed in the country. The meat is a primary source of water and fat and contains between 20% and 35% protein, providing all essential amino acids and several micronutrients and vitamins. Due to the large consumption of this food, its quality is extremely important and the research of some indicators microorganism become essential in order to ensure the hygienic and sanitary quality, indicating contamination of fecal origin, with the possible presence of pathogens or to identify food spoilage. Thus, the aim of study was to determine the microbiological quality of 90 samples handled meat products and pre- prepared marketed in Botucatu city, according to the parameters required by ANVISA (RDC ° 12, 2001). Among the samples analyzed, all of them were negative for *Staphylococcus* coagulase positive and were within the limit allowed by ANVISA for the *Clostridium* sulfite reducer (up to 3×10^3 CFU/ g). The presence of *Salmonella* was confirmed in only one sample (1.1%), against to the legal parameters. About thermotolerant coliforms, 54.4% of the samples were outside the acceptable limit by law (up to 5×10^3 MPN/g). Therefore, the presence of these microorganisms indicates inadequate hygiene conditions of foodhandlers and equipment used in the, which are considered inadequate for consumption.

Keywords: Meat, hygienic sanitary quality, Thermotolerant coliforms, *Salmonella*.

1. INTRODUÇÃO

Segundo dados do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), o Brasil é um dos maiores produtores mundial de proteína animal e tem no mercado interno o principal destino de sua produção, pois, de toda a produção de carnes (bovina, suína e de aves) em 2010, estimada em 24,5 milhões de toneladas, 75% foi consumida no país. Em 2010, o consumo *per capita* de carnes aumentou em relação ao ano anterior chegando a 37,4 kg para carne bovina; 43,9 kg de carne de aves e 14,1 kg de carne suína (MAPA, 2011).

A carne é uma fonte primária de água e gordura e contém entre 20% e 35% de proteína, fornecendo todos os aminoácidos essenciais (lisina, treonina, metionina, fenilalanina, triptofano, leucina, isoleucina e valina) e vários micronutrientes (CONSELHO NACIONAL DE SAÚDE E DE PESQUISAS MÉDICAS, 2006). É uma fonte de fácil absorção de ferro, zinco e selênio e contém níveis satisfatórios de vitaminas B6 e B12 e vitamina D e significativa quantidade de ácidos graxos poliinsaturados, como ômega 3. Assim, é uma valiosa fonte de alguns nutrientes essenciais (FERGUSON, 2010)

Devido ao grande consumo desse alimento, além da tendência mundial de aumento de consumo, a qualidade desses produtos é extremamente importante, sendo uma preocupação dos órgãos de saúde pública, das indústrias alimentícias e dos próprios consumidores (RALL et al., 2009).

A pesquisa de alguns micro-organismos indicadores é utilizada para avaliar a qualidade higiênico-sanitária dos alimentos e apontar contaminações de origem fecal, com a provável presença de patógenos ou identificar a deterioração do alimento (FRANCO & LANDGRAF, 1996).

A contaminação de um alimento ocorre pela introdução ou ocorrência de um contaminante (qualquer agente biológico ou químico, matéria estranha ou outra substância não adicionada intencionalmente aos alimentos que pode comprometer a segurança alimentar) (ORGANIZAÇÃO DA AGRICULTURA E ALIMENTOS, 1999) e a carne é um produto passível de contaminação em todas as fases do processamento (ISARA et al., 2010).

Os principais fatores responsáveis pela ocorrência de surtos de toxinfecção alimentar são o resfriamento inadequado de alimentos, ingestão de

alimentos crus ou ingredientes contaminados, combinação inadequada de tempo/temperatura durante o tratamento térmico, contaminação cruzada entre alimentos crus e cozidos, período de tempo superior a um dia entre o preparo e o consumo, limpeza inadequada de equipamento e utensílios, desrespeito a cadeia quente e manipulação do alimento por pessoas infectadas (BRYAN, 1981). Os alimentos mais comumente adquiridos pelo consumidor já contaminados são os ovos, frango e carne bovina (ALMEIDA et al., 2008).

A crescente incidência de toxinfecções alimentares está relacionada a diversos fatores como a modificação no estilo de vida e hábitos alimentares dos consumidores, levando a um aumento no consumo de alimentos industrializados ou produzidos fora do lar; alterações nas práticas de produção, distribuição, armazenagem e preparo dos alimentos; adaptação dos micro-organismos frente às adversidades ambientais; uso indiscriminado de antimicrobianos e maior facilidade de diagnóstico das doenças de origem alimentar, devido à evolução tecnológica, entre outros (POTES, 2007)

As doenças de origem alimentar é um dos principais problemas de saúde, pois até um terço da população dos países desenvolvidos são afetados por doenças transmitidas por alimentos a cada ano. O problema é ainda maior nos países em desenvolvimento, onde os pobres são mais suscetíveis às doenças e à morte, onde se estima que ocorra óbito de 2,2 milhões de pessoas anualmente, a maioria sendo crianças (MENSAH et al., 2002).

No Brasil, as doenças infecciosas, parasitárias e do aparelho digestivo corresponderam a 9,2% do total de casos de mortalidade, sendo as regiões do Norte e Nordeste as mais afetadas (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2004)

Segundo a Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde, numa análise feita entre os anos 1999 – 2009, foram notificados 6.349 surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTAs), envolvendo 123.917 doentes e 70 óbitos, ressaltando que 41,1% desses surtos foram causados por bactérias. Os agentes etiológicos mais freqüentes associados aos surtos foram *Salmonella* sp responsável por 42,2% (1313 surtos) *Staphylococcus* sp, por 20,5% (635 surtos); *Bacillus cereus* por 7% (219 surtos); *Clostridium perfringens* por 4,9 % (154 surtos) e *Salmonella* Enteritidis por 4,1% (129 surtos). Os alimentos mais associados aos surtos foram ovos e seus produtos

(22,8%), alimentos mistos (de origem animal e vegetal) com 16,3% e carne vermelha e derivados, com 11,7%.

No Rio Grande do Sul, nos anos de 2006 e 2007, foram investigados 186 surtos, sendo o agente etiológico encontrado em 104 (56%). Os micro-organismos identificados com maior frequência foram *Salmonella* sp (37%), *Estafilococos* coagulase positiva (28%) e *Escherichia coli* (22%). Os principais alimentos envolvidos nesses surtos foram produtos cárneos (36%), pratos preparados (20%) e saladas (15%) (WELKER et. al., 2010).

No período de 1999 a 2008, cinquenta e dois municípios do Paraná (13%) notificaram 286 surtos de salmonelose, nos quais 5.641 pessoas foram expostas e 2.027 (35,9%) manifestaram os sintomas da doença, com 881 (16,3%) hospitalizações. Dos alimentos associados aos surtos, 45% foram alimentos à base de ovos (84), 34,8% carnes e derivados (65) e 20,2% foram alimentos variados, tais como queijos (1,0%), saladas (4,8%), arroz cozido, extrato de tomate, fritas, mandioca, *mousse*, pudim, sorvetes, farofa, pavê e massas prontas (14,4%) (KOTTWITZ et. al., 2010).

