

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA**

**PROCESSO TECNOLÓGICO E PRESENÇA DE BACTÉRIAS CAUSADORAS DE
DOENÇA TRANSMITIDA POR ALIMENTOS EM SALAMES: REVISÃO
BIBLIOGRÁFICA**

GABRIELA OROSCO WERLANG

PORTO ALEGRE

2012

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA**

**PROCESSO TECNOLÓGICO E PRESENÇA DE BACTÉRIAS CAUSADORAS DE
DOENÇA TRANSMITIDA POR ALIMENTOS EM SALAMES: REVISÃO
BIBLIOGRÁFICA**

Autora: Gabriela Orosco Werlang

**Monografia apresentada à Faculdade de
Veterinária como requisito parcial para
obtenção da Graduação em Medicina
Veterinária.**

**Orientadora: Professora Dra. Marisa
Ribeiro de Itapema Cardoso**

Co-orientadora: Msc. Caroline Pissetti

PORTO ALEGRE

2012

RESUMO

Salame, produto cárneo industrializado curtido, fermentado, maturado, defumado ou não, e dessecado, é um alimento geralmente consumido sem tratamento térmico. As fases do processamento devem garantir a inocuidade do produto a fim de evitar as Doenças Transmissíveis por Alimentos (DTA's) nos consumidores. Esse produto representa 2% das vendas de toda a aquisição familiar brasileira, sendo consumido por uma grande parcela da população. Visando proteção à saúde dos indivíduos e a qualidade microbiológica dos produtos alimentícios, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) elaborou o Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. Nessa estão determinados os limites e critérios para a tolerância máxima de microrganismos presentes nos alimentos produzidos os quais devem ser rastreados. Nela estão previstos parâmetros para Coliformes a 45°C, *Salmonella* sp e Estafilococos coagulase positiva, entretanto este regulamento não obriga o controle de *Listeria monocytogenes*. Entretanto, a literatura documenta que a presença de *Escherichia coli* O157: H7, *Salmonella* Montevideo, estafilococos e *Listeria monocytogenes* é possível em salame, e muitos surtos foram atribuídos ao consumo do produto. Concluiu-se que esses micro-organismos podem sobreviver no salame, seja por mau processamento, falhas nas Boas Práticas de Fabricação, ou adaptação dos patógenos. Portanto, as autoridades sanitárias devem estar alertas para o monitoramento da inocuidade desse produto.

Palavras-chave: Salame, micro-organismos, Doenças Transmitidas por Alimentos

ABSTRACT

Salami, meat product industrialized tanned, fermented, cured, smoked or not, and dried, is a food consumed without heat treatment. The stages of processing must ensure the safety of the product to prevent foodborne disease to consumers. This product represents 2% of all sales of the Brazilian acquisition family, being consumed by a large proportion of the population. Aiming to protect the health of individuals and the microbiological quality of food products, the Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) has developed the Technical Regulation on Microbiological Standards for Foods. The limits and criteria for the tolerance of microorganisms present in food produced which should be screened: Coliforms at 45 ° C, *Salmonella* and coagulase-positive *Staphylococcus*. However this regulation does not require the control of *Listeria monocytogenes*. The literature documents the presence of *Escherichia coli* O157: H7, *Salmonella* Montevideo, staphylococci and *Listeria monocytogenes*. It was concluded that these microorganisms can survive in this product, whether by bad processing, failures in Good Manufacturing Practices (GMP), either by adaptation of these pathogens. Therefore, health authorities should be alert to monitor the safety of this product.

