

Francisco Marcos Dias Thomazella

**Matéria prima e ingredientes como fonte de contaminação
de lingüiças frescas por *Salmonella* spp.**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista, UNESP, campus de Botucatu, para obtenção do título de mestre em Medicina Veterinária, Área de Saúde Animal, Saúde Pública Veterinária e Segurança Alimentar

Orientador: Prof. Ass. Dr. José Paes de A. Nogueira Pinto

Botucatu – SP

2005

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

Thomazella, Francisco Marcos Dias.

Matéria prima e ingredientes como fonte de contaminação de lingüiças frescas por *Salmonella spp* / Francisco Marcos Dias Thomazella – Botucatu : [s.n.], 2005.

Dissertação (mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, 2005.

Orientador: Prof. José Paes de Almeida Nogueira Pinto.

Assunto CAPES: 50505009

1. Alimentos de origem animal – Contaminação. 2. Carnes – inspeção.
3. Embutidos – Conservação.

CDD 614.3

Palavras chave: Contaminação; Ingrediente; Lingüiça; Matéria-prima;
Salmonella.

PARA

Maria Lúcia e Aurélio , meus pais, exemplos de vida, grandes incentivadores do meu ensino e aperfeiçoamento, que não mediram esforços para estudar todos os filhos,.

Giovanna e Vanessa, minhas filhas queridas, meus tesouros,

Claudia Maria, minha esposa, pelo amor, dedicação, companheirismo, carinho e incansável paciência e incentivo ao meu estudo,

Carlos Alberto Hussni e família, pelo acolhimento , amizade , estímulo e dicas importantes neste processo de estudo.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. José Paes de Almeida Nogueira Pinto, por toda a orientação dispensada, pela amizade, paciência, dedicação e sabedoria na condução de todo o processo.

Ao médico veterinário Rodrigo Alfani, por ter me ajudado muito nas análises laboratoriais.

Ao Prof. Germano Francisco Biondi, pela colaboração, amizade e alegria.

Ao Professor Stelio Pacca Loureiro Luna, pelo acolhimento, amizade e estímulo.

Aos médicos veterinários Vera Lúcia Amorim Schulze, Lutero Schulze, Alexandre Dias Young pela amizade e estímulo.

Aos agentes de inspeção Sebastião Messias de Azevedo e Valdir Araújo Gonçalves pela colaboração na coleta das amostras.

Ao Sr. David Johan Schnell e Sr. Andréas Brener pela colaboração.

Aos colegas do Ministério da Agricultura, especialmente das Regionais de Campinas e Sorocaba, pelo estímulo à realização deste trabalho.

Aos colegas da Secretaria da Agricultura do Estado de São Paulo pela colaboração e incentivo ao estudo, principalmente em épocas difíceis.

A todos os meus familiares, irmãos, sogros, primos, cunhados pelo estímulo constante na realização deste trabalho.

Ao biólogo César Yuji Fujihara, pela grande ajuda na parte de computação gráfica deste trabalho.

Ao meu cunhado Dr. Heraldo Possolo de Souza pelo estímulo e dicas importantes.

Às bibliotecárias Rosemary Cristina da Silva e Rosemeire Vicente, pelas correções das referências bibliográficas e elaboração da ficha catalográfica, respectivamente.

Ao colega Édio Moscardi Jr pela colaboração dada ao longo de todo o trabalho

Aos colegas da Pós-Graduação pela alegre convivência e constante troca de experiências

A Marisa do Nascimento Paro pela confecção do Abstract.

A Deus, pois sem Ele nada é possível.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	I
LISTA DE FIGURAS	II
RESUMO	III
ABSTRACT	IV
I – INTRODUÇÃO	1
II - OBJETIVO	11
III – MATERIAL E MÉTODOS.....	12
IV - RESULTADOS E DISCUSSÕES	17
V – CONCLUSÕES	27
VI – REFERÊNCIAS	28

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Presença de <i>Salmonella</i> spp. nos ingredientes, matérias-primas, massa e produto acabado (lingüiça frescal) em 19 partidas produzidas.	18
---	----

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Protocolo de análise de *Salmonella* spp. nas matérias-primas ingredientes, massa e produto final (lingüiça frescal), segundo metodologia preconizada por Andrews *et al.* (1998)..... 15
- Figura 2 – Esquema de análise para enumeração de *Salmonella* spp. pelo método do número mais provável (NMP), segundo Mattick *et al.* (2002)..... 16

RESUMO

Analisou-se dentro de uma linha de fabricação de lingüiças frescas mistas, o papel da matéria-prima e de cada ingrediente empregado na elaboração do produto, como fonte de contaminação por *Salmonella* spp. Foram analisadas 19 partidas de lingüiça, sendo que *Salmonella* spp. foi isolada em 9 delas (47,3%), em pelo menos uma das matérias-primas testadas. Nas 19 amostras de massa antes do embutimento, isolou-se o patógeno em 6 (31,6%) e no produto final pronto para o consumo, em 3 (15,8%). A matéria-prima de origem suína (cortes, recortes e toucinho) foram os principais responsáveis pela contaminação observada, já que nas 9 partidas em que ela foi detectada, eram eles que se encontravam contaminados. Em relação à carne bovina, em apenas uma amostra detectou-se *Salmonella*, sendo que nesse dia de produção os recortes suínos também encontravam-se positivos. Nenhum outro ingrediente mostrou-se contaminado pelo patógeno nas 19 partidas do produto. Todas as amostras do produto final quando novamente analisadas pela técnica dos tubos múltiplos, mostraram valores $< 3,0$ células de *Salmonella* / g do produto. Conclui-se que na indústria em questão, a contaminação do produto final dá-se exclusivamente pela matéria-prima animal, especialmente a de origem suína. Embora esta contaminação ocorra por um número pequeno de células, as lingüiças frescas contaminadas representam um perigo à saúde do consumidor.

ABSTRACT

There were analyzed 19 portions of fresh sausage, each one of them corresponding to different lots and days of production. *Salmonella* spp was isolated in 9 of these portions (47,3%). On the 19 dough samples before the stuffing, the pathogen was isolated in 6 (31,6%) and on the final stuffed and ready for consumption product, in 3 (15,8%). The cuts of pork meat and bacon were the great responsible for the contamination observed, since on the 9 ones where it was detected, these were the raw material that were contaminated. On what concerns the beef meat, just in one sample it was found *Salmonella*, and on that production day the pork scraps were also contaminated. Any of the other ingredients has presented contaminated by the pathogen on the 19 portions of the product. When analyzed again through the multiple tubes technique (MNP), all the samples of the final product have shown values $< 3,0$ of *Salmonella* cells/g of the product. The contamination of fresh sausages on the present study has occurred basically for products of pork origin (meat scraps and bacon) used on the product elaboration. On the case of the plant in question, only a more rigorous control of the pork raw material acquired may reduce the contamination risk on the final product. Although this contamination occurs for a small number of cells, the fresh sausages endanger the consumer health.

I – INTRODUÇÃO

As enfermidades transmitidas por alimentos (ETA's) constituem atualmente uma séria preocupação dentro da saúde pública. Apesar dos avanços consideráveis da ciência e tecnologia de alimentos, a segurança de nossos suprimentos alimentares é, mesmo hoje, início do terceiro milênio, motivo de preocupação (KÄFERSTEIN, 2003). Em países industrializados, estudos sentinela têm mostrado alta prevalência, isto é, 10 a 15% da população seriam afetados anualmente por tais enfermidades, sendo que dados mais recentes sugerem que estes valores seriam ainda maiores (30%), segundo Mead *et al.* (1999). Nos países em desenvolvimento, a situação é praticamente desconhecida, devido à falta de programas de monitoramento e vigilância epidemiológica (KÄFERSTEIN, 2003).

Embora nas últimas décadas algumas bactérias venham chamando atenção e reconhecimento como patógenos emergentes responsáveis por algumas enfermidades importantes (DOYLE, 1994), *Salmonella* spp. continua a ser um dos principais agentes etiológicos das ETA's (FOODNET, 2003).

De acordo com o CDC (Centers for Disease Control and Prevention) (2003), nos EUA, todo ano, aproximadamente 40.000 casos de salmonelose são relatados e destes, 600 culminam em morte por salmonelose aguda.

Nos países da Comunidade Européia há estimativa de que ocorram cerca de 160.000 casos de salmonelose humana anualmente, com 200 mortes.(European Comission, 2002). Na Holanda, a incidência estimada da salmonelose é de 450 casos para cada 100.000 habitantes, sendo que 15 % estão associados ao consumo de carne suína (BERENDS *et al.*, 1998). Na Dinamarca, a estimativa é de 95 casos de salmonelose para cada 100.000 habitantes, sendo que destes, 10 a 15% têm relação com o consumo de carne suína, (HALD *et al.*, 1999)

Mais de 95% dos casos e/ou surtos de salmonelose humana são de origem alimentar, sendo os alimentos de origem animal os veículos mais importantes (JACKSON *et al.*, 1991). Entre eles, merecem destaque as lingüiças frescais, produtos que se caracterizam por possuírem uma ótima aceitabilidade comercial e serem muito populares (MANHOSO,1998).