No Brasil, a subnotificação de casos de infecções por *Salmonella* representa um grave problema, pois os números divulgados pelos órgãos de vigilância sanitária parecem não corresponder à realidade. Mesmo assim, estimativas sobre a frequência de infecções por esse micro-organismo permitem sugerir um coeficiente de casos de 145/100.000 habitantes (EDUARDO et al., 2004). Nos Estados Unidos, a salmonela infecta cerca de 1,4 milhões de pessoas por ano (MEAD et. al., 1999). No Brasil, dentre as DTAs mais conhecidas, a salmonelose aparece como a principal causadora de surtos, no período de 1999 a 2008 (SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE, 2008).

Um estudo para determinar a incidência de *Staphylococcus aureus* foi realizado em cafeterias de Valença (Espanha) e das 705 refeições estudadas, 81 (11,1%) apresentaram estafilococos coagulase positivo, com contagens de até 10^4 UFC/g, sendo que as maiores contagens foram registradas em pratos como salada russa, almôndegas, croquetes de frango e salada, alimentos muito manipulados (SORIANO et al., 2002).

Produtos alimentícios comercializados na Itália foram testados para detectar a presença de estafilococos coagulase positivo e *Staphylococcus*

aureus. Das 5.369 amostras de produtos cárneos (carne moída/hamburger, preparações de carne fresca, carne curada, entre outros), 1.245 (23,1%) estavam contaminadas com o estafilococos coagulase positiva e de 148 cepas selecionadas para identificação, 146 foram confirmadas com *S. aureus*, dos quais 66 (45,2%) foram enterotoxigênicas (NORMANNOA et al., 2005).

Na cidade de Gaborone, em Botsuana, sul da África, foi feito um estudo sobre a prevalência de *Salmonella* em 122 amostras de carne moída crua e 24 (20%) apresentaram positividade para esse micro-organismo (MREMA et al., 2006). Em Ribeirão Preto, durante um período de três anos, (SILVA et al., 2008) analisaram 116 amostras de alimentos, principalmente a base de carne, das quais 13 (11,2%) estavam contaminadas por *S. aureus*, seguido de *Bacillus cereus*, clostrídio sulfito redutor e *Salmonella* sp. ou apresentaram associação de dois micro-organismos potencialmente patogênicos.

Em restaurantes de *fast-food*, na cidade de Benin (Nigéria), através de entrevistas com 350 manipuladores de alimentos, foi observado que mais da metade dos entrevistados (52,6%) não receberam qualquer treinamento sobre higiene e segurança alimentar. Através das amostras de alimentos prontos para o consumo, obtidas de 55 restaurantes, *Bacillus cereus* e *S. aureus* foram as bactérias mais comumente isoladas, enquanto salada, torta de carne e arroz frito, os alimentos mais comumente contaminados (ISARA et al., 2010).

Na Grécia, foram analisadas 428 amostras de carne crua e produtos cárneos processados durante três anos (2004 – 2007). As carnes cruas eram de ovelhas, cabra, de porco, bovina e de frango e os produtos cárneos incluíam filés de peru, salame, picadinho pronto para o consumo, carne recheada e *roast-beef*. O patógeno mais comumente isolado foi *E. coli*, isolada de todos os tipos de carne. *S. aureus* foi encontrada em carne bovina, suína e de cabra/cordeiro e *Salmonella* e *Campylobacter jejuni*, somente em carne de frango (GOUSIA et al., 2011).

Staphylococcus aureus

Staphylococcus aureus são cocos Gram-positivos, que se agrupam formando cachos (HUONG et al., 2010), sendo um dos principais causadores de intoxicação de origem alimentar (SCHERRER et al., 2004). Os alimentos associados geralmente são ricos em proteínas e submetidos à manipulação extensa, muitas vezes em combinação com aquecimento inadequado e/ou armazenamento inapropriado dos alimentos (LE LOIR et al., 2003).

Em humanos, o habitat principal de *S. aureus* é, principalmente, a mucosa da nasofaringe, onde pode ocorrer como um membro persistente ou transitório da microbiota, sem causar qualquer sintoma. Manipuladores de alimentos com hábitos inadequado de higiene podem transferir o micro-organismo para os alimentos. Se forem toxigênicos e houver tempo e temperatura, podem causar intoxicações de origem alimentar (FUEYO et al., 2005). Os principais sintomas da intoxicação são vômitos e diarreia, podendo ocorrer também náuseas, cólicas abdominais e sudorese. Estes sintomas, que têm curta duração, variam com o grau de susceptibilidade do indivíduo e com a quantidade ingerida. O período de incubação da doença pode variar de 30 minutos até 8 horas, porém, na maioria dos casos, os sintomas aparecem entre 2 a 4 horas após a ingestão do alimento contaminado (JABLONSKY & BOHACH, 1997).

Na Coreia, 30% dos incidentes de intoxicação alimentar estafilocócica, entre 2001 e 2006 envolveram carne e produtos cárneos, de acordo com a Coreia Food and Drug Administration (KIM et al., 2009).

Enterotoxinas estafilocócicas são exoproteínas hidrossolúveis, com peso molecular de 26 a 29 KDa, caracterizadas por uma ponte dissulfeto, próximo ao centro da molécula (BERGDOLL & ROBBINS, 1973), e são altamente resistentes ao calor (ICMSF, 1996). Portanto, medidas para evitar a multiplicação de *S. aureus* são importantes porque as temperaturas normais utilizadas na culinária para aquecimento não destroem as toxinas e alimentos contendo enterotoxinas estafilocócicas em geral apresentam aparência e sabor normal (BERGDOLL, 1990). Além dos cinco tipos clássicos (SEA, SEB, SEC, SED e SEE), várias outras enterotoxinas já foram identificadas (SEG, SEH, SEI, SEJ, SEK, SEL, SEM, SEN, SEO, SEQ, SER e SET, SEU) (STEPHAN et al., 2001.; KUZMA et al., 2003; ZSCHÖCK et al., 2005).

Clostrídios Sulfito- Redutores

O grupo clostrídios sulfito- redutores (CSR) pertence à família Bacillaceae e ao gênero *Clostridium*, são bacilos Gram positivos esporulados, podem ser móveis, proteolíticos ou não (BOURGEOIS et al., 1994). De acordo com Franco & Landgraf, (2006), a principal fonte dessas bactérias é o solo. As duas espécies de interesse patogênico em alimentos são *Clostridium perfringens* e *C. botulinum*. Os CSR são indicadores higiênicos e, em grande quantidade, podem causar doença no ser humano (SILVA JUNIOR, 2002).

Os veículos de transmissão dos esporos de *Clostridium perfringens* são geralmente carnes cozidas e produtos avícolas onde os esporos sobreviveram ao processo de cozimento (JUNEJA et al., 2010). O tempo e a temperatura inadequados durante a cocção e o resfriamento lento podem permitir a germinação de esporos de *C. perfringens* tipo A e posterior multiplicação rápida de células vegetativas entre 40° C e 50° C (tempo de duplicação de menos de 10 minutos foi relatado em carne por LABBÉ & HUANG, 1995).

Em 1998, ocorreu um surto na Argentina, associado ao consumo de matambre, uma carne enrolada, por temperatura de refrigeração inadequada, que permitiu o crescimento do *C.botulinum* e a produção de toxinas do tipo A (VILLAR et al., 1999).

Segundo Adak et al., (2002), na Inglaterra e no País de Gales, *C. perfringens* foi a segunda causa mais comum das doenças transmitidas por alimentos e a segunda causa de morte mais freqüente associado a essas doenças, depois da *Salmonella*.