Key-words: Salami, microorganisms, foodborne disease.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	6
1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	8
1.1 SALAME	8
1.2 PROCESSAMENTO TECNOLÓGICO	8
1.2.1 Processo produtivo	11
a) Primeira fase.....	11
b) Segunda fase	11
c) Terceira fase	12
d) Quarta fase	12
e) Quinta fase	12
f) Sexta fase	13
1.2.2 Defumação.....	13
1.2.3 Ingredientes.....	13
1.2.3.1 Água.....	13
1.2.3.2 Cloreto de sódio	13
1.2.3.3 Nitrato de sódio.....	14
1.2.3.4 Carboidratos	14
1.2.3.5 Antioxidantes	14
1.2.3.6 Condimentos	15
1.3 CONTROLE MICROBIOLÓGICO	15
1.3.1 Critérios microbiológicos exigidos	15
1.3.2 Coliforme a 45°C.....	16
1.3.2.1 <i>Escherichia coli</i>	16
a) <i>Escherichia coli</i> enteropatogênica.....	17
b) <i>Escherichia coli</i> enteroagregativa	18
c) <i>Escherichia coli</i> enterotoxigênica	18
d) <i>Escherichia coli</i> enteroinvasora	19
e) <i>Escherichia coli</i> difusamente aderentes	19
f) <i>Escherichia coli</i> enterohemorrágica	20
1.3.3 <i>Salmonella enterica</i>	21
1.3.4 <i>Listeria monocytogenes</i>	24

1.3.5 Estafilococos coagulase positiva	26
2. DISCUSSÃO	29
3. CONCLUSÃO.....	32

INTRODUÇÃO

A carne fresca é um alimento altamente perecível, pois propicia o desenvolvimento de micro-organismos devido a sua elevada atividade de água, diminuindo o prazo de vida útil (ORDÓÑEZ, 2007). Aliado a isso, o ambiente no qual os alimentos são preparados e manipulados podem ter um impacto significativo sobre a qualidade e segurança microbiológica, principalmente em alimentos prontos para o consumo (TOMPKIM, 2004).

O conhecimento empírico de que a salga poderia preservar a carne sem refrigeração é baseado na prevenção do crescimento microbiano causado pelo aumento da pressão osmótica em tais produtos. Além disso ao longo dos anos, as carnes curadas foram sendo valorizadas por sua qualidade organoléptica em si (LAWRIE, 2004).

A carne quando preparada de modo que suas propriedades originais sejam modificadas por tratamento físico, químico ou biológico, ou, ainda, pela combinação destes métodos, passa a ser chamada de produto cárneo. Tais processos visam o prolongamento da vida de prateleira, atuando de modo a anular ou atenuar a ação das enzimas e micro-organismos, mantendo a qualidade nutritiva e organoléptica e a sua integridade. Atualmente a fabricação de embutidos crus curados constitui uma parte da indústria de produtos cárneos, sendo sua maior origem de influência os países mediterrâneos e a Alemanha, um dos principais produtores.

No Brasil, o salame, tradicional produto cárneo embutido, cru, fermentado, teve o início de sua fabricação com a colonização italiana, no sul do país, região com clima propício para a produção caseira que, com o passar do tempo, deu origem às pequenas fábricas (TERRA, 2004).

Mudanças na busca de melhor qualidade, redução de custos e investimentos na tecnologia de produção, foram percebidas pelo mercado consumidor brasileiro de salames. Em 2009, segundo relatório anual da Associação Brasileira da Indústria Produtora e Exportadora de Carne Suína – ABIPECS, dentre os produtos embutidos derivados de carne suína, o salame representou 2% das vendas de toda a aquisição domiciliar brasileira (ABIPECS, 2010).

A industrialização refere-se a uma série de inovações na produção, preservação e transporte dos alimentos que mudou radicalmente os hábitos alimentares durante o século XX. Com essa mudança, observa-se a preocupação e o aumento dos problemas de segurança

alimentar. As doenças transmitidas por alimentos (DTAs) são responsáveis por uma grande parte das infecções emergentes (SAEED & NAJI, 2007).

As barreiras presentes nos produtos cárneos fermentados podem ser suficientes para impedir o desenvolvimento de bactérias deteriorantes e patogênicas. No entanto, estudos têm demonstrado que a sobrevivência de patógenos como *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Listeria* spp., estafilococos coagulase positiva pode ocorrer nesses produtos mesmo em condições desfavoráveis (GOTTARDO, 2011).