As lingüiças são definidas como produtos cárneos industrializados obtidos de carnes de animais de açougue, adicionadas ou não de tecidos adiposos, ingredientes, embutidas em envoltório natural ou artificial e submetidas a processo tecnológico adequado. Podem ser classificadas, segundo a tecnologia de fabricação, como: secas, curadas, defumadas ou de acordo com a composição da matéria-prima, como por exemplo, exclusivas de carne suína, mistas, etc. Têm como ingredientes obrigatórios as carnes de diferentes espécies de animais de açougue e sal, água e, como ingredientes opcionais, gordura, proteínas vegetais ou animais, açúcares, plasma, aditivos intencionais, aromas, especiarias e condimentos. (BRASIL,2000)

O processo de produção das lingüiças frescais de maneira geral obedece às seguintes etapas:

1. Recebimento da matéria-prima (carnes, toucinho)

2. Corte e recorte da matéria-prima
3. Mistura das carnes, toucinho, ingredientes: água, sais de cura (nitrito/nitrato de sódio/potássio), condimentos, especiarias.
4. Descanso da massa (maturação) em ambiente refrigerado
5. Embutimento em tripas naturais (tripas bovinas, suínas, ovinas, etc)
6. Embalagem e armazenagem em câmara fria
7. Expedição

As lingüiças, apesar de muito apreciadas podem, no entanto, carrear altas cargas microbianas, por serem submetidas a intensa manipulação durante a fabricação, serem preparadas em indústrias que utilizam muitas vezes equipamentos e condimentos contaminados e refrigeração e armazenamentos inadequados, constituindo-se portanto, em ótimos meios de crescimento para as bactérias (SABIONI *et al.*, 1999).

São vários os trabalhos encontrados na literatura que comprovam a contaminação das lingüiças frescas por *Salmonella*. Em estudo feito na Itália Central, por exemplo, no período de 1980-1989, Bozzano *et al.* (1993) analisaram 2.955 amostras deste tipo de embutido, tendo encontrado 71 amostras positivas para o patógeno, o que corresponde a 2,4% do total analisado. Estudos mais recentes realizados neste mesmo país apresentaram porcentagens ainda maiores de amostras positivas: 6,8% para Guarino *et al.* (1998) e 13,2% para Bonardi *et al.* (2002).

Na Grécia, foram relatados índices de 20% de contaminação de lingüiças frescas por *Salmonella*. (ABRAHIM *et al.*, 1998). Estudos realizados na Espanha encontraram valores tanto superiores (18,2% de amostras positivas) como inferiores (4%), segundo Moreno (1997) e Gallardo *et al.* (1998), respectivamente.

No México, valores extremamente elevados de contaminação foram relatados: segundo Escartin *et al.* (1999), das 60 amostras de lingüiças frescas de carne suína coletadas em Guadalajara, 88,3% mostraram-se positivas; nas oriundas de Queretaro, a positividade foi muito variável, de 5% a 78%, dependendo do local onde as mesmas eram comercializadas. Belo-Pérez (1993), também no México, analisou 221 amostras de lingüiças frescas de carne bovina e suína e encontrou 40,7% positivas para *Salmonella*.

No Brasil, são vários os trabalhos que procuraram determinar a contaminação desses embutidos por *Salmonella*. Hoffman *et al.* (1994) e Reis *et al.* (1995) encontraram taxas de positividade de 84,6% e 35,3% respectivamente. Bersot *et al.* (1997) detectaram 22,8% de amostras positivas e Sabioni *et al.* (1999), 3,0%.

Trabalhos publicados a partir de 2000 também mostraram valores muito variáveis de positividade: 10% para Chaves *et al.* (2000), 50,5% e 22,8% para Giombelli *et al.* (2001) e Worcman-Barninka *et al.* (2001), respectivamente, 11,82% segundo Loguercio *et al.*, (2002), 8,5% para Cortez (2003) e 0% para Marques *et al.* (2003), em 20 amostras coletadas em Três Corações – MG.

Pesquisa realizada com um número maior de amostras de lingüiças frescas (300 amostras), feita pelo Serviço de Orientação à Alimentação Pública (SOAP) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Unesp, Campus de Botucatu, SP, detectou 20 delas positivas para *Salmonella*, correspondendo a 6,7% do total analisado (BONIM *et al.*, 2004).

Apesar da variabilidade de resultados positivos, fica patente a importância das lingüiças frescas como veículos de *Salmonella* ao homem. A contaminação do produto pode ter várias origens: a matéria prima empregada na sua elaboração,

especialmente os recortes de carne suína e bovina, bem como as especiarias acrescentadas à massa, a água utilizada no processo de fabricação, equipamentos e ambiente mal higienizados, além dos próprios trabalhadores encarregados de sua produção.

No tocante à matéria prima, são diversos os trabalhos realizados em vários países que confirmam a contaminação de carcaças suínas por *Salmonella*. Na Espanha, por exemplo, o patógeno foi isolado de 3,94% delas (coleta realizada na região perianal), em 4,46% de retalhos de carne e 13,58% das carnes encaminhadas para preparo de lingüiças semi-secas (PALA *et al.*, 2004). No Reino Unido, Pearce *et al.* (2003) analisaram 100 meias carcaças suínas, encontrando um índice de 31% de contaminação após a sangria, 1% após a escaldagem e 7% das carcaças contaminadas após a depelagem.

Índice de 5,3% de contaminação por *Salmonella* de carcaças suínas em 3.485 amostras coletadas de sete abatedouros europeus foi encontrado por Hald *et al.* (2003) e igual valor foi encontrado por Davies *et al.* (2004) em abatedouros de suínos no Reino Unido, em 2509 carcaças amostradas.

Na Bélgica, Botteldoorn *et al.* (2003) encontraram valores bem mais elevados de contaminação, ou seja, 37% das carcaças suínas pesquisadas encontrava-se contaminadas por *Salmonella*.

Nos Estados Unidos, Rose *et al.* (2002) detectaram índice de 7% de contaminação em 8.483 amostras de carcaças suínas.

Com relação à carne bovina, Mcevoy *et al.* (2003) encontraram índice de 7,2% de contaminação de carcaças bovinas por *Salmonella*, sendo que para Philips *et al.* (2001) ao analisarem a qualidade microbiológica de carcaças bovinas e cortes em abatedouros na Austrália, estes índices foram de 0,2 e 0,1% respectivamente.

Nos Estados Unidos, Rose *et al.* (2002) obtiveram índice de 2,1% de contaminação em 3.695 amostras de carcaças bovinas (touro e vacas), 0,3% em 2.088 amostras de carcaças bovinas provenientes de animais mais jovens (novilhas e garrotes) e 3,7% de positividade em amostras de carnes bovinas já desossadas.

No Brasil, embora sejam vários os trabalhos que procuraram avaliar a presença de *Salmonella* nas unidades primárias de produção (BERSOT, 2004), são raros os dados sobre a prevalência do patógeno nas carcaças quando de sua obtenção no matadouro. Deve-se destacar os trabalhos desenvolvidos por Lázaro *et al.* (1997), que isolaram *Salmonella* em 34,8% das amostras de tonsilas e linfonodos de animais abatidos no Rio de Janeiro, Bessa *et al.* (2004), com 55,66% (linfonodos e fezes) e Castagna *et al.* (2004), com 79,0% de positivos (linfonodos mesentéricos, fezes, tonsilas e linfonodos submandibulares), sendo estas duas últimas pesquisas realizadas no estado do Rio Grande do Sul.

Em relação à carne bovina, Almeida *et al.* (2002) ao analisarem 40 amostras de cortes, encontraram índice de 20% de contaminação por *Salmonella*.

Outra importante fonte de contaminação das lingüiças frescas por *Salmonella* provém do emprego das especiarias ou condimentos adicionados à massa do produto. Embora sejam empregados em quantidades pequenas, que variam de 0,1 a 2% entre os diversos alimentos, podem contribuir com uma população significativa de microrganismos contaminantes, podendo ocasionar a deterioração do produto, ou provocar enfermidade nos indivíduos que consumirem o alimento contaminado. A incorporação de 0,1 a 1% de condimentos em produtos cárneos pode resultar uma contaminação de 10^5 a 10^6 UFC/g (EISS, 1984), aumentando significativamente o risco microbiológico de tais produtos.

A importância das pimentas como reservatório de *Salmonella* ssp., por exemplo, não pode ser ignorada. Pafumi em 1986, nos Estados Unidos, detectou a presença do patógeno em 8,2% das amostras de pimenta preta e em 1,5% das amostras de pimenta branca. No Brasil, Santos *et al.* (1999) analisaram 75 amostras de pimenta-do-reino e os resultados obtidos revelaram a presença de *Salmonella* em 14,67% das amostras, sendo que 54,67% delas apresentavam ainda contagens elevadas de bolores, leveduras e coliformes fecais. Trabalho mais recente realizado em Botucatu, SP, revela que das 35 amostras de pimenta do reino coletadas no comércio varejista daquela cidade, 25,7% delas encontravam-se contaminadas por *Salmonella* (LOURENÇÃO *et al.*, 2004). No tocante a este patógeno, cabe salientar que nosso país, inclusive, tem sido responsabilizado pela exportação de lotes de pimenta contaminada por ele (D'AOUST *et al.*, 2001).

Quanto às outras possíveis fontes de contaminação das lingüiças frescas por *Salmonella*, Berends *et al.* (1998) afirmam que trabalhadores, suprimentos de ar e condensação das câmaras frias não podem ser consideradas de grande importância segundo estes autores. Quando os processos de higienização e sanificação são realizados adequadamente nos estabelecimentos de abate e processamento de carnes, os mesmos podem se tornar livres de *Salmonella*; entretanto, no momento em que uma carcaça contaminada pelo patógeno entra na linha de abate, o número de superfícies de carcaças contaminadas pode chegar a seu nível máximo.