Salmonella

O gênero *Salmonella* pertence a família Enterobacteriaceae, sendo bacilos Gram-negativos, a maioria móveis (exceção *S. Gallinarum* e *S. Pullorum*), não produtores de esporos. São anaeróbios facultativos, produzem gás a partir da glicose (exceto *S. Typhi*) e são capazes de utilizar o citrato como única fonte de carbono. A temperatura ideal para multiplicação da *Salmonella* é 35 - 37° C, sendo a mínima de 5° C e a máxima 47° C. Vários estudos indicam, no entanto, que valores máximo e mínimo dependem do sorotipo. As doenças causadas por *Salmonella* costumam ser divididas em três grupos: a febre tifóide, causada por *Salmonella Typhi*, as febres entéricas,

causadas por *Salmonella* Paratyphi (A, B, C) e as enterocolites (ou salmoneloses), causadas pelas demais salmonelas, classificadas em mais de 2.500 sorotipos (FRANCO & LANDGRAF, 2001).

A febre tifóide, causada por *Salmonella* Typhi só acomete o homem e, normalmente, a forma de disseminação da infecção é interpessoal e através da água e alimentos contaminados com material fecal humano. Os sintomas são muito graves e incluem septicemia, febre alta, diarreia e vômitos. Após a infecção, os indivíduos podem se tornar portadores por meses ou anos, constituindo uma fonte contínua de infecção. O período de incubação usualmente varia de 7 a 21 dias e a duração da doença pode chegar a oito semanas (SHINOHARA et al., 2008).

A *Salmonella* Paratyphi A, B ou C é o agente etiológico da febre entérica, cujos sintomas clínicos são mais brandos em relação à febre tifóide, podendo evoluir para septicemia e freqüentemente desenvolver um quadro de gastroenterite, febre e vômitos (SHINOHARA et al., 2008).

Os sintomas das salmoneloses incluem dores abdominais, diarreia, febre baixa e vômito, sendo raro os casos clínicos fatais. Os sintomas aparecem de 12 a 36 horas, podendo durar até 72 horas, não necessitando de tratamento com antibióticos. Trata-se da manifestação mais comum de infecção por *Salmonella* e os alimentos mais incriminados são carne bovina, aves, suínos e ovos crus (SHINOHARA et al., 2008).

Coliformes

Os coliformes totais são enterobactérias comumente encontradas no trato intestinal de humanos e de outros animais. São bastonetes Gram negativos, não formadores de esporos, aeróbios ou anaeróbios facultativos, e que fermentam a lactose com formação de gás em 48 h/35°C. Elas também podem ser isoladas do solo, água e vegetais. (VANDERZANT & SPLITTSTOESSER et al., 1992). A quantificação de coliformes totais é utilizada para avaliar as condições higiênicas do produto, pois em alto número, indica a contaminação decorrente de falha durante o processamento, limpeza inadequada ou tratamento térmico insuficiente. Já a detecção de elevado número de bactérias do grupo dos coliformes termotolerantes em alimentos é interpretada como indicativo da possível presença de patógenos intestinais,

visto que a população deste grupo é constituída, principalmente por *Escherichia coli* (PARDI et al., 1993).

Assim, os objetivos do trabalho foram a determinação da qualidade higiênico-sanitária de carnes e produtos cárneos manipulados e pré-preparados para o comércio em açougues e supermercados da cidade de Botucatu – SP, analisados segundo a RDC Nº12 da ANVISA (2001), sendo pesquisada a presença de *Salmonella* sp, a enumeração de clostrídio sulfito-redutores e de *Staphylococcus aureus* e a determinação do número mais provável de coliformes termotolerantes.

2. Material e Métodos

2.1. Aquisição das amostras

Foram coletadas 90 amostras de produtos cárneos manipulados, em açougues e supermercados da cidade de Botucatu – SP. As amostras foram mantidas sob refrigeração, em caixa isotérmicas com gelo reciclável, até o momento do processamento no laboratório. Foram coletados, preferencialmente, espetinhos de diferentes carnes, kafta, pedaços de carne temperados, carne enrolada, entre outros.

2.2. Análises microbiológicas

2.2.1. Preparo das amostras e suas diluições:

Para a análise, 25 gramas da amostra foram pesados e homogeneizados em 225 ml de água tamponada esterilizada, em sacos plásticos apropriados, que foram levados ao Stomacher Lab Blender 400 por trinta segundos. A partir desta diluição inicial de 10^{-1} , foi preparada uma série de diluições decimais, utilizando-se salina.

2.2.2. Identificação de *Staphylococcus aureus*

Para a identificação e enumeração de *S. aureus*, foi utilizada a metodologia de Lancette & Bennett (2001), onde placas de Petri contendo ágar Baird-Parker (BP) suplementado com telurito de potássio e solução de gema de ovo receberam as amostras adequadamente homogeneizadas e diluídas (225

ml de água tamponada esterilizada em 25 g da amostra). A partir de cada diluição, um volume de 0,1 ml foi colocado sobre o ágar e espalhado com auxílio de uma alça em L. Em seguida, as placas foram incubadas a 35°C por 48 horas. Após a incubação, foi realizada a contagem das colônias características, que apresentaram cor negra e halo. Destas, até três colônias foram repicadas para tubos inclinados com ágar tripticase soja (TSA), e incubadas por 24 horas a 35°C. No teste da produção de catalase, uma porção do crescimento foi transferida para uma lâmina de vidro, com a adição de uma gota de água oxigenada 30%. Como controle positivo, foi utilizada uma cepa de *S. aureus* e como controle negativo, uma de *Streptococcus* sp. O teste positivo é revelado pela liberação de bolhas. A seguir, foi realizado o teste da coagulase em tubo, onde 0,5ml de plasma de coelho foi acrescido de um volume igual de uma cultura da cepa teste em caldo de infusão de cérebro e coração (BHI) crescida por 24 horas a 35°C. Os tubos foram incubados a 35°C por até 24 horas. O teste deve ser considerado positivo se ocorrer a coagulação da mistura.

As cepas identificadas como estafilococos coagulase positiva foram submetidas ao kit "Staphytest Test Dry Spot" (Oxoid), onde partículas azuis de látex são recobertas com fibrinogênio humano e imunoglobulinas tipo G contra a proteína A de *S. aureus*, o Fator Clumping e a cápsula de *S. aureus* meticilina-resistente. O kit é acompanhado por um controle negativo, com glóbulos vermelhos não sensibilizados. A cepa a ser testada foi cultivada em TSA inclinado. Após incubação por 24 horas, a 35°C, uma alçada do crescimento foi colocada sobre uma gota de água tamponada esterilizada, previamente depositada num papelão de fundo branco, que acompanha o kit. Com o auxílio da alça de níquel-cromo, foi realizada a homogeneização. As cepas positivas formam grânulos devido à aglutinação, em até 6 segundos. Deve ser lembrado que procedimento igual é repetido, usando-se o reagente não sensibilizado, que nunca aglutina, dado ser o controle negativo. A separação entre as duas espécies clumping positivo (*S. aureus* e *S. intermedius*), foi realizada pela prova de VP (*S. aureus* positivo): uma alçada do crescimento em TSA foi transferida para um tubo com caldo VM-VP e incubada a 35°C por 48 horas. Para o teste VP, foi transferido assepticamente 1,0mL da cultura para um tubo de ensaio, adicionados 0,6mL de solução de α -naftol 5%

e, em seguida, 0,2mL de solução de KOH 40%. Foi observado, periodicamente, por até 1 hora, a permanência do meio na cor do reagente (amarelado ou ligeiramente esverdeado) indicando teste negativo. O desenvolvimento de uma cor vermelha ou rósea no meio de cultura indicaria teste positivo.