Segundo a Secretaria da Saúde do Rio Grande do Sul (SES), as DTAs acometem milhares de pessoas por dia em todo o mundo, mas podem ser facilmente prevenidas. No Brasil não há estudos sobre o impacto das DTAs na economia do país, mas pode-se avaliar os custos a partir dos valores acima de R\$ 100.000,00 pagos pelo SUS para internações por doenças de veiculação alimentar e hídrica como febre tifóide, cólera, gastroenterites, entre outras (RANTHUM, 2012).

Diante dessa casuística, esta revisão bibliográfica teve como objetivo o estudo do processamento do salame e de bactérias causadoras de Doença Transmitida por Alimentos potencialmente veiculados por salames.

1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1 SALAME

Segundo a Instrução Normativa 22, entende-se por salame, o produto cárneo industrializado obtido de carne suína ou a mistura de suína e bovina adicionado de toucinho, ingredientes, embutidos em envoltórios naturais e/ou artificiais, curtido, fermentado, maturado, defumado ou não, e dessecado. A presença de mofo é uma consequência natural do processo tecnológico de fabricação (BRASIL, 2000).

São descritos oito tipos de salame: Salame tipo Italiano, Salame tipo Milano, Salame tipo Hamburguês, Salame tipo Napolitano, Salame tipo Friolano, Salame tipo Calabrês, Salame tipo Alemão e Salaminho, podendo haver outros nomes desde que seguido de suas especificações obrigatória (BRASIL, 2000).

Existe uma variedade de salames e esses diferem em relação à sua origem e processo de obtenção, características físico-químicas e algumas particularidades, sendo cada um descrito em um Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade individual na legislação (Quadro 1).

1.2 PROCESSAMENTO TECNOLÓGICO

Entre os processos físicos de preparação das carnes conta-se com o tratamento pelo calor, pelas radiações e pelo frio (PARDI et al., 1996).

Os processos químicos preveem a cura pelo sal além de sais de cura, a acidificação, adição de conservadores naturais e artificiais e, como tratamento complementar, a defumação.

Os processos biológicos agem por conta de antibióticos e de fermentos, estes, por exemplo, na maturação de salames e presuntos crus (PARDI et al., 1996).

Quadro 1 – Definição e composição entre os salames descritos na IN nº 22/2000 e IN nº 55/2003