Esses dados reforçam a necessidade de se trabalhar com matéria prima de qualidade, associando-se a ela um controle rígido de todas as etapas de produção, a fim de se obter um produto seguro, direito do consumidor.

Se considerarmos o número de amostras positivas de lingüiça frescal em relação à presença de *Salmonella* spp. nos vários levantamentos publicados em vários países (BOTTELDOOM *et al.*, 2003; HALD *et al.*, 2003; PEARCE *et al.*, 2003; PALA *et al.*, 2004) e no Brasil (REIS *et al.*, 1991; HOFFMAN *et al.*, 1994; BERSOT *et al.*, 1997; SABIONI *et al.*, 1999; CHAVES *et al.*, 2000; GIOMBELLI *et al.*, 2001; WORCMAN-BARNINKA *et al.*, 2001; LOGUERCIO *et al.*, 2002; CORTEZ, 2003; MARQUES *et al.*, 2003; BONIM *et al.*, 2004), podemos concluir que existem falhas graves no tocante aos controles de segurança atualmente empregados durante a produção deste alimento tão apreciado pelo consumidor. Paradoxalmente, no entanto, o número de surtos notificados de salmonelose, tendo este alimento como veículo, é baixo.

Hansell *et al.* (1998), por exemplo, relataram a ocorrência de um surto na Inglaterra, envolvendo 25 pessoas, sendo que de 14 delas isolou-se *Salmonella* Enteritidis. Dois dos pacientes vieram a óbito, sendo que os alimentos implicados foram maionese, lingüiça e “corned beef”.

Em 1998, na Turquia, ocorreu um surto de salmonelose afetando 42 pessoas que haviam consumido lingüiça turca típica com alho, tendo sido isolada *Salmonella* Typhimurium de 20 pacientes (ULUTAN *et al.*, 1998).

Em 1986, na Holanda, 17 pessoas contraíram salmonelose, estando a enfermidade associada ao consumo de lingüiça suína fermentada. Foram encontradas contagens de 10^6 UFC/g de *Salmonella* Typhimurium nos alimentos. (VAN NETTEN *et al.*, 1986).

No Brasil não existem relatos de surtos de salmonelose envolvendo lingüiças frescas. Isso se deve, provavelmente, à precariedade de nossos sistemas de vigilância epidemiológica de ETA's, tão incipientes em nosso país.

De qualquer maneira, há que se considerar que existe um risco ao se consumir uma lingüiça, especialmente a do tipo frescal. No ano de 2002 foi desenvolvido na Dinamarca um estudo para se avaliar o risco de se contrair uma salmonelose, associado ao consumo de lingüiça seca e defumada (ALBAN *et al.*, 2002). Neste estudo, a prevalência de *Salmonella* em carcaças suínas de animais criados e abatidos na Dinamarca foi de 0,2 a 1% e nos suínos criados em outros países europeus e abatidos na Dinamarca foi de 18%. O estudo demonstrou que quando *Salmonella* está presente, ela ocorre em baixo número, ou seja, menor ou igual a 50 células a cada 400 cm² de superfície das carcaças. Os autores estimaram que de cada 1 milhão de porções de 25 gramas de lingüiça preparada com carne de animais criados na Dinamarca, *Salmonella* Typhimurium poderia ser encontrada em 245, e que de cada 1 milhão de porções de 25 gramas de lingüiça produzidas com carne de suínos criados fora da Dinamarca, o patógeno poderia ser encontrado em 19.260 delas.

Mattick *et al.* (2002) determinaram a prevalência e o número de *Salmonella* e *Campylobacter* em lingüiças frescas, bem como avaliaram a destruição destes microrganismos durante o preparo culinário. Os autores inocularam $1,5 \times 10^4$ células de *Salmonella* por lingüiça, aproximadamente 300 UFC/grama do alimento, e submeteram o produto a vários preparos culinários. *Salmonella* foi detectada em 7,5% das lingüiças que se encontravam anteriormente congeladas em 9,1% das resfriadas, sendo que os autores chegaram à conclusão que o patógeno, uma vez presente em proporção significativa no alimento, pode muitas vezes não ser destruído pelo preparo culinário.

Em termos gerais, portanto, pode-se afirmar que as lingüiças frescas, produtos de grande aceitação popular junto ao mercado consumidor brasileiro,

dependendo da qualidade microbiológica da matéria-prima e dos ingredientes empregados na sua formulação, bem como das condições higiênico-sanitárias das indústrias onde se dá a sua fabricação, podem se tornar um veículo importante de bactérias patogênicas, especialmente *Salmonella* spp., para quem as consome. Se por um lado podemos encontrar vários trabalhos na literatura que procuraram avaliar a presença de *Salmonella* nas lingüiças comercializadas em nosso país, existe uma carência de dados que possibilitem determinar o papel da matéria-prima (cortes e recortes cárneos) e de cada um dos ingredientes utilizados na elaboração do produto, como possíveis fontes de contaminação por esse importante patógeno. Neste sentido, a determinação dos elementos responsáveis pela contaminação permitirá à indústria tomar medidas que possibilitem a obtenção de um produto com menor risco de contaminação no tocante à *Salmonella*.

II - OBJETIVO

Determinar dentro de uma linha de fabricação de lingüiças frescas mistas, o papel da matéria-prima e de cada um dos ingredientes empregados na elaboração do produto, como fonte de contaminação por *Salmonella* spp.

III – MATERIAL E MÉTODOS

Todas as coletas foram realizadas em uma única indústria produtora de lingüiças frescas, sob Inspeção Federal do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). De cada partida de produção, foram coletadas amostras das matérias-primas (cortes e recortes de carnes suínas, bovinas, couro suíno e toucinho), dos ingredientes empregados (proteína de soja, globin, carmim em pó, pimenta branca moída, pimenta calabresa, erva doce em pó, coentro, gengibre e alho em pasta), dos envoltórios naturais usados no embutimento, da massa pronta antes de ser embutida e do produto final, pronto para o consumo. As amostras coletadas em sacos plásticos estéreis foram acondicionadas em caixas de isopor contendo gelo reciclável e imediatamente transportadas ao laboratório de pesquisas da disciplina de Inspeção Sanitária de Alimentos de Origem Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Unesp, campus de Botucatu, onde foram analisadas. Para a pesquisa de *Salmonella* spp., utilizou-se a técnica preconizada por Andrews *et al.* (1998), descrita a seguir e esquematizada na Figura 1.

25g de cada amostra foram pesados assepticamente em sacos plásticos estéreis, sendo a eles a seguir adicionados 225 mL de água peptonada tamponada estéril a 1%, realizando-se então a homogeneização em “stomacher” por 2 minutos. A seguir, a pesquisa do patógeno foi feita compreendendo as etapas abaixo:

a) pré-enriquecimento: Os sacos plásticos contendo as amostras e o diluente foram incubados a 35°C por 18-24h.

b) enriquecimento seletivo: 0,1 mL e 1 mL do líquido da amostra pré-enriquecida foram transferidos para tubos de ensaio contendo 10 mL de caldo Rappaport-Vassiliadis (RV) e Tetracionato (TT) respectivamente, sendo a incubação de ambos realizada a 42°C (RV) e 43°C (TT), por 18 – 24h.

c) plaqueamento seletivo: os caldos de enriquecimento seletivo foram estriados, com alça de níquel-cromo, na superfície de placas contendo ágar Bismuto de Sulfito (BS) e ágar Xilose-Lisina-Desoxicolato (XLD), com incubação a 35°C por 18-24h.

d) identificação bioquímica: as colônias características de *Salmonella* sp. foram repicadas para os ágars TSI (Triple Sugar Iron) e LIA (Lisina Iron Agar), sendo os mesmos incubados a 35°C por 18 – 24h. Foram realizados ainda os seguintes testes bioquímicos: produção de indol, reação de Vermelho de Metila e de Voges-Proskauer, utilização de citrato, produção de urease, utilização de glicose e lactose, observação do movimento e produção de fenilalanina desaminase.

e) soroaglutinação: foi realizada empregando-se anti-soro polivalente flagelar e somático.

Detectada a presença do patógeno nas amostras do produto final, as mesmas foram novamente analisadas com a finalidade de quantificar o número de células de *Salmonella*. Nesse caso utilizou-se a técnica de tubos múltiplos, determinando-se então o NMP (Número Mais Provável) de salmonelas por grama do produto, conforme técnica descrita por Mattick *et al.* (2002) e esquematizada na Figura 2.

No total foram analisadas amostras provenientes de 19 diferentes partidas de produção de lingüiça frescal, compreendendo o período de agosto de 2003 a junho de 2004.