2.2.3. Detecção da presença de *Salmonella*

Para a detecção da presença de *Salmonella*, foi utilizada a metodologia da American Public Health Association (ANDREWS et al., 2001). Para tanto, 25g da amostra foram obtidas de maneira asséptica e colocada em saco de polietileno estéril contendo 225mL de água peptonada tamponada. Em seguida, o mesmo foi colocado em *Stomacher* por 30 segundos para completa homogeneização da amostra. O volume obtido foi transferido a um Erlenmeyer e incubado a 35°C por 24 horas. Após este período, 1mL foi semeado em 10mL de caldo Tetrationato ao qual foi adicionado um volume de 0,1mL de iodeto de potássio imediatamente antes do uso, seguindo-se de incubação a 35°C por 24 horas. Outra alíquota, de 0,1mL da amostra, foi transferida para 10mL de caldo Rapaport-Vassiliadis e, a seguir, incubada a 43°C por 24 horas. Após este período, uma alçada de cada tubo foi semeada em placas contendo ágar Xilose-Lisina-Desoxicolato e de ágar *Salmonella-Shigella*. Após o período de incubação a 35°C por 24 horas, as colônias características de *Salmonella* foram repicadas para tubos inclinados de ágar Trypticase Soja (TSA). A partir destes, foi realizado testes bioquímicos de triagem, em tubos inclinados de ágar Tríplice Açúcar Ferro (TSI) e ágar Fenil (Ágar Fenilalanina). As colônias que apresentaram reações típicas foram submetidas à identificação pelo sistema API-20E (Biomérieux). As cepas que apresentaram confirmação positiva no API foram testadas frente aos soros polivalentes somático e flagelar.

2.2.4. Determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes termotolerantes

Esta determinação foi realizada empregando-se a técnica dos tubos múltiplos (KORNACKI & JOHNSON, 2001). Assim, na prova presuntiva, foram inoculadas diluições adequadas da amostra homogeneizada em volumes de 1mL, em uma série de três tubos por diluição, contendo 10mL de caldo Lauril

Sulfato (LST) e um tubo de Durham invertido. Os tubos foram incubados a 35°C por 24-48 horas. Após este período, foi realizada a prova de confirmação para coliformes termotolerantes por meio da transferência de três alçadas de cada tubo positivo (com crescimento e produção de gás) para tubos contendo 5mL de caldo EC, os quais foram incubados em estufa BOD a 45°C por 24 horas. Após o período de incubação, foi feita a leitura, considerando-se positivos os tubos de caldo EC que apresentaram produção de gás no tubo de Durham. A seguir, juntamente com a tabela do NMP, foi determinado o NMP de coliformes termotolerantes por grama de amostra.

2.2.5. Enumeração de *Clostridium* sulfito redutor (LABBE, 2001):

Na superfície de ágar sulfito polimixina sulfadiazina (SPS) foi depositado um inóculo de 0,1 mL de cada diluição, espreitado com o auxílio de um bastão de vidro em L, partindo-se da maior diluição. Após a completa absorção do inóculo foi colocado um volume de 8 mL de SPS fundido a, aproximadamente, 45°C. Essas placas foram incubadas em jaras de anaerobiose com envelope gerador de anaerobiose, a 43°C por 48 horas. A placa selecionada para contagem apresentou entre 25 e 250 colônias, cuja característica é a cor negra.

Para o cálculo do número presuntivo de UFC/g, o número de colônias confirmadas foi multiplicado por 10 e o resultado, pelo fator de diluição da placa de contagem.

2.3. Produção de Enterotoxinas (DONNELLY et al., 1967).

2.3.1. Produção de enterotoxinas clássicas por cepas de *S. aureus*

As cepas de *S. aureus* seriam cultivadas em caldo BHI e incubadas a 37°C/24 horas. A seguir, 0,1ml destes crescimentos seria transferido para placas de ágar BHI, acrescido de 1% de extrato de levedura, com um papel celofane esterilizado na sua superfície. Esse volume seria espreitado com o auxílio de uma alça em “L” e essas placas, incubadas a 37°C, por 24 horas. Após este período, uma alíquota de 2,5 ml de Na₂HPO₄ 0,01M seria adicionada à superfície e, após homogeneização, o volume seria transferido para um

eppendorf, submetido a uma centrifugação a 10.000 rpm/10 minutos/4°C (ROBBINS et al, 1980).

Os sobrenadantes obtidos pelas duas metodologias seriam testados frente às toxinas A, B, C e D, pelo método de RPLA, num kit comercial da Oxoid.

Esse teste não foi realizado, pois não houve o isolamento de *S. aureus*.

3. RESULTADOS

Dentre as 90 amostras analisadas de carnes cruas temperadas e produtos cárneos, todas foram negativas para a enumeração de *Staphylococcus* coagulase positiva. A presença de *Salmonella* foi confirmada apenas em uma amostra (1,1%), contrariando os padrões higiênicos- sanitários expostos pela ANVISA (2001). O limite máximo permitido de colônias de *Clostridium* sulfito redutor é de até 3×10^3 UFC/g, sendo assim todas as amostras estavam de acordo com a RDC n° 12, como pode ser observado na Tabela 1.

No entanto, 54,4% das amostras estavam fora do limite aceitável para coliformes termotolerantes, de até 5×10^3 NMP/g, determinado pela ANVISA (2001). Em relação aos diferentes tipos e quantidades de carnes analisadas, atenta-se para o espetinho de frango, onde, de um total de 11, 63,6% apresentaram esse indicador em quantidades acima do permitido. Entre as 6 amostras de kafta, 83,3% também se encontravam fora dos padrões da ANVISA. Um dos tipos de carne com melhor padrão higiênico-sanitário foi o bife enrolado, com 18,2% das amostras fora dos padrões, do total de 11.

Na Tabela 1, pode ser observada as informações sobre os tipos de carnes analisadas, os respectivos locais de coleta na cidade de Botucatu – SP e os resultados das análises microbiológicas relativas aos coliformes termotolerantes (CT) e *Clostridium* sulfito redutor (CSR). Vale ressaltar que amostras iguais referentes ao mesmo local foram coletadas em datas diferentes.