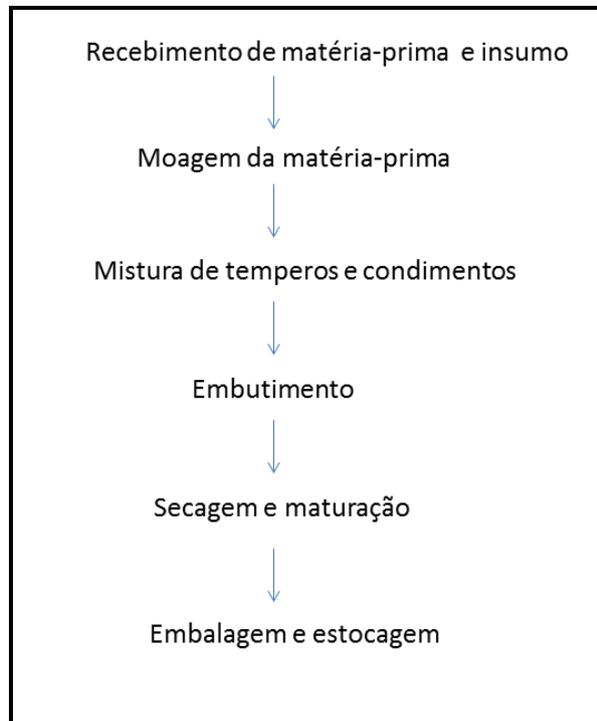
Salame	Definição	Composição – Ingredientes		Características Físico-Químicas
		Obrigatórios	Opcionais	
<i>Salaminho</i>	Produto cárneo industrializado, elaborado de carne suína ou suína e bovina, toucinho, com granulometria média entre 6 e 9 mm, embutido em envoltórios naturais ou artificiais, adicionado de ingredientes, curado, defumado ou não, fermentado, maturado e dessecado por tempo indicado pelo processo de fabricação. Produto caracterizado por ser embutido em tripas com calibre até 50 mm.	Carne suína (mín. 60%) Toucinho Sal, nitrito e/ou nitrato de sódio e/ou potássio	Carne Bovina Leite em pó Açúcares / Maltodextrinas Proteínas lácteas Aditivos intencionais / Vinho Condimentos, aromas e especiarias Substâncias glazeantes (revestimento externo)	Atividade de água (máx.) 0,90 Umidade (max) 35 % Gordura (máx.) 32 % Proteína (mín.) 25 % Carboidratos totais (máx.) 4,0%
<i>Salame tipo Alemão</i>	Produto cárneo industrializado, elaborado a partir de carne exclusivamente de suínos, adicionado de toucinho, moídos em granulometria fina (de 3 a 6 mm), embutidos em envoltório natural ou artificial, curado, fermentado, maturado, defumado ou não e dessecado por tempo indicado pelo processo de fabricação.	Carne suína Toucinho Sal, nitrito e/ou nitrato de sódio e/ou potássio	Leite em pó Açúcares / Maltodextrinas Proteínas lácteas Aditivos intencionais / Vinho Condimentos, aromas e especiarias Substâncias glazeantes (revestimento externo)	Atividade de água (máx.) 0,90 Umidade (max) 35 % Gordura (máx.) 32 % Proteína (mín.) 25 % Carboidratos totais (máx.) 4,0%
<i>Salame tipo Calabrês</i>	Produto cárneo industrializado, elaborado de carne suína ou suína e bovina, adicionado de toucinho, moídos em granulometria média entre 10 e 15 mm, adicionado de ingredientes, embutido em envoltório natural ou artificial, curado, fermentado, maturado e dessecado por tempo indicado pelo processo de fabricação. Produto caracterizado pelo sabor picante e calibre de 80 mm.	Carne Suína (mín. 60%) Toucinho Pimenta calabresa Sal, nitrito e/ou nitrato de sódio e/ou potássio	Leite em pó Açúcares / Maltodextrinas Proteínas lácteas Aditivos intencionais / Vinho Condimentos, aromas e especiarias Substâncias glazeantes (revestimento externo)	Atividade de água (máx.) 0,90 Umidade (max) 35 % Gordura (máx.) 32 % Proteína (mín.) 25 % Carboidratos totais (máx.) 4,0%
<i>Salame tipo Friolano</i>	Produto cárneo industrializado, elaborado exclusivamente de carnes suínas e toucinho, adicionado de ingredientes, moídos em granulometria média entre 6 e 9 mm, embutido em envoltórios naturais ou artificiais, adicionado de ingredientes, curado, defumado ou não, fermentado, maturado e dessecado por tempo indicado pelo processo de fabricação.	Carne Suína Toucinho Sal, nitrito e/ou nitrato de sódio e/ou potássio	Leite em pó Açúcares / Maltodextrinas Proteínas lácteas Aditivos intencionais / Vinho Condimentos, aromas e especiarias Substâncias glazeantes (revestimento externo)	Atividade de água (máx.) 0,90 Umidade (max) 35 % Gordura (máx.) 32 % Proteína (mín.) 25 % Carboidratos totais (máx.) 4,0%