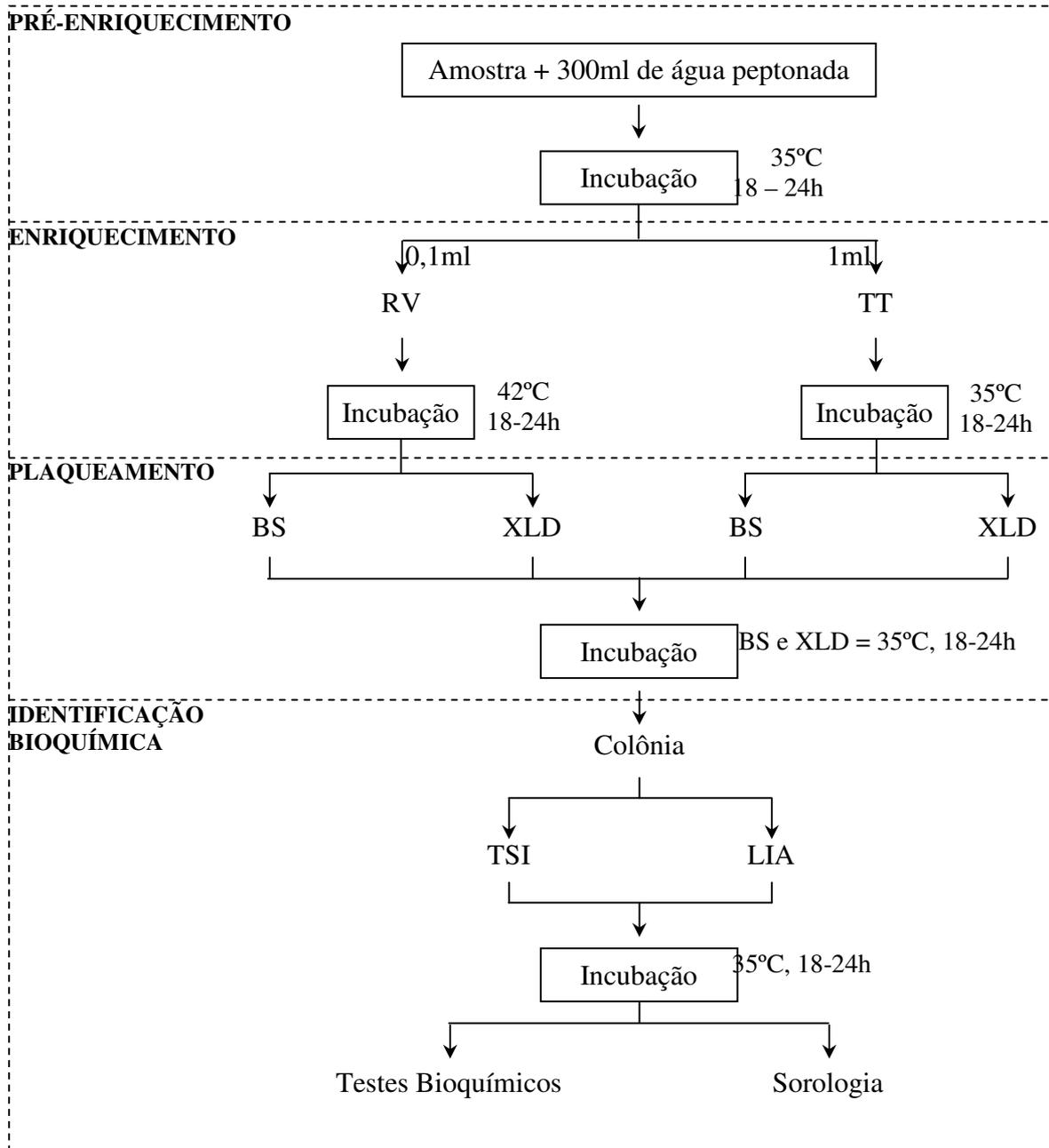


Figura 1 – Protocolo de análise de *Salmonella* spp. nas matérias-primas ingredientes, massa e produto final (lingüiça frescal), segundo metodologia preconizada por Andrews *et al.* (1998).

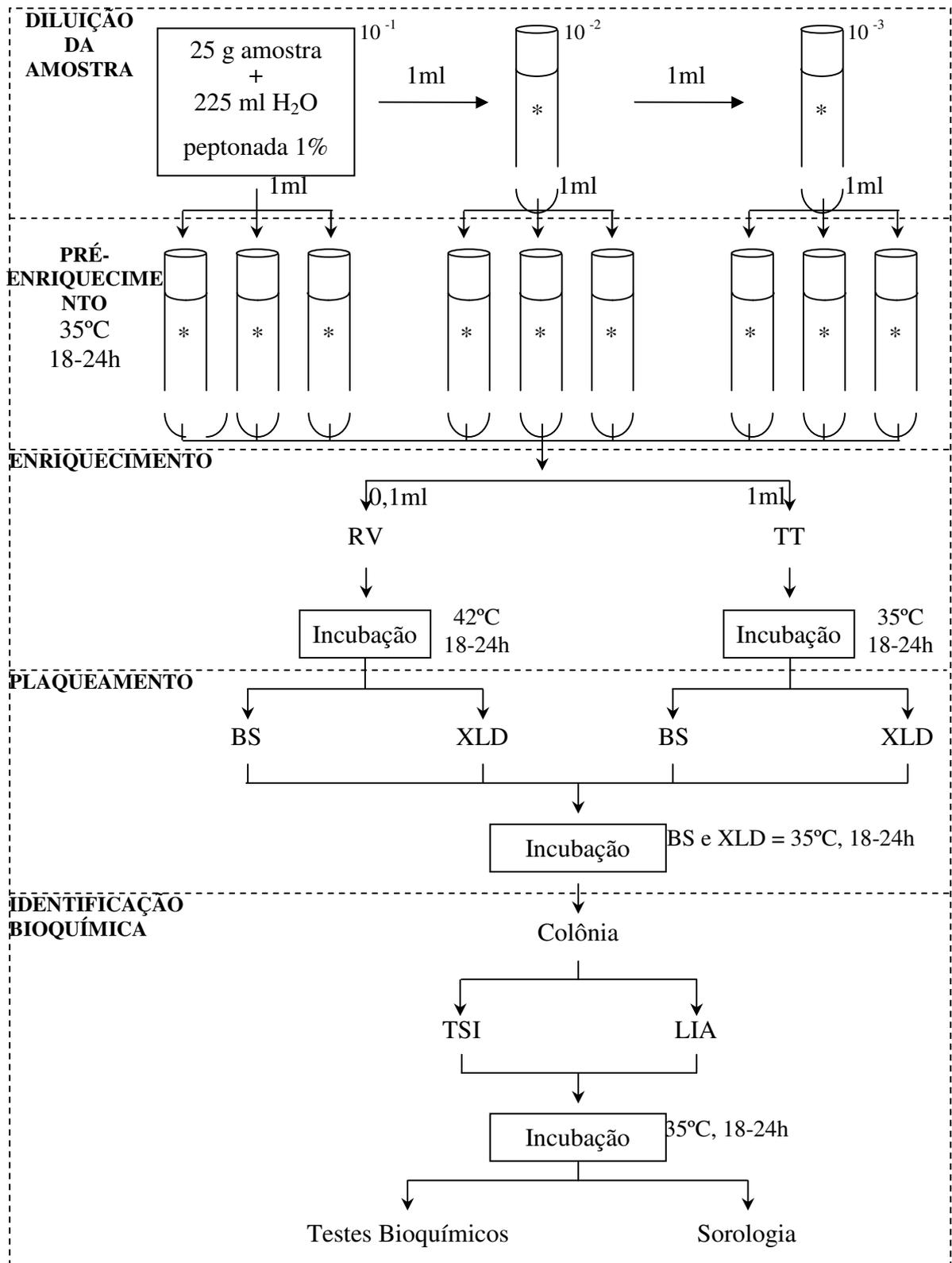


Figura 2 – Esquema de análise para enumeração de *Salmonella* spp. pelo método do número mais provável (NMP), segundo Mattick *et al.* (2002).

* 9 mL de água peptonada tamponada 1%.

IV - RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados referentes à pesquisa de *Salmonella* nos ingredientes e matérias-primas das 19 partidas de lingüiça frescal encontram-se na Tabela 1.

No presente trabalho as amostras positivas para *Salmonella* no produto final totalizaram 15,8%, superiores aos encontrados por Bozzano *et al.* (1989) 2,4%, Silvestre (1995) 13,4%, Torner *et al.* (1995) 11,5%, Guarino *et al.* (1998) 6,8%, Gallardo *et al.* (1998) 4%, Sabioni *et al.* (1999) 3%, Chaves *et al.* (2000) 10%, Bonardi *et al.* (2000) 13,2%, Loguercio *et al.* (2002) 11,82%, Marques *et al.* (2003) 0%, Bonim *et al.* (2004) 6,7%, Cortez (2003) 8,5 %, e inferiores aos encontrados por Reis *et al.* (1991) 35,3%, Hoffman *et al.* (1994) 84,61%, Abraham *et al.* (1998) 20%, Moreno (1998) 18,2%, Escartin *et al.* (1999) e Giombelli *et al.* (2001) 50,5%.

A partir das análises dos ingredientes, pode-se observar que os mesmos não foram os responsáveis pela contaminação da massa e produto final.

Isto se deve, provavelmente, ao fato de que estes produtos, adquiridos pela indústria em que foi realizada a presente pesquisa, recebem um tratamento de irradiação para diminuição e ou eliminação da contaminação bacteriana. Neste caso, portanto, ingredientes tais como pimenta branca, pimenta calabresa, erva doce

em pó, coentro, gengibre, já identificados na literatura como passíveis de contaminação por *Salmonella*, (D'AOUST *et al.*, 2001) deixam de representar um perigo como fonte de contaminação da massa e produto final.