Tabela 1. Tipo, local de coleta e qualidade higiênico-sanitária de carnes cruas temperadas e produtos cárneos, comercializados na cidade de Botucatu em 2011. (continua)

Amostras	Local	CT (NMP/g)	CSR(UFC/g)
1) Bife enrolado	Supermercado A	93	< 100
2) Bife enrolado	Supermercado A	93	< 100
3) Bife enrolado	Supermercado A	23	< 100
4) Bife enrolado	Supermercado A	$> 1,1 \times 10^6$	< 100
5) Bife enrolado	Supermercado D	93	< 100
6) Bife enrolado	Supermercado E	93	< 100
7) Bife enrolado	Supermercado E	210	< 100
8) Bife enrolado	Supermercado E	$1,5 \times 10^5$	< 100
9) Bife enrolado	Açougue F	150	< 100
10) Bife enrolado	Açougue G	150	< 100
11) Bife enrolado	Supermercado J	150	< 100
12) Espetinho de Frango	Supermercado A	$1,5 \times 10^5$	< 100
13) Espetinho de frango	Supermercado A	$4,3 \times 10^4$	< 100
14) Espetinho de frango	Açougue C	$> 1,1 \times 10^6$	< 100
15) Espetinho de frango	Supermercado E	$4,3 \times 10^4$	< 100
16) Espetinho de frango	Açougue F	$1,5 \times 10^5$	< 100
17) Espetinho de frango	Açougue F	150	< 100
18) Espetinho de frango	Açougue F	93	< 100
19) Espetinho de frango	Açougue G	93	< 100
20) Espetinho de frango	Açougue G	$2,3 \times 10^4$	< 100
21) Espetinho de frango	Açougue G	75	< 100
22) Espetinho de frango	Açougue I	$4,3 \times 10^4$	< 100
23) Espetinho de frango empanado	Supermercado A	$4,6 \times 10^5$	< 100
24) Espetinho de frango empanado	Supermercado E	$4,6 \times 10^5$	< 100
25) Espetinho de frango empanado	Açougue F	93	< 100
26) Filé de frango empanado	Supermercado A	43	< 100
27) Filé de frango empanado	Supermercado A	43	< 100
28) Filé de frango empanado	Supermercado A	$4,3 \times 10^4$	< 100
29) Filé de frango empanado	Açougue C	$2,3 \times 10^4$	< 100
30) Filé de frango empanado	Açougue C	23	< 100
31) Filé de frango empanado	Supermercado D	$> 1,1 \times 10^6$	< 100
32) Filé de frango empanado	Supermercado E	$2,3 \times 10^4$	< 100
33) Filé de frango empanado	Supermercado E	$4,6 \times 10^5$	< 100
34) Filé de frango empanado	Açougue I	43	< 100
35) Filé de frango empanado	Açougue I	$4,3 \times 10^4$	< 100

CT (NMP/g): Coliformes termotolerantes (Número Mais Provável por grama); CSR(UFC/g): clostrídios sulfito redutores (Unidades Formadoras de Colônias por grama)

Tabela 1. Tipo, local de coleta e qualidade higiênico-sanitária de carnes cruas temperadas e produtos cárneos, comercializados na cidade de Botucatu em 2011. (continuação)

Amostras	Local	CT (NMP/g)	CSR(UFC/g)
36) Filé de frango empanado	Supermercado J	43	< 100
37) Filé de frango empanado	Supermercado J	23	< 100
38) Bife bovino empanado	Açougue C	$> 1,1 \times 10^6$	< 100
39) Bife bovino empanado	Açougue C	$4,3 \times 10^4$	< 100
40) Bife bovino empanado	Açougue I	$> 1,1 \times 10^6$	< 100
41) Bife bovino empanado	Açougue I	$4,3 \times 10^4$	< 100
42) Bife bovino empanado	Açougue I	$1,5 \times 10^5$	< 100
43) Asa de frango temperado	Supermercado A	43	< 100
44) Coxa de frango temperada	Açougue I	$4,3 \times 10^4$	< 100
45) Coxa de frango temperado	Supermercado D	23	< 100
46) Frango à passarinho	Supermercado E	43	< 100
47) Frango à passarinho	Supermercado E	$1,5 \times 10^5$	< 100
48) Frango à passarinho	Supermercado H	$4,6 \times 10^5$	< 100
49) Frango à passarinho	Açougue I	$9,3 \times 10^4$	< 100
50) Frango à passarinho	Açougue I	$4,3 \times 10^4$	< 100
51) Frango à passarinho	Açougue I	$9,3 \times 10^4$	< 100
52) Frango à passarinho	Supermercado J	460	< 100
53) Frango à passarinho	Supermercado J	240	< 100
54) Medalhão de frango	Supermercado A	75	< 100
55) Medalhão de Frango	Supermercado E	93	< 100
56) Medalhão de frango	Supermercado E	$> 1,1 \times 10^6$	< 100
57) Medalhão de frango	Supermercado E	$4,3 \times 10^4$	< 100
58) Medalhão de frango	Açougue G	23	< 100
59) Medalhão de frango	Açougue G	43	< 100
60) Espetinho de carne bovina	Açougue F	$2,4 \times 10^5$	< 100
61) Espetinho de carne bovina	Açougue F	$4,6 \times 10^5$	< 100
62) Espetinho de carne bovina	Açougue F	240	< 100
63) Espetinho de carne bovina	Açougue G	93	< 100
64) Espetinho de carne bovina	Açougue G	75	< 100
65) Espetinho de carne bovina	Açougue G	$1,1 \times 10^6$	< 100
66) Espetinho de carne bovina	Açougue I	$> 1,1 \times 10^6$	< 100
67) Espetinho de coração	Açougue F	75	< 100
68) Espetinho de coração	Açougue F	$2,3 \times 10^4$	< 100
69) Espetinho de coração	Açougue F	23	< 100
70) Espetinho de coração	Açougue G	150	< 100
71) Espetinho de coração	Açougue G	$2,3 \times 10^4$	< 100

CT (NMP/g): Coliformes termotolerantes (Número Mais Provável por grama); CSR(UFC/g): clostrídios sulfito redutores (Unidades Formadoras de Colônias por grama)

Tabela 1. Tipo, local de coleta e qualidade higiênico-sanitária de carnes cruas temperadas e produtos cárneos, comercializados na cidade de Botucatu em 2011. (continuação)

Amostras	Local	CT (NMP/g)	CSR(UFC/g)
72) Espetinho de coração	Açougue G	75	< 100
73) Espetinho de coração	Açougue I	93	< 100
74) Frango enrolado (presunto/queijo)	Açougue G	43	< 100
75) Frango enrolado (presunto/queijo)	Açougue G	93	< 100
76) Frango enrolado (presunto/queijo)	Açougue G	$4,3 \times 10^4$	< 100
77) Panceta temperada	Supermercado B	$9,3 \times 10^4$	< 100
78) Kafta	Açougue F	$7,5 \times 10^4$	< 100
79) Kafta	Açougue F	23	< 100
80) Kafta	Açougue F	$2,4 \times 10^5$	< 100
81) Kafta	Açougue G	$2,3 \times 10^4$	< 100
82) kafta	Açougue G	$> 1,1 \times 10^6$	< 100
83) Kafta	Açougue G	$1,5 \times 10^5$	7×10^2
84) Quibe	Supermercado E	$4,3 \times 10^4$	< 100
85) Quibe	Açougue G	23	< 100
86) Carne de hambúrguer	Açougue F	$4,6 \times 10^5$	< 100
87) Almôndega recheada e empanada	Açougue I	$1,5 \times 10^5$	1×10^2
88) Almôndega recheada e empanada	Açougue I	$7,5 \times 10^4$	2×10^2
89) Almôndegas temperadas	Açougue I	$1,5 \times 10^5$	< 100
90) Almôndegas temperadas	Açougue I	$2,1 \times 10^5$	< 100

CT (NMP/g): Coliformes termotolerantes (Número Mais Provável por grama); CSR(UFC/g): clostrídios sulfito redutores (Unidades Formadoras de Colônias por grama)

4. DISCUSSÃO

Produtos cárneos estão freqüentemente associados a surtos de DTA's, uma vez que representam excelentes meios para o crescimento microbiano, devido à variedade de nutrientes, à alta atividade de água e à baixa acidez. (WELKER et al., 2010) Além disso, as carnes podem ser facilmente contaminadas durante o abate do animal, a evisceração, a manipulação no processamento e a estocagem inapropriada (Forsythe 2002, Amson et al. 2006).