<i>Salame tipo Napolitano</i>	Produto cárneo industrializado, elaborado a partir de carnes suínas ou suínas e bovinas, adicionado de toucinho, ingredientes, moídos em granulometria grossa (de 8 a 12 mm), pimenta do reino quebrada ou em grãos, alho, embutido em envoltório natural ou artificial, curado, fermentado, maturado, defumado ou não e dessecado por tempo indicado pelo processo de fabricação.	Carne Suína (mín.60%) Toucinho Pimenta do reino Alho, Sal, nitrito e/ou nitrato de sódio e/ou potássio	Carne bovina Leite em pó Açúcares / Maltodextrinas Proteínas lácteas Aditivos intencionais / Vinho Condimentos, aromas e especiarias Substâncias glaceantes (revestimento externo)	Atividade de água (máx.) 0,90 Umidade (max) 35 % Gordura (máx.) 32 % Proteína (mín.) 25 % Carboidratos totais (máx.) 4,0%
<i>Salame tipo Hamburgues</i>	Produto cárneo industrializado, elaborado de carnes suínas ou suínas e bovinas, toucinho, adicionado de ingredientes, com granulometria média entre 3 e 6 mm, embutido em envoltórios naturais ou artificiais, curado, defumado, fermentado, maturado e dessecado por tempo indicado pelo processo de fabricação.	Carne Suína (mín. 50%) Toucinho Sal, nitrito e/ou nitrato de sódio e/ou potássio	Carne Bovina Leite em pó Açúcares / Maltodextrinas Proteínas lácteas Aditivos intencionais / Vinho Condimentos, aromas e especiarias Substâncias glaceantes (revestimento externo)	Atividade de água (máx.) 0,90 Umidade (max) 35 % Gordura (máx.) 32 % Proteína (mín.) 25 % Carboidratos totais (máx.) 4,0%
<i>Salame tipo Italiano</i>	Produto cárneo industrializado, elaborado de carnes suínas ou suínas e bovinas, toucinho, adicionado de ingredientes, moídos em granulometria média entre 6 e 9 mm, embutido em envoltórios naturais ou artificiais, curado, defumado ou não, fermentado, maturado e dessecado por tempo indicado pelo processo de fabricação.	Carne Suína (mín. 60%) Toucinho Sal, nitrito e/ou nitrato de sódio e/ou potássio	Carne bovina Leite em pó Açúcares / Maltodextrinas Proteínas lácteas Aditivos intencionais / Vinho Condimentos, aromas e especiarias Substâncias glaceantes (revestimento externo)	Atividade de água (máx.) 0,90 Umidade (max) 35 % Gordura (máx.) 32 % Proteína (mín.) 25 % Carboidratos totais (máx.) 4,0%
<i>Salame tipo Milano</i>	Produto cárneo industrializado, elaborado de carnes suínas ou suínas e bovinas, toucinho, adicionado de ingredientes, com granulometria média entre 3 e 6 mm, embutido em envoltórios naturais ou artificiais, curado, defumado ou não, fermentado, maturado e dessecado por tempo indicado pelo processo de fabricação.	Carne Suína (mín. 60%) Toucinho Sal, nitrito e/ou nitrato de sódio e/ou potássio	Carne bovina Leite em pó Açúcares / Maltodextrinas Proteínas lácteas Aditivos intencionais / Vinho Condimentos, aromas e especiarias Substâncias glaceantes (revestimento externo)	Atividade de água (máx.) 0,90 Umidade (max) 35 % Gordura (máx.) 32 % Proteína (mín.) 25 % Carboidratos totais (máx.) 4,0%

Fonte: MAPA, 2000; MAPA, 2003

1.2.1 Processo produtivo

O processo produtivo do salame compreende seis fases distintas (Figura 1).



Fonte: Martins, 2006

Figura 1 – Fases do processamento para produção de salame.

a) Primeira fase

Inicia-se com a escolha da matéria prima. Para a produção do salame, o ideal é que a carne seja de coloração avermelhada de animais mais velhos. É imprescindível que a matéria-prima seja maturada, com baixo pH (5,4 e 5,8) e mantida durante três dias á 2°C (MARTINS, 2006).