Tabela 1 – Presença de *Salmonella* spp. nos ingredientes, matérias-primas, massa e produto acabado (lingüiça frescal) em 19 partidas produzidas.

Amostra	Partida																			TP*	%**
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19		
Lingüiça	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	3	15,8
Massa	+	-	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6	31,6
Paleta suína	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	5	26,3
Retalho suíno	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	7	36,8
Retalho toucinho	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	10,5
Couro suíno emulsificado	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0,0
Tripa suína	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0,0
Carne bovina moída	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	5,3
Proteína de soja	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0,0
Globin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0,0
Carmin em pó	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0,0
Pimenta branca moída	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0,0
Pimenta calabresa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0,0
Erva doce em pó	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0,0
Coentro	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0,0
Gengibre	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0,0
Alho em pasta	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0,0
Total	3	0	2	2	0	0	4	6	1	0	0	0	1	3	2	0	0	0	0		

* TP = Total Positivas; ** Porcentagem relativa às partidas

Amostras de outro ingrediente analisado, proteína isolada de soja, também mostraram-se negativas para *Salmonella*, o que pode ser explicado pelo fato de que este produto sofre uma desidratação severa durante seu processamento, possuindo portanto uma baixa atividade de água (DU PONT, 2004), fator restritivo ao crescimento das células de *Salmonella*. Há que se ressaltar ainda

que a proteína de soja era um produto que se apresentava bem acondicionado e conservado na indústria em questão, tendo ainda sido manipulado em boas condições de higiene, representando, portanto, um baixo risco como veículo de *Salmonella* nas lingüiças frescas produzidas.

Outro ingrediente empregado pela indústria, o carmim, também mostrou-se negativo para o patógeno. Corante natural obtido a partir da cochonilha, é comercializado na forma de pó, sendo adicionado à massa com a finalidade de promover uma coloração uniforme do produto, de agrado do consumidor. Produto com baixa atividade de água, se bem produzido e armazenado em condições de higiene, não se constitui em fonte de contaminação da massa e produto final. Deve-se ressaltar, no entanto, que o carmim já foi responsabilizado por um surto de salmonelose humana, quando de seu emprego como contraste em um paciente submetido a exame radiológico (LANG *et al.*, 1967). Ressalta-se aí, mais uma vez, a importância de uma produção e armazenagem corretas deste ingrediente, de modo a evitar a sua contaminação a partir do ambiente, seja ele na produção primária ou já na indústria que irá utilizá-lo.

Outro produto utilizado na elaboração das lingüiças e que também mostrou-se negativo para *Salmonella* foi o Globin®. Constituído por hemoglobina suína, xarope de glicose e sal, possui pH de 7,2 e, deve ser mantido sob refrigeração (ADICON, 2004), sendo empregado na forma líquida e adicionado quando do preparo da massa. Observando-se a sua composição, nota-se que as suas características intrínsecas não são impeditivas para o desenvolvimento de *Salmonella*, a não ser pela presença de cloreto de sódio. Ressalta-se portanto, a necessidade de sua armazenagem em boas condições, a fim de se evitar a sua contaminação. A exemplo da proteína de soja e do carmim, este produto sempre se

mostrou durante o período do experimento, bem armazenado e conservado sob condições higiênicas, não se constituindo, neste trabalho, fonte de contaminação das lingüiças frescas por *Salmonella*.

Também negativas para *Salmonella* foram as pesquisas realizadas nas amostras de alho em pasta, outro ingrediente utilizado na fabricação das lingüiças frescas. Este produto já foi associado a um surto de salmonelose humana na Austrália (BENNET *et al.*, 2003). Segundo estes autores, como resultado deste surto, 12 pacientes foram internados e um veio a óbito, tendo sido isolada *Salmonella* Virchow como agente etiológico, sendo o alho fresco e tomate semi-seco os alimentos envolvidos na transmissão do patógeno. O alho em pasta usado na fabricação de lingüiças vem na maioria das vezes associado com sal (cloreto de sódio), existindo aí um fator que pode contribuir para a diminuição da contaminação do mesmo por *Salmonella*. Há, porém, necessidade de se atentar para todo o processo de produção, acondicionamento, conservação e manipulação do ingrediente até a etapa de sua agregação à massa da lingüiça frescal, evitando dessa forma, que o mesmo se torne fonte de contaminação para o produto em elaboração.

Ao analisar-se os dados da Tabela 1, pode-se observar que o couro suíno emulsificado foi, entre as matérias-primas de origem animal utilizadas pela indústria, a única que se mostrou negativa para *Salmonella* em todas as amostras analisadas. Este produto sofre processo de corte e posterior cozimento a 80 ° C por 25 minutos, sendo, a seguir, resfriado e congelado em câmara fria a temperatura de – 18°C, e adicionado moído e congelado à massa da lingüiça frescal. Este processo diminui em muito a possibilidade de contaminação por *Salmonella* deste ingrediente, devido

ao tratamento térmico aplicado e ao posterior resfriamento e congelamento do mesmo.

Observando-se ainda os resultados apresentados na Tabela 1 , constata-se que as matérias-primas de origem animal, sejam elas cortes ou recortes de carne suína e bovina, foram os maiores responsáveis pela contaminação da massa e produto final.

Entre os cortes e recortes, nota-se que os de origem suína apresentaram índices maiores de contaminação por *Salmonella* (paleta – 26,3%, recortes – 36,8%), quando comparados aos de origem bovina.

Em relação à carne bovina, este foi de 5,3%, ou seja, uma amostra positiva em 19 analisadas , inferior aos encontrados por Mcevoy *et al.* (2002), 7,2% e Almeida (2002), 20% e superior aos encontrados por Phillips *et al.* (2001) 0,2% em carcaças bovinas e 0,1% em cortes, Rose *et al.* (2002), 2,1% em carcaças de vacas e touros , 0,3% em carcaças de novilhas e garrotes e 3,7% em cortes.

No que se refere à carne suína, os cortes da paleta apresentaram um índice de positividade de 26,3%, isto é, cinco amostras positivas em 19 partidas, superior aos encontrados por Pearce *et al.* (2003), 1%, Hald *et al.* (2003), 5,3% , Pala *et al.* (2004), 7,14% e inferior aos de Levre *et al.* (2001), 33,3 % , Botteldoorn *et al.* (2003), 37% .

Ainda em relação à carne suína, pode-se observar que a contaminação foi maior nos recortes (36,8%), quando comparada à dos cortes (paleta, 26,3%), fato que pode ser explicado pela maior manipulação que ocorre nos primeiros, propiciando uma maior chance de contaminação por *Salmonella* e outros microrganismos.

No tocante ainda às matérias-primas de origem animal, observa-se que o toucinho utilizado na elaboração das lingüiças também se mostrou contaminado pelo patógeno, já que em 2 das dezenove amostras analisadas, detectou-se *Salmonella*, correspondendo a 10,5% de positividade. Este valor foi inferior ao descrito por Levre *et al.* (2001), de 40%.

Pelos dados apresentados, observa-se que a contaminação da massa das lingüiças frescas se deu nesta pesquisa, exclusivamente, pelas matérias-primas de origem animal, especialmente as de origem suína. O número de amostras de massa positivas para *Salmonella*, isto é, 31,6%, é praticamente o mesmo apresentado pela matéria-prima suína, isto é, se considerarmos a média dos valores positivos da paleta e retalhos (Tabela 1).

Esta contaminação, no entanto, reduz-se à metade, quando se compararam os dados de positividade da massa (31,6%) com as do produto final já embutido (15,8%). Este resultado não era esperado, já que não existe no fluxograma de produção, nenhuma etapa posterior ao preparo da massa que justifique essa redução. Ao contrário, poder-se-ia até esperar um aumento nesta contaminação, visto que os envoltórios naturais utilizados no embutimento da massa também podem ser uma importante fonte de patógenos. Gabis *et al.* (1974), por exemplo, ao analisarem tripas naturais de suínos, ovinos e bovinos, naturalmente contaminadas por *Salmonella*, encontraram índices de positividade de 73,33%, 13,33% e 10% respectivamente. Há que se ressaltar que após o processo de salga (período que durou 3 semanas na pesquisa), as amostras de envoltório mostraram-se negativas para *Salmonella*. Em nosso estudo, todos os envoltórios utilizados pela indústria haviam sido submetidos à salga, bem como sofrido um processo de lavagem com

ácido láctico a 0,5%, procedimento este que colabora para a diminuição da contaminação por microrganismos patogênicos.

Iannuzzi *et al.* (1968), ao analisarem envoltórios bovinos experimentalmente contaminados por *Salmonella* Typhimurium, verificaram que as células do patógeno migravam para o centro da massa das lingüiças frescas, podendo ser isolados do mesmo 12 horas após a fabricação do produto.

Em envoltórios artificiais utilizados como modelo de adesão de células de *Salmonella*, Walls *et al* (1993), observaram que esta estava relacionada com a temperatura, tempo e inóculo de *Salmonella* Typhimurium.

Estes dados reforçam a importância dos envoltórios como fonte de contaminação por *Salmonella* em lingüiças frescas, principalmente se os mesmos provêm de estabelecimentos nos quais a higiene e o processo de salga são deficientes.