Segundo os padrões exigidos pela Resolução - RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), produtos cárneos crus, refrigerados ou congelados (hamburgueses, almôndegas, quibe e similares) próprios para consumo devem apresentar

concentração máxima de 5×10^3 NMP/ml para coliformes termotolerantes, na ausência de *Salmonella*/25g. A contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva permitida é de até 5×10^3 UFC/g e de *Clostridium* sulfito redutor até 3×10^3 UFC/g. Em relação às carnes cruas preparadas, bovinas, suínas e de outros mamíferos, refrigeradas ou congeladas, temperadas, a contagem máxima permitida é de 10^4 NMP/ml para coliformes termotolerantes, na ausência de *Salmonella*/ 25g.

Dentre as 90 amostras analisadas, 54,4% (49) estavam fora dos padrões exigidos pela ANVISA para a contagem de coliformes termotolerantes. Motta et. al. (2000), na análise de carne bovina moída *in natura* de supermercados da região oeste de São Paulo – SP, constataram contaminação menor, pois 26,7% das amostras estavam acima do limite permitido pela legislação para coliformes termotolerantes e, portanto, impróprias para o consumo. Resultados mais próximos aos desse trabalho foram obtidos por Ferreira et al., (2008), em análise de 32 espetinhos de frango fabricados no município de Uberlândia – MG, entre os anos de 2003 e 2004, dos quais 34,4% das amostras indicavam contagem mínima de coliformes termotolerantes de, aproximadamente, $1,1 \times 10^4$ NMP/g. Resultados maiores foram observados por Fritzen et al. (2006), onde 74% de 23 amostras de carne moída analisadas no Estado do Paraná não atendiam aos limites estabelecidos. No entanto, alguns trabalhos observaram a presença de coliformes termotolerantes dentro do limite determinado pela ANVISA em todas as amostras analisadas, como Martinelli (2007) em análise de amostras da carne de frango *in natura* da dieta de um hospital particular da cidade de Volta Redonda – RJ e Souza et al. (2009), na análise de carne e cortes de frango provenientes de um matadouro de aves e coelhos em Benevides – PA.

A presença de *Salmonella* foi confirmada apenas em uma amostra (1,1%) contrariando os padrões higiênicos - sanitários expostos pela RDC, nº 12 (2001). Valores maiores foram descritos por Martins et al.(2000), em Fortaleza – CE, que analisaram 26 amostras de miúdos de frango (fígado, coração, moela) e 7 (26,9%) foram positivas para esse microrganismo. Carvalho e Cortez (2005) analisaram produtos de frango de diferentes frigoríficos, prontos para serem distribuídos no comércio da região Noroeste do Estado de São Paulo – SP e 20 % das amostras apresentaram contaminação

por *Salmonella*. Santos et al.(2009) detectaram a presença de *Salmonella* em 40% das amostras de carne bovina moída analisadas. Porém, a ausência de *Salmonella* foi observada por Lundgren et al. (2009) em amostras de carne bovina de mercados públicos e feiras livres de João Pessoa – PB e também por Martinelli (2007), Ferreira et. al. (2008) e Souza et al. (2009).

Staphylococcus coagulase positiva não foi detectado em nenhuma das amostras desse trabalho e as 3 amostras (3,3%) que apresentaram contaminação por *Clostridium* sulfito redutor estavam dentro do limite permitido pela legislação (até 3×10^3 UFC/g). Resultados similares foram observados por Martinelli (2007) e Santos et al. (2009), que também observaram a ausência de *S. aureus* e Clostrídio sulfito redutor em produtos cárneos (carne bovina e de frango) e carne bovina moída, respectivamente. Diferente desses autores, Lundgren et al.(2009) constataram a presença de *Staphylococcus* coagulase positiva em todas as amostras analisadas com contagem média de $2,7 \times 10^5$ UFC/g, sugerindo que esses produtos passam por demasiado processo de manipulação e deficiente fiscalização veterinária, tornando a qualidade higiênico -sanitárias dessas carnes e dos produtos derivados inadequados.

Dentre 90 amostras de diferentes produtos cárneos analisados, somente 44,4% (40) estavam de acordo com a legislação em vigor, semelhante ao estudo de Hoffmann et al.(1998) que analisaram 14 amostras obtidas do comércio de São José do Rio Preto – SP, sendo 10 amostras de carne (5 carne suína, 5 carne bovina moída) e 4 de presunto, das quais somente 42,9 % (6) estavam apropriadas para o consumo.

5. CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos, considerando o elevado número de coliformes termotolerantes e a presença de *Salmonella*, pode-se concluir que ocorreram práticas higiênicas insatisfatórias durante a manipulação, na obtenção da matéria-prima e/ou temperaturas inadequadas de armazenamento dos mesmos. Dessa forma, é necessário que se faça um controle mais rígido da higiene, a fim de se evitar problemas de saúde pública.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAK, G.K.; LONG, S.M.; O'BRIEN, S.J. Trends in indigenous foodborne disease and deaths, England and Wales: 1992 to 2000. **International Journal of Gastroenterology and Hepatology**, v.51, p. 832–841, 2002.
- ALMEIDA, C.F.; ARAÚJO, E.S.; SOARES, Y.C.; DINIZ, R.F.C.; FOOK, S.M.L.; VIEIRA, K.V.M. Epidemiological profile of food intoxication reported by the Poisoning Information Center of Campina Grande, Paraíba. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v.11, p.139-146, 2008.
- AMSON, G. V., HARACEMIV, S. M. C., MASSON, M. L. Levantamento de dados epidemiológicos relativos a ocorrências / surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTAs) no Estado do Paraná, Brasil, no período de 1978 a 2000. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 30, p. 1139-1145, 2006.
- ANDREWS, W.H.; FLOWERS, R.S.; SILLIKER, J. et al. *Salmonella* In: DOWNES F. P; ITO, K. (Eds). **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. Washington: Apha, p. 357-380, 2001.
- BERGDOLL, M.S. & ROBBINS, R.N. Characterization of types staphylococcal enterotoxins. **Journal of Milk and Food Technology**, v. 36, p. 610-612, 1973.
- BERGDOLL, M.S. Staphylococcal food poisoning. In: CLIVER, D. O. (Ed.), **Foodborne diseases**. San Diego, CA: Academic Press, p. 85–10, 1990.
- BOURGEOIS, C.M.; MESCLE, J.F.; ZUCCA, J. **Microbiologia alimentaria**. Madrid: Zaragoza, p. 437, 1994.
- BRYAN, F.L. Current trends in foodborne salmonellosis in the United States and Canada. **Journal of Food Protection**, v.44, p.394, 1981.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Página Inicial > Animal > **Mercado Interno**. Brasília, 2011. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/animal/mercado-interno>> Acesso em: 19 de abril de 2011.
- BRASIL. Ministério da Saúde. FUNASA. CENEPI. **Mortalidade Brasil – 2004**. Brasília: CENEPI/FUNASA; 2004.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS/MS). **Análise Epidemiológica dos Surtos Transmitidos por alimentos no Brasil**. Brasília, 2008. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/surtos_dta_15.pdf> Acesso em: 20 de abril de 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS/MS). **Análise Epidemiológica dos Surtos Transmitidos por alimentos no Brasil, 1999 – 2009.** Brasília, 2009. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/analise_ep_surtos_dta_brasil_2009.pdf> Acesso em: 19 de abril de 2011.