b) Segunda fase

Ocorre trituração ou moagem da matéria-prima, onde é deixada em repouso durante 24 horas à 4°C (ORDÓÑEZ, 2007). Segundo Martins (2006), a moagem ou trituração da matéria-prima pode ser feita em um *cutter* ou em um picador de carne com lâminas bem afiadas para evitar qualquer aquecimento desnecessário. Nesse momento a carga bacteriana inicial não deve ultrapassar 10^6 Unidades Formadoras de Colônias/g e procede dos ingredientes da massa e da contaminação ambiental. Após o armazenamento em refrigeração

e em aerobiose, a microbiota compõe-se basicamente de bacilos psicotrófilos Gram negativos, oxidase positiva, fundamentalmente *Pseudomonas*, assim como *Achromobacter* e *Flavobacterium*. Bactérias psicrófilas, leveduras e mofos podem ser encontrados, enquanto as Gram positivas são escassas (ORDOÑEZ, 2007).

c) Terceira fase

A terceira fase compreende na adição dos ingredientes para que ocorra a cura, podendo ser realizada no próprio *cutter* ou em misturadeira (MARTINS, 2006).

Embora determinados coadjuvantes e mesmo especiarias exerçam certa ação conservadora nos produtos cárneos, os fundamentos básicos de sua conservação são o cloreto de sódio, açúcar, nitrito/nitratos. Durante a cura, o fluxo inicial de saída de água e das proteínas solúveis do músculo em direção à salmoura, em virtude da pressão osmótica da última, é revertida. Isso ocorre porque o sal, que se difunde para o interior forma um complexo com as proteínas da carne que têm pressão osmótica superior àquela da salmoura (LAWRIE, 2005).

d) Quarta fase

Esta fase tem por finalidade dar forma ao produto cárneo, chamada de embutimento. Tradicionalmente utilizam-se envoltórios de calibre distintos, de origem natural (provenientes do intestino, bexiga, esôfago de suínos) ou artificial (constituídos de celulose, colágenos e plástico) de acordo com o salame que será elaborado (PARDI et al., 2001; ORDÓÑEZ, 2007).

e) Quinta fase

A fase de secagem ocorre em secadoras onde as peças recém-embutidas são mantidas a temperaturas entre 22 e 27°C com umidade relativa em torno de 90% durante 48 horas. No envoltório, a massa sofre mudanças ambientais que favorecem o desenvolvimento de alguns micro-organismos que se encontravam nela inicialmente. Os agentes de cura, as especiarias, a desidratação, a baixa tensão de oxigênio, a acidez e anaerobiose favorecem uma inversão microbiológica, em que as bactérias Gram negativas indesejadas desaparecem e desenvolve-se a flora Gram positiva desejável, sendo essa a etapa mais sensível durante o processamento do produto (ORDÓÑEZ, 2007).

Na maturação ocorre o término da secagem, na qual tem a formação da cor, desenvolvimento de liga e aroma da massa. O embutido é submetido a outras condições de temperatura (12 a 14°C) e de umidade relativa (75 a 85°C). Nessas condições, não somente o

pH e atividade de água continuam diminuindo, como ocorre a hidrólise enzimática das proteínas e dos lipídeos. O salame estará pronto para o consumo quando perder 25 a 30% de seu peso (MARTINS, 2006; ORDÓÑEZ, 2007).

f) Sexta fase

O produto deve ser embalado em materiais adequados, livre de micro-organismos, para as condições de armazenamento e que lhe confirmam uma proteção apropriada contra a contaminação, podendo ser exposto no ponto de venda em temperatura ambiente quando fechado (MARTINS, 2006).

1.2.2 Defumação

A defumação é opcional na produção de salames. A fumaça, geralmente produzida pela combustão lenta de serragem (40% a 60% de celulose, 20 a 30% de lignina, 20 a 30% de hemicelulose) inibe o crescimento bacteriano, retarda a oxidação lipídica e confere odor e sabor à carne curada. O sabor conferido varia de acordo com as condições (temperatura, tempo de exposição, defumação líquida, reação com os grupos funcionais das proteínas cárneas) usadas para produzir a fumaça (LAWRIE, 2005).