Em nosso estudo este fato não ocorreu, já que todas as amostras de envoltórios mostraram-se negativas para *Salmonella*. Podemos aventar a hipótese de que ao se embutir o produto, o meio torna-se mais restritivo à sobrevivência e multiplicação das células de *Salmonella*, seja por influência direta de algum fator extrínseco (maior anaerobiose no interior da lingüiça, por exemplo) e/ou por competição com outros gêneros bacterianos que sob essa nova condição ambiental, apresentariam um melhor desempenho. Confirmada essa hipótese, o embutimento das lingüiças, a par de sua função tecnológica, passaria também a representar um fator de segurança ao produto, desde que os envoltórios naturais utilizados pela indústria fossem seguros do ponto de vista microbiológico.

Ao se avaliar os valores de NMP de salmonelas quando o produto final foi novamente analisado no caso das amostras positivas, podemos observar que a

contaminação se deu por um pequeno número de células do patógeno, já que todas as amostras apresentaram valores de NMP menores do que 3/g do alimento. Este resultado difere do obtido por Boughton *et al.* (2004), que em 12 amostras positivas, em seis delas detectaram números menores que 1,5/g e nas seis restantes, estes variaram de 1,5/g até 37/g do alimento.

Apesar de os valores de NMP terem se mostrado baixos em nosso trabalho, estes resultados não conferem segurança às lingüiças produzidas, já que a literatura registra a ocorrência de surtos de salmonelose em humanos, mesmo com doses infectantes baixas (D'AOUST *et al.*, 2001). Cabe salientar que mesmo a utilização de “starters” em determinados produto não garante a segurança dos mesmos, já que se o número de células do patógeno for grande na matéria-prima, eles não seriam capazes de eliminar *Salmonella* do produto final (SAUER *et al.*, 1997). Como nas lingüiças frescas não se empregam “starters”, o risco torna-se ainda maior.

A colocação no mercado varejista de um produto contaminado, mesmo com um baixo número de células de *Salmonella*, representa um risco ao consumidor. Neste caso, o preparo culinário correto do alimento adquire uma importância ainda maior, especialmente em relação às lingüiças frescas, produto muito apreciado em churrascos. Segundo Mattick *et al.* (2002), o aquecimento da lingüiça por 6 minutos não é suficiente para eliminar todas as células de *Salmonella*. Isto só ocorre quando o aquecimento se dá por 8 a 10 minutos. Ainda segundo estes autores, lingüiças frescas resfriadas e fritas em fogo médio por no mínimo 10 minutos são mais seguras que aquelas resfriadas e fritas em fogo alto por 5 minutos, sugerindo que o emprego de fogo médio é o método de preparo culinário mais eficiente para eliminar *Salmonella* destes produtos.

Há que se ressaltar que não apenas lingüiças, mas também outros produtos cárneos, como por exemplo hambúrgueres, aproximadamente 30% deles são consumidos não totalmente cozidos e/ou fritos, o que aumenta a probabilidade de possíveis toxinfecções alimentares, principalmente salmonelose (SHIFERAW *et al.*, 2000).

Analisando-se os dados da Tabela 1 e correlacionando os resultados positivos para *Salmonella* com a estação do ano em que as amostras foram coletadas, temos que na primavera eles totalizaram 58,4%, no verão, 8,3%, no outono, 20,8% e no inverno, 12,5%. Em termos gerais, portanto, a contaminação foi mais elevada nas estações em que a temperatura é mais elevada, isto é, primavera e verão, com 66,6% de amostras positivas, sendo que no outono e inverno, esta porcentagem foi de 33,3%. Estes resultados podem ser explicados em nosso entender, pelo maior “stress” a que os suínos, especialmente, estão submetidos nos períodos mais quentes do ano, tanto nas unidades primárias de produção, como durante o transporte dos animais para o abate, o que se reflete na maior eliminação de *Salmonella* pelos mesmos (Letellier *et al.*, 1999). Uma maior contaminação ambiental nos matadouros associada a uma maior possibilidade de sobrevivência das células de *Salmonella* em equipamentos e instalações da indústria devido às temperaturas ótimas para o desenvolvimento do patógeno, também podem explicar esta maior contaminação observada nas estações mais quentes do ano. (WARRISS, 1996).

Os resultados obtidos em nosso trabalho mostram claramente que no caso da indústria em que o mesmo foi desenvolvido, a principal fonte de contaminação das lingüiças frescas foi a carne suína, tanto os cortes como os recortes.

Tais resultados mostram a importância de se trabalhar com uma matéria-prima de qualidade. Para tanto, seria fundamental que a prevalência de *Salmonella* nos rebanhos suínos destinados à indústria fosse a menor possível. Este objetivo só pode ser alcançado se houver um controle do patógeno nas unidades primárias de produção, a exemplo do que ocorre na Dinamarca. Neste país foi implantado um programa de controle de *Salmonella* nos rebanhos suínos, já que estes animais eram considerados, segundo dados epidemiológicos daquele país, de extrema importância na transmissão do patógeno ao homem e alguma medida preventiva necessitava ser tomada (HALD, WEGENER, 1999).

O programa dinamarquês divide os rebanhos suínos em 3 níveis, de acordo com a prevalência de *Salmonella* observada nas amostras examinadas (CHRISTENSEN *et al.*, 1999). Animais procedentes de rebanhos classificados como nível 3 (alta prevalência de *Salmonella*) devem ser abatidos em condições especiais e suas carcaças destinadas ao tratamento pelo calor ou outra tecnologia que elimine o patógeno.

No caso da matéria-prima utilizada na elaboração das linguiças frescas avaliadas no presente estudo, fica patente a importância da implantação de tais programas, cujos resultados se refletiriam no produto final. É na produção primária, portanto, que devem ser tomadas as primeiras medidas para reverter essa contaminação por *Salmonella*. É nela que se forma a “primeira linha de defesa”, necessária para prevenir e controlar os perigos de origem biológica, dando origem, conseqüentemente, a uma matéria-prima de melhor qualidade sanitária (KÄFERSTEIN, 2003).

O controle da matéria-prima no entanto, é somente o primeiro passo a ser dado pelo fabricante para se obter um alimento seguro. Existem atualmente outras

ferramentas de qualidade que também devem ser utilizadas pela indústria com o intuito de assegurar a produção de alimentos inócuos ao consumidor. Pelo exposto no presente estudo, sabe-se que a contaminação das lingüiças frescas por *Salmonella* na indústria em que foram coletadas as amostras, tem origem na matéria-prima. Porém, se medidas relacionadas à segurança do produto não forem tomadas durante o processamento industrial, poderemos ter uma exacerbação do perigo, com sérios danos à saúde do consumidor. Tais ferramentas, tais como as Boas Práticas de Fabricação (BPF's) (BRASIL,1997), os Procedimentos Padrão de Higiene Operacional (PPHO) (BRASIL,1998) e o Sistema APPCC (Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle) (BRASIL,1998), são hoje imprescindíveis para a obtenção de um alimento seguro, direito inalienável do consumidor.

Procedimentos corretos de higiene e desinfecção, podem, por exemplo, reduzir substancialmente a contaminação dos currais de espera dos abatedouros suínos, como verificado por Swanenburg *et al*, (2001).No caso de APPCC, em países onde o sistema foi implantado já há vários anos e os resultados têm sido monitorados, dando origem a séries constantes de dados, têm-se observado claramente uma diminuição da contaminação por *Salmonella* das carcaças não só de suínos, mas de várias outras espécies de animais (PHILLIPS *et al*, 2001; ROSE *et al*, 2002; SUMNER *et al*, 2004).

Em termos gerais, portanto, fica patente a necessidade de ações efetivas em todos os elos da cadeia produtiva de alimentos, para que ao final dela, o consumidor tenha em mãos um alimento seguro.

V – CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos, conclui-se que:

- os ingredientes utilizados pela indústria em questão não se constituíram em fontes de contaminação do produto final por *Salmonella* spp.

- a contaminação da massa e produto final deu-se exclusivamente por matérias-primas de origem animal.

- entre os produtos de origem animal empregados na elaboração das lingüiças frescas, os cortes e recortes suínos foram os maiores responsáveis pela contaminação da massa e produto final.

VI – REFERÊNCIAS *

ABRAHIM, A.; PAPA, A.; SOULTOS N.; AMBROSIADIS, I.; ANTONIADIS, A. Antibiotic resistance of *Salmonella* spp. and *Listeria* spp. Isolates from traditionally made fresh sausages in Greece. **J. Food Prot.**, v. 61, p.1378–1380, 1998.

ADICON. **Corantes naturais**. Disponível em:<http://www.adicon.com.br/paginas/prod_cor.htm>. Acesso em: 14 nov. 2004.

ALBAN, L.; OLSEN, A. M. ; NIELSEN, B.; SORENSEN, R.; JESSEN, B. Qualitative and quantitative risk assessment for human salmonellosis due to multi –resistant *Salmonella* typhimurium DT 104 from consumption of Danish dry – cured pork sausages. **Prevent. Vet. Med.**, v. 52, p. 251–265, 2002.

ANDREWS, W.H.; JUNE, G.A.; SHERROD, P.S.; HAMMAK, T.S.; AMAGUANA, R.M. *Salmonella*. In: FOOD AND DRUG ADMINISTRATION . **Bacteriological**

*

* ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023**: informação e

documentação - Referências - Elaboração. Rio de Janeiro, 2002. 24p.

BIOSIS. **Serial sources for the BIOSIS preview database**. Philadelphia, 1996. 468p.

analytical manual: Revision A. 8 th ed. Gaithersburg: AOAC INTERNATIONAL,
1998. p.5.01-5.020.