CARVALHO, C. F.B., CORTEZ, A.L. L. *Salmonella* spp. em carcaças, carne mecanicamente separada, linguiças e cortes comerciais de frango. **Ciência Rural**, v.35, p. 1465 - 1468, 2005.

CONCEIÇÃO, F.V.E., GONÇALVES, E.C.B.A. Qualidade físico-química de mortadelas e carnes moídas e conhecimento dos consumidores na conservação destes produtos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, p. 283 - 290, 2009.

DONNELLY, C.B.; LESLIE, J.E.; BLACK, L.A.; LEWIS, K.H. Serological identification of enterotoxigenic estaphylococci from cheese. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 15, p. 1382- 1387, 1967.

EDUARDO, M.B.P.; KATSUYA, E.M.; BASSIT, N.P.; MELLO, M.L.R. *Salmonella enteritis*: uma importante causa de surtos bacterianos veiculados por alimentos e a necessidade de uma nova regulamentação sanitária para alimentos implicados, São Paulo, Brasil, 1999-2003. **Boletim Epidemiológico Paulista**, v.1, 2004. Disponível em: <http://www.cve.saude.sp.gov.br/agencia/bepa8_salmo9903.htm>. Acesso em: 18 de abril de 2011.

FERGUSON, L.R. Review Meat and cancer. **Meat Science**, v. 84, p. 308–313, 2010.

FOOD AND AGRICULTURAL ORGANIZATION / WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Recommended international code of practice for general principles of food hygiene.** Rev. 3, 1997; Amended 1999. Rome: FAO/WHO; 1999. In: ISARA, A.R.; ISAH, E.C.; LOFOR, P.V.O.; OJIDE, C.K. Food contamination in fast food restaurants in Benin City, Edo State, Nigeria: Implications for food hygiene and safety. **Public Health**, v.124, p. 467 - 471, 2010.

FERREIRA, I. M., BONNAS, D. S., GUIMARÃES, E. C., REZENDE, M. T. N. P., ROSSI, D. A. Bacteriologia de “espetinhos de frango” fabricados no município

de Uberlândia-MG sob Inspeção Municipal. **Veterinária Notícias**, v. 14, p. 9-12, 2008.

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da segurança alimentar**. Porto Alegre: Atmed, p. 424, 2002.

FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia de alimentos**. São Paulo: Atheneu, p. 182, 2006.

FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. Microrganismos patogênicos de importância nos alimentos. In: FRANCO, B.D.G.M. & LANDGRAF, M. (Eds.). **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, p. 55-60, 2001.

FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. Microrganismos patogênicos de importância nos alimentos. In: FRANCO, B.D.G.M. & LANDGRAF, M. (Eds.). **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, p. 33-38, 1996.

FUEYO, J.M.; MENDOZA, M.C.; MARTÍN, M.C. Enterotoxins and toxic shock syndrome toxin in *Staphylococcus aureus* recovered from human nasal carriers and manually handled foods: epidemiological and genetic findings. **Microbes and Infection**, v. 7, p. 187–194, 2005.

GOUSIA, P.; ECONOMOU, V.; SAKKAS, H.; LEVEIDIOTOU, S.; PAPADOPOULOU, C. Antimicrobial resistance of major foodborne pathogens from major meat products. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 8, p. 27-38, 2011.

HOFFMANN, F.L., GARCIA-CRUZ, C.H., VINTURIM, T.M. Qualidade microbiológica de amostras de carnes e de presunto. **Higiene Alimentar**, v. 12, p. 52 – 57, 1998.

HUONG, B.T.M.; MAHMUDA, Z.H.; NEOGI, S.B.; KASSU, A.; NHIE, N.V.; YAMATO, A.M.M.; OTA, F.; LAM, N.T.; DAO, H.T.A.; KHAN, N.C. Toxigenicity and genetic diversity of *Staphylococcus aureus* isolated from Vietnamese ready-to-eat foods. **Food Control**, v. 21, p. 166–171, 2010.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOOD (ICMSF). **Microorganisms in foods 5: Characteristics of microbial pathogens**. London: Blackie Academic & Professional, 1996.

ISARA, A.R.; ISAH, E.C.; LOFOR, P.V.O.; OJIDE, C.K. Food contamination in fast food restaurants in Benin City, Edo State, Nigeria: Implications for food hygiene and safety. **Public Health**, v.124, p. 467 - 471, 2010.

- JABLONSKY, J.M.; BOHACH G.A. *Staphylococcus aureus*. In: DOYLE M.H.; BEUCHAT L.R.; MONTVTLLE T. J. (Eds). **Food Microbiology. Fundamentals and frontiers**. Washington: ASM. p.353-375, 1997.
- JUNEJA, V.K.; PORTO-FETT, A.C.S.; GARTNER, K.; TUFFT, L.; LUCHANSKY, J.B. Potential for Growth of *Clostridium perfringens* from Spores in Pork Scrapple During Cooling. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 7, p. 153 – 157, 2010.
- KIM, H.J.; GRIFFITHS, M.W.; FAZIL, A.M.; LAMMERDING, A.M. Probabilistic risk model for staphylococcal intoxication from pork-based food dishes prepared in food service establishments in Korea. **Journal of Food Protection**, v. 72, p. 1897–1908, 2009.
- KORNACKI, J.L.; JOHNSON, J.L. Enterobacteriaceae, coliforms, and *Escherichia coli* as quality and safety indicators. In: DOWNES F. P; ITO, K. (Eds). **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. Washington: APHA, p. 69-80, 2001.
- KOTTWITZ, L. B. M.; OLIVEIRA, T.C.R.M; ALCOCER, I.; FARAH, S.M.S.S.; ABRAHÃO, W. S.M.; RODRIGUES, D. P. Avaliação epidemiológica de surtos de salmonelose ocorridos no período de 1999 a 2008 no Estado do Paraná, Brasil. **Acta Scientiarum. Health Sciences**, v.32, p. 9 – 15, 2010.
- KUZMA, K.; MALINOWSKI, E.; LASSA, H.; KLOSSOWSKA, A. Detection of genes for enterotoxins and toxic shock syndrome toxin-1 in *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis. **Bulletin of the Veterinary Research Institute**, v. 47, p. 419–426, 2003.
- LABBE, R.G. *Clostridium perfringens*. DOWNES F. P; ITO, K. (Eds). **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. Washington: APHA, p. 325-330, 2001.
- LABBE, R.G.; HUANG, T. Generation times and modeling of enterotoxin-positive and enterotoxin-negative strains of *Clostridium perfringens* in laboratory media and ground beef. **Journal of Food Protection**, v. 58, p.1303–1306, 1995.
- LANCETTE, G. A.; BENETT, R.W. *Staphylococcus aureus* and staphylococcal enterotoxins. In: DOWNES, F.P.; ITO, K. (Eds). **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. Washington: APHA, v. 4, p. 387-403, 2001.

LE LOIR, Y.; BARON, F.; GAUTIER, M. *Staphylococcus aureus* and food poisoning. **Genetics and Molecular Research**, v. 2, p. 63–76, 2003.