1.2.3 Ingredientes

1.2.3.1 Água

Tanto o gelo quanto a água podem ser utilizadas para resfriar a carne durante a operação de mistura, a qual permite uma agitação eficiente da massa por mais tempo, evitando o aquecimento mecânico. Isto é realizado pela redução da temperatura inicial e pela lubrificação da massa. A água adicionada auxilia a dissolução do cloreto de sódio e dos sais de cura, proporcionando uma melhor distribuição na massa. Além disso, a água confere fluidez para a mistura cárnea que auxilia o embutimento em envoltórios e reduz o custo do produto (TERRA, 2004).

1.2.3.2 Cloreto de sódio

O cloreto de sódio (NaCl) desempenha quatro funções principais no embutido: (1) retarda o crescimento microbiano, (2) auxilia na solubilização das proteínas miofibrilares do músculo para emulsificação da gordura em embutidos emulsionados, (3) aumenta a

capacidade de retenção de água e (4) contribui para o gosto característico básico, além do *flavor* cárneo natural (TERRA, 2004).

A solução salina (água e NaCl e, concentrações de 0,85-0,90%) produz uma condição isotônica para os micro-organismos não marinhos. Uma vez que as quantidades de NaCl e água são iguais em ambos os lados da célula os movimentos de água através das membranas celulares são igualmente em ambos os sentidos. Quando as células microbianas são suspensas em uma solução a 5% de soro fisiológico, a concentração de água é maior no interior das células do que fora. Neste caso, a água sai das células mais do que entra. O resultado para a célula é plasmólise, o que resulta em inibição de crescimento e possivelmente a morte. Tanto as células microbianas quanto as células da carne sofrem plasmólise, resultando na secagem da carne, bem como inibição ou morte das células microbianas (JAY, 2000).

1.2.3.3 Nitrato de sódio

O nitrato de sódio (NaNO_3) e o nitrito de sódio (NaNO_2) são usados em carnes curadas há séculos. O nitrato não possui atividade antioxidante, mas torna-se funcional após a redução até nitrito. As funções importantes do nitrito incluem a estabilização da cor, melhoramento da textura, desenvolvimento do *flavor* característico dos produtos curados, eliminação do *flavor* de requentado e atividade antimicrobiana, principalmente contra *Clostridium botulinum* (PARDI et al., 2001).

1.2.3.4 Carboidratos

O açúcar permite o desenvolvimento de bactérias desejadas, tais como *Micrococcus* e *Lactobacillus*, que produzem aroma e reduzem o pH, condição importante para formação de nitratos e nitritos. Tende a prevenir a oxidação dos pigmentos cárneos, bloqueando a formação de derivados não desejados, durante o processo de cura (TERRA, 2004).

1.2.3.5 Antioxidantes

Os antioxidantes são compostos químicos capazes de doar radicais hidrogênio. Como consequência, eles reduzem radicais primários para espécies químicas não radicais e então são convertidos em radicais antioxidantes. A estrutura molecular de um antioxidante é tão apropriada que ele não somente doa um átomo de hidrogênio, mas também forma um radical com baixa reatividade e não promove a possibilidade de reação com lipídios (TERRA, 2004).

Os agentes quelantes que agem como antioxidantes são o EDTA, ácido cítrico e derivados do ácido fosfórico. Os sequestradores de hidrogênio, ácidos ascórbico e eritórbito,

assim como seus sais, são capazes de estabilizar alimentos com gordura, por causa das suas funções de captar o oxigênio. Algumas enzimas também agem como antioxidantes, como a catalase e glutathione peroxidase, que atuam na remoção do peróxido de hidrogênio das células (TERRA, 2004). Elas destinam-se a prolongar o prazo da vida de prateleira ou a estabilidade dos óleos e gorduras de boa qualidade (PARDI et al., 2001).

1.2.3.6 Condimentos

Os condimentos e ervas aromáticas possuem atividade antioxidante e antimicrobiana. Alecrim, orégano, sálvia, cravo-da-índia e pimenta-da-jamaica são alguns dos condimentos com significativas propriedades antioxidantes em produtos alimentícios. Além disso, os temperos exercem a função de realçar o sabor e o *flavor* dos alimentos (TERRA, 2004).