ANONYMOUS.28 November. **European Comission** [press release].Available from:
<<http://www.europa.eu.int>>. Acesso em: 13.set.2004..

BELO-PÉREZ, L.A. Serotipos de *Salmonella* identificados en chorizos que se expeden en Acapulco, Guerrero, México. **Rev. Latino-Am. Microbiol.**, v.35, p. 377-381, 1993.

BENNET, C. M.; DALTON, C.; BEERS-DEEBLE, M.; MILAZZO, A.; KRAA E.; DAVOS, D.; PUECH M, TAN A.; HEUZENROEDER, M. W. Fresh garlic a posible vehicle for *Salmonella* vichow. **Epidemiol. Infect.**, v. 131, p.1041 – 1048, 2003.

BERENDS, B. R.; VAN KNAPEN, F.; MOSSEL, D. A. A.; BURT, S. A.; SNIJDERS, J. M. A. *Salmonella* spp. On pork at cutting plants and at the retail level and the influence of particular risk factors. **Int. J. Food Microbiol.**, v. 44, p. 207–217, 1998.

BERSOT, L.S.; NOGUEIRA-PINTO, J.P.A.; AMARAL, G.P.; SONODA, R.N. Avaliação microbiológica de produtos embutidos encaminhados ao Serviço de Orientação à Alimentação Pública (SOAP) da FMVZ, Unesp, campus de Botucatu. In: ENCONTRO NACIONAL DE HIGIENISTAS DE ALIMENTOS, 4., 1997, Recife. **Anais...** Recife, 1997. 1 Disquete.

BERSOT, L.S. Cadeia produtiva de suínos e disseminação de *Salmonella*. **Rev. CFMV**, n. 31, p.15-20, 2004.

BESSA, M.C.; COSTA, M ; CARDOSO, M. Prevalência de *Salmonella* sp em suínos abatidos em frigoríficos do Rio Grande do Sul. **Pesq. Vet. Bras.**, v. 24, p. 80-84, 2004.

BONARDI, S.; BRINDAN, F.; PIZZINI, G.; BACCI, C.; CENCI, A.; D'INCAN, M.; LIEBANA E. Microbiological hazard of fresh pork sausages: result of a 1 – year study. **Ind. Aliment.**, v. 41,p.782–788, 2002.

BONIM, M.F.; ALFANI, R.; MUNHOZ, P.M.; AMARAL, G.P.; MARTINS, O.A.; BIONDI, G.F.; PINTO, J.P.A.N. *Salmonella* spp. em carne suína e derivados: amostras analisadas pelo Serviço de Orientação à Alimentação Pública (SOAP). In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE INOCUIDADE DE ALIMENTOS, 3., 2004, São Paulo. **Resumos...** São Paulo, 2004. p.9.

BOLTERDORN, N.; HEYNDRICKX, M.; RIJPENS, N.; GRIJSPEERDT, K.; HERMAN, L. *Salmonella* on pig carcasses positive pigs and cross contamination in the slaughterhouse. **J. Appl. Microbiol.**, v. 95, p. 891–903, 2003.

BOUGHTON, C.; LEONARD, F. C.; EGAN, J.; KELLY, G., O'MAHONY, P., MARKEY, B.K.; GRIFFIN,M. Prevalence and number of *Salmonella* in Irish retail pork sausages. **J. Food Prot.**, v.67, p.1834-1839, 2004.

BOZZANO, A. I.; DI GUARDO, G.; SACCARES, S.; BILEI, S.; ZOTTOLA, T.; BROZZI, A.M.; PANFILI, G.; FONTANELLI, G. Occurrence of *Salmonella* in pork meat and processed pork products in the Latium Region (Central Italy) from 1980 to 1989. Ital. **J. Food Sci.**, v. 2, p.167–172, 1993.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regulamento Técnico sobre as condições higiênico – sanitárias e de boas práticas de elaboração para estabelecimentos elaboradores/industrializadores de alimentos. Portaria n º 368 de 04/09/1997.** Brasília, 1997. Disponível em:<<http://oc4j.agricultura.gov.br/agrolegis/do/consultaLei?op=viewTextual&codigo=3015>>. Acesso em: 14 nov. 2004.

BRASIL. Ministério da Agricultura , Pecuária e Abastecimento. **Manual genérico de procedimentos para APPCC em indústrias de produtos de origem animal. Portaria nº 46 de 10/02/1998.** Brasília, 1998. Disponível em: <<http://oc4j.agricultura.gov.br/agrolegis/do/consultaLei?op=viewTextual&codigo=1139>> . Acesso em:14 nov. 2004.

BRASIL. Ministério da Agricultura , Pecuária e Abastecimento. **Regulamento Técnico de identidade e qualidade de lingüiças. Instrução Normativa n º 04 de 05/04/2000.** Brasília, 2000. Disponível em:<<http://oc4j.agricultura.gov.br/agrolegis/do/consultaLei?op=viewTextual&codigo=7778>> .Acesso em:14 nov. 2004.

CASTAGNA, S.M.F.; SCHWARZ, P.; CANAL, C.W.; CARDOSO, M. Presença de *Salmonella* sp. no trato intestinal e em tonsilas/linfonodos submandibulares de suínos ao abate. **Arq. Bras. Med.Vet. Zootec.**, v. 56, p. 300-306, 2004.

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. **Hig. Aliment.**, v. 14, p. 48 – 52, 2000.

CHRISTENSEN, J.; BAGGESEN, D.L.; SOERENSEN, V.; SVENSMARK, B. *Salmonella* level of Danish swine herds based on serological examination of meat-juice samples and *Salmonella* occurrence measured by bacteriological follow-up. **Prev. Vet. Med.**, v.40, p.277-292, 1999.

CORTEZ, A.L.L. **Indicadores de qualidade higiênico-sanitária em lingüiça frescal comercializada no município de Jaboticabal**. 2003. 42f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária – Medicina Veterinária Preventiva) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias ,Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

DAVIES, R. H.; DALZIEL, R.; GIBBENS, J. C.; WILESMITH, J. W.; RYAN, J. M. B.; EVANS, S. J.; BYRNE, C.; PAIBA, G.A.; PASCOE, S.J. S.; TEALE, C.J. National survey for *Salmonella* in pigs, cattle and sheep at slaughter in Great Britain (1999 – 2000). **J. Appl. Microbiol.**, v. 96, p. 750 – 760, 2004.

D'AOUST, J.Y.; MAURER, J.; BAILEY, J.S. *Salmonella* species. In: DOYLE, M.P.; BEUCHAT, L.R.; MONTVILLE, T.J. (Eds). **Food microbiology**: fundamentals and frontiers. Washington: ASM Press, 2001. p.141-178.

DOYLE, M.P. The emergence of new agents of foodborne disease in the 1980s. **Food Res. Int.**, v.27, p.219-226, 1994.

DU PONT. Proteína isolada de soja. Disponível em:<<http://www.dupont.com.br/public/port/produto/>> Acesso em: 14 nov. 2004.

EISS, M.I. Irradiation of spices and herbs. **Food Technol. Aust.**, v.36, n.8, p. 362-370, 1984.

ESCARTIN, E. F.; CASTILLO, A.; HINOJOSA– PUGA, A.; SALDAÑA–LOZANO, J. Prevalence of *Salmonella* in chorizo and its survival under different storage temperatures **Food Microbiol.**, v. 16, p. 479–486, 1999.

FOODNET. Preliminary FoodNet data on the incidence of foodborne illnesses – selected sites, United States, 2002. **MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep**, v.52, p.340-343, 2003.

GABIS, D. A.; SILLIKER, J. H.. *Salmonella* in natural animal casings. **Appl. Microbiol.**, v.27, p. 66 – 71, 1974.

GALLARDO, C. S.; SINDE, E.; ANDRÉS, A.; ABAD, D. Y.; RODRÍGUEZ, L. A. Flora microbiana associada a diferentes tipos de salsichas. **Alimentaria**, v. 35, p. 35–38, 1998.

GIOMBELLI, A.; SILVA, N.L. Avaliação do método tradicional para detecção de *Salmonella* spp em carnes in natura. **Hig. Aliment.**, v. 15 , p. 63-66, 2001.

GUARINO , A.; FUSCO, G.; ROMANO, M.; DE MARCO, G.; BANI, A. Epidemiologic investigationon *Salmonella* presence in animal origin food. **Ind. Aliment.**, v. 37, p. 604–613,1998.

HALD, T.; WEGENER, H.C. Quantitative assessment of the sources of human salmonellosis attributable to pork. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON EPIDEMIOLOGY AND CONTROL OF *SALMONELLA* IN PORK, 3., 1999, Washington. **Proceedings...** Washington, 1999.

HALD, T.; WINGSTRAND, A.; SWANENBURG, M.; ALTROCK VON, A.; THORBERG, B. M. The occurrence and epidemiology of *Salmonella* in European pig slaughterhouse. **Epidemiol. Infect.**, v. 131, p. 1187– 230, 2003.

HANSELL, A . L.; SEM, S.; SUFI, F.; CALLUMA, M.C. An outbreak of *Salmonella* enteritidis phage type 5a infection in a residential home for ederly people. **Commun. Dis. Public Heath**, v.1, p.172– 75, 1998.