LUNDGREN, P.U., SILVA, J.A., MACIEL, J.F., FERNANDES, T.M. Perfil da qualidade higiênico-sanitária da carne bovina comercializada em feiras livres e mercados públicos de João Pessoa/PB – Brasil. **Alimentos e Nutrição**, v. 20, p. 113-119, 2009.

MARTINELLI, C. **Avaliação Microbiológica de Produtos Cárneos Distribuídos aos Pacientes em um Hospital Particular de Volta Redonda – RJ**. 2007. 91 f.Dissertação (Mestrado) – Instituto de Tecnologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

MARTINS, S.C.S., SERIO, J., MATTEI, A.C.M.L., ALBUQUERQUE, L.M.B. *Salmonella* sp em miúdos de aves: Resistência a antibióticos. **Higiene Alimentar**, v. 14, p. 74 – 76, 2000.

MEAD, P.S.; SLUTSKER, L.; DIETZ, V.; MCCAIG, L.F.; BRESEE, J.S.; SHAPIRO, C.; GRIFFIN, P.M.; TAUXE, R.V. Food-related illness and death in the United States. **Emerging Infection Diseases**, v. 5, p. 607–625, 1999.

MENSAH, P.; YEBOAH-MANU, D.; OWUSU-DARKO, K.; ALBLORDEY, A. Street foods in Accra, Ghana; how safe are they? **Bullettin World Health Organization**, v. 80, p. 546-554, 2002.

MOTTA, M.R.A., BELMONTE, M.A., PANETTA, J.C. Avaliação Microbiológica de amostras de carne moída comercializada em supermercados da região oeste de São Paulo. **Higiene Alimentar**, v. 14, p. 59 – 62, 2000.

MREMA, N.; MPUCHANE, S.; GASHE, B.A. Prevalence of *Salmonella* in raw minced meat, raw fresh sausages and raw burger patties from retail outlets in Gaborone, Botswana. **Food Control**, v. 17, p. 207-212, 2006.

NATIONAL HEALTH AND MEDICAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient reference values for Australia and New Zealand**. Department of Health and Ageing, 2006. In: FERGUSON, L.R. Review Meat and cancer. **Meat Science**, v. 84, p. 308–313, 2010.

NORMANNO, .G.; FIRINUB, A.; VIRGILIOB, S.; MULAB, G.; DAMBROSIOA, A.; POGGIUB, A.; DECASTELLIC, L.; MIONID, R.; SCUOTAE, S.; BOLZONIF, G.; Di GIANNATALEG, E.; SALINETTIH, A.P.; La SALANDRAI, G.; BARTOLIJ, M.; ZUCCONB, F.; PIRINO, T.; SIASB, S.; PARISII, A.; QUAGLIAA, N.C.; CELANO. G.V. Coagulase-positive *Staphylococci* and *Staphylococcus aureus*

in food products marketed in Italy. **International Journal of Food Microbiology**, v. 98, p. 73 –79, 2005.

PARDI, M.C.; SANTOS, I.F.; SOUZA, E.R.; PARDI, H.S. Tecnologia da carne e subprodutos, processamento tecnológico. **Ciência, higiene e tecnologia da carne**. Goiânia: CEGRAF-UFG, v. 2, p. 1110, 1993.

POTES, M. E. Segurança alimentar em produtos tradicionais. **Rev. de Ciências Agrárias**, v.30, p.439-447, 2007.

RALL, V.L.M.; MARTIN, J.G.P.; CANDEIAS, J.M.G.; CARDOSO, K.F.G.; SILVA, M.G.; RALL, R., ARAÚJO JÚNIOR, J.P. Pesquisa de *Salmonella* e das condições sanitárias em frangos e linguiças comercializados na cidade de Botucatu. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 46, p. 167-174, 2009.

ROBBINS, R.; GOULD, S.; BERGDOLL, M. Detection the enterotoxigenicity of *Staphylococcus aureus* strains. **Applied Microbiology**, v. 28, p. 946-950, 1980.

SANTOS, A.C.C., SILVA, C.P.R., PIMENTA, P.M.C., FREITAS, S.M.L., TEODORO, A.J. Avaliação da qualidade físico-química e microbiológica de carnes moídas de 1º e 2º qualidade comercializadas no município do Rio de Janeiro. **Higiene Alimentar**, v.23, p. 189–190, 2009.

SOUZA, V.P., SEIXAS, V.N.C., FARIAS, M.C.A. Análise Microbiológica de carne e cortes de frango de um matadouro de aves e coelhos no Estado do Pará. **Higiene Alimentar**, v. 23, p. 339 - 340, 2009.

SCHERRER, D.; CORTI, S.; MUEHLHERR, J. E.; ZWEIFEL, C.; STEPHAN, R. Phenotypic and genotypic characteristics of *Staphylococcus aureus* isolates from raw bulk-tank milk samples of goats and sheep. **Veterinary Microbiology**, v. 101, p. 101–107, 2004.

SHINOHARA, N. K. S. et al. *Salmonella* spp., importante agente patogênico veiculado em alimentos. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 13, p. 1675-1683, 2008.

SILVA, E.P.; BERGAMINI, A.M.M.; OLIVEIRA, M.A. Alimentos e agentes etiológicos envolvidos em toxinfecções na região de Ribeirão Preto, SP, Brasil – 2005 a 2008. **Boletim Epidemiológico Paulista**, v. 7, p.4-10, 2008.

SILVA JUNIOR, E. A. **Manual de controle higiênico-sanitário de alimentos**. São Paulo: Varela, p. 479, 2002.

SORIANO, J.M.; BLESA, J.; RICO, H.; MOLTÓ, J.C. ; MANES, J. Incidence of *Staphylococcus aureus* in meals from cafeterias. **Journal of Food Safety**, v.22, p. 135-140, 2002.

STEPHAN, R.; ANNEMÜLLER, C.; HASSAN, A.A.; LÄMMLER, Ch. Characterization of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovine mastitis in north - east Switzerland. **Veterinary Microbiology**, v. 78, p. 373–382, 2001.

VANDERZANT, C.; SPLITTSTOESSER, D.F. **Compendium for the Microbiological Examination of Foods**. Washington: Public Health Association, p.1219, 1992.

VILLAR, R.G.; SHAPIRO, R.L.; BUSTO, S.; RIVA-POSSE, C.; VERDEJO, G.; FARACE, M.I.; ROSETTI, F.; SAN JUAN, J.A.; JULIA; C.M.; BECHER, J.; MASLANKA, S.E.; SWERDLOW, D.L. Outbreak of type A botulism and development of a botulism surveillance and antitoxin release system in Argentina. **JAMA**, v. 14, p. 1334 – 1338, 1999.

WELKER, C.A.D.; BOTH, J.M.C.; LONGARAY, S.M.; HAAS,S.; SOEIRO, M.L.T; RAMOS, R.C. Análise microbiológica dos alimentos envolvidos em surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTA) ocorridos no estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 8, p. 44-48, 2010.

ZSCHÖCK, M.; KLOPPERT, B.; WOLTER, W.; HAMANN, H.P.; LÄMMLER, C. Pattern of enterotoxin genes *seg*, *seh*, *sei* and *sej* positive *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis. **Veterinary Microbiology**, v. 108, p. 243–249, 2005.