1.3 CONTROLE MICROBIOLÓGICO

1.3.1 Critérios microbiológicos exigidos

Considerando a necessidade de constante aperfeiçoamento das ações de controle sanitário na área de alimentos, visando proteção à saúde da população e a qualidade microbiológica dos produtos alimentícios, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) elaborou o Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos publicado na Resolução de Diretoria Colegiada - RDC Nº 12 (BRASIL, 2001). Nessa estão determinados os limites e critérios para a tolerância máxima de microrganismos presentes nos alimentos (Tabela 1).

Tabela 1- Padrões microbiológicos para salame segundo a Resolução de Diretoria Colegiada - RDC Nº 12 (BRASIL, 2001).

Micro-organismo	Tolerância
Coliformes á 45°C	10 ³ UFC/g
<i>Salmonella</i> sp.	Ausente em 25 g
Estafilococos coagulase positiva	5x10 ³ UFC/g

Fonte: BRASIL, 2001

1.3.2 Coliforme a 45°C

Os coliformes a 45°C são considerados micro-organismos indicadores. Indicadores podem ser definidos como grupos ou espécies de bactérias que, quando presentes em um alimento, fornecem informações sobre a ocorrência de contaminação.

O grupo total de coliformes podem ser subdivididos em dois subgrupos: os coliformes totais (coliformes a 35°C), os quais são oriundos do ambiente e utilizados como indicadores da qualidade higiênica dos alimentos, e coliformes fecais (coliformes a 45°C) que são provenientes de uma contaminação fecal e usados como indicadores de condições sanitárias durante o processamento, produção ou armazenamento (LANDGRAF, 1996). Para que um micro-organismo seja considerado um bom indicador de contaminação de origem fecal deve preencher vários requisitos, dentre os quais Landgraf (1996) destacam:

- Ter como hábitat exclusivo o trato intestinal do homem e de outros animais;
- Apresentar-se em grande quantidade nas fezes;
- Apresentar-se resistente ao ambiente extra-intestinal;
- Ser detectado e contado por técnicas rápidas, simples e precisas.

A denominação coliforme fecal foi utilizada durante muitos anos para descrever coliformes que fermentavam a lactose com produção de gás a 44,5°C. *Escherichia coli* e algumas cepas do gênero de *Klebsiella* e *Enterobacter* apresentam esta característica de termotolerância, porém, somente *E. coli* tem como habitat primário o intestino humano e de animais. *Klebsiella* e *Enterobacter* podem ser encontrados em outros ambientes, como vegetais e solo, onde persistem por tempo superior ao das bactérias patogênicas de origem intestinal. Portanto, não é correta a relação direta da presença de coliformes termotolerantes em alimentos e água com contaminação de origem fecal, o que levou à necessidade de modificação, na legislação brasileira, da denominação coliformes fecais para coliformes a 45°C (SILVA et al., 2006).

1.3.2.1 *Escherichia coli*

O gênero *Escherichia* pertence à família *Enterobacteriaceae* e compreende cinco espécies: *E. blattae*, *E. hermanii*, *E. fergusonii*, *E. vulneris* e *E. coli*. Todas são isoladas a partir de humanos, fontes intestinais e extra-intestinais, exceto *E. blattae*, isolada a partir de baratas (HOLT et al., 1994; LUND et al., 2007).

Escherichia coli é um bastonete gram-negativo que varia em tamanho (1-1,5 µm x 2-6 µm), geralmente móvel por flagelos peritríquios e oxidase-negativa,. Apresenta temperatura ótima de crescimento de 37°C, mas pode crescer em temperaturas de 15°C a 45°C. É capaz de resistir ao aquecimento à temperaturas de 55°C durante 60 minutos e por 60°C durante 15 minutos. É anaeróbia facultativa, fermentadora de glicose com a produção de ácido e de gás. O indol normalmente é produzido e todas as estirpes são positivas no