HOFFMANN, F.L., CRUZ, C.H.G., VINTURIM, T.M. Qualidade higiénico- sanitária de condimentos e especiarias produzidas por uma indústria da cidade de São José do Rio Preto. **Bol. CEPPA**, v. 12, p. 81– 88, 1994.

IANNUZZI, L.; PIRAGINO, S. Sulla migrazione de *S. tiphimurium* nell 'impasto delle salsicce fresche. **Zooprofilassi**, v.23,p.491-493,1968.

KÄFERSTEIN, F.K. Actions to reverse the upward curve of foodborne illness. **Food Control.**, v.14, p.101-109, 2003.

JACKSON, G.J.; LANGFORD, C.F.; ARCHER, D.L. Control of salmonellosis and similar foodborne infections. **Food Control.**, v.2, p.26-34, 1991.

LANG, D.J.; KUNS, L.J.; MARTIM, A.R.; SCHROEDER, S.A.; THOMSON, L.A. Carmine as a source of nosocomial salmonellosis. **N. Engl. J. Med.**, v.276, p.829-832, 1967.

LÁZARO, N.S.; TIBANA, A.; HOFER, E. *Salmonella* spp. in healthy swine and in abattoir environments in Brazil. **J. Food Prot.**, v.60, p.1029-1033, 1997.

LETELLIER, A., MESSIER, S., PARÉ, J., MÈNARD, J., QUESSY, S. Distribution of *Salmonella* in swine herds in Québec. **Veterinary Microbiology**, v. 67, p. 299-306, 1999.

LEVRÈ, E.; VALENTINI, P.; PEDONE, R.; BIGAZZI, F.; ROMAGNOLE, G. La ricerca di *Salmonella* in salami di carne suína come chiave di lettura di un adeguato piano di autocontrollo. **L'igiene Mod.**, v.116, p. 77-88, 2001.

LOGUERCIO, A. P.; ALEIXO, J. A .G.; VARGAS, A . C.; COSTA, M.M. Elisa indireto na detecção de *Salmonella* spp. em lingüiça suína. **Ciênc. Rural**, v.32, p. 1057 – 1062, 2002.

LOURENÇÃO, T.B.; UMEMURA, C.Y.; PINTO, J.P.A.N. Avaliação da qualidade higiênico-sanitária de amostras de pimenta-do-reino e orégano comercializadas em Botucatu, SP. In: JORNADA DE NUTRIÇÃO DA UNESP DE BOTUCATU, 4., 2004, Botucatu. **Resumos...** Botucatu, 2004. p.9.

MANHOSO, F.F.R. Aspectos químicos e microbiológicos das lingüiças tipo frescal no Brasil. **Hig. Aliment.**, v. 9, p. 20–22, 1998.

MARQUES, S. C.; BRCKO, C.C.; JUNQUEIRA, A . C.; BOARI, C. A.; PICCOLI–VALLE, R. H. Avaliação higiênico sanitária de lingüiças tipo frescal comercializadas no município de Três Corações – MG. **Hig. Aliment.**, v. 17, p. 110 – 111, 2003.

MATTICK, K.L.; BAILEY, R.A.; JORGENSEN, F.; HUMPHREY. The prevalence and number of *Salmonella* in sausages and their destruction by fryind, grilling or barbecuing. **J. Appl. Microbiol.**, v.93, p.541-547, 2002.

MCEVOY, J.M.; DOHERTY, A. M.; SHERIDAN, J.J.; BLAIR I.,S.; MCDOWELL, D.A. The prevalence of *Salmonella* spp in bovine faecal, rumen and carcass samples at a commercial abattoir. **J. Appl. Microbiol.**, v 94. p. 693 – 700, 2003.

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 Infectious Diseases*, v.5, p.607-625, 1999.

MORENO, P. L.Á. S.; FOGAÇA, F.; GARCIA, M.; TORREGROSA, A. Calidad microbiológica de los productos carnicos de las áreas de saslud de Alcoi y Xativa durante el triênio 1993 – 1995. **Alimentaria**, v.34, p.37–41, 1997.

PAFUMI, J. Assessment of the microbiological quality of spices and herbs. **J. Food Prot.**, v.49, n. 12, p. 958-963, 1986.

PALA, T. R.; SEVILLA, A.. Microbial contamination of carcasses, meat, equipment from an Iberian pork cutting plant. **J. Food Prot.**, v. 67, n.8, p. 1624 –1629, 2004.

PEARCE, R. A.; BOLTON, D. J.; SHERIDAN, J. J.; MCDOWELL, D. A.; BLAIR, J. S.; HARRINGTON, D. Studies to determine the critical control points in pork slaughter hazard analysis and critical control point systems .**Int. J. Food Microbiol.**, v. 90, p. 331–339, 2003.

PHILLIPS, D.; SUMNER, J.; ALEXANDER, J. F.; DUTTON, K. M. Microbiological quality of australian beef. **J. Food Prot.**, v. 64, p. 692-696, 2001.

REIS, R. B.; KRUGER, C. S.; MACIEL, M. S. *Salmonella* spp., em produtos cárneos comercializados no município de Cuiabá – MT. Avaliação da metodologia de pesquisa. Modelos de resistência a drogas antimicrobianas. **Ciênc. Technol. Aliment.**, v. 15, p. 74 – 78, 1995.

ROSE, E. B.; HILL, W. E.; UMHOLTZ, R.; RANSOM, G. M.; JAMES, W. O. Testing for *Salmonella* in raw meat and poultry products collected at federally inspected establishments in the United States, 1998 through 2000. **J. Food Prot.**, v. 65, p. 937 –947, 2002.

SABIONI, J. G.; MAIA, A. R. P.; LEAL, J. A. Avaliação microbiológica de lingüiça fresca comercializada na cidade de Ouro Preto, MG. **Hig. Aliment.**, v. 13, p.110–113, 1999.

SANTOS, C.C.M.; GRACIANO, R.A.S.; PERESI, J.T.M.; RIBEIRO, A.K.; CARVALHO, I.S.; QUIRINO, G.K.; LOPES, M.R.V.; SILVIRA Jr, P.B. Avaliação dos padrões de identidade e qualidade da pimenta-do-reino comercializada na região de São José do Rio Preto, SP. **Hig. Aliment.**, v.13, p.101-104, 1999.

SAUER, C. J.; MAJKOWSKI, J.; GREEN, S.; ECKEL, R. Foodborne illness outbreak associated with a semi-dry fermented sausage product. **J. Food Prot.**, v.60, p. 1612 – 1617, 1997.

SHIFERAW, B.; YANG, S.; CIELA, S.K. P.; VUGIA, D.; MARCUS, R.; KOEHLER, J.; DENEEN, V.; ANGULO F. The Foodnet Working Group, 2000. Prevalence of high-risk food consumption and food-handling practices among adults: a multistate survey, 1996 to 1997. **J. Food Prot.**, v. 63, p.1538-1543, 2000

SILVESTRE M. H. La calidad de carnes frescas picadas de bovino, ovino, porcino y similares. **Alimentaria**, v 32, p. 83 – 85, sep. 1995.

SUMNER, J., RAVEN, G., GIVNEY, R. Have changes to meat and poultry food safety regulation in Australia affected the prevalence of *Salmonella* or of salmonellosis? **Int. J. Food Microbiol.**, v.92, p. 199-205,2004.

SWANENBURG, M., URLINGS, H. A.P.,KEUZENKAMP, D.A. & SNIJDERS, J.M.A. *Salmonella* in the lairage of pig slaughterhouse. **J. Food Prot.**, v. 64, p. 12-16, 2001.

TORNER, M.J.; CASTILLO, M.; PLÁ, S.; HERNANDORENA, M. J. Estudio de la calidad sanitaria de productos cárnicos frescos elaborados en carnicerías-salchicherías del área de salud de Xátiva. **Alimentaria**, v.32, p. 27 – 31, 1995.

ULUTAN, F.; SULTAN, N.; DAVUTOGLU, E.; USTA, D. .Outbreak of poisoning caused by *Salmonella typhimurium*. **Mikrobiyol Bull.**, v. 22, p. 95–100, 1988.

VANDERLINE, P., SHAY, B., MURRAY, J. Microbial quality of Australian beef carcass meat and frozen bulk packed beef. **J. Food Prot.**, v. 61, p. 437 – 443, 1999.

VAN NETTEN, P.; LEENAERTS, J.; HEIKANT, G. M.; MOSSEL, D.A. A small outbreak of salmonellosis caused by bologna sausage. **Tijdschr. Diergeneeskd.**, v. 111, p. 1271– 1275, 1986.

WALLS, I.; COOKE, P.H.; BENEDICT, R.C.; BUCHANAN R.L. Sausage casings as a model for attachment of *Salmonella* to meat. **J. Food Prot.**, v. 56, p. 390-394, 1993

WARRISS, P.D., 1996. Guideline for the handling of pigs antemortem-interim conclusions from EC-AIR3-project CT920262,p.217-224. **In** Proceedings of the EU seminar: new information on welfare and meat quality of pigs as related to handling, transport and lairage conditions, Mariensee, Germany, 29 to 30 June 1995.

WORCMAN-BARNINKA, D.; DESTRO, M. T.; FERNANDES, S. A.; LANDGRAF, M. Evaluation of motility enrichment on modified semi-solid Rappaport-Vassiliadis medium (MSRV) for the detection of *Salmonella* in foods. **Int. Food Microbiol.**, v.64, p. 387-393, 2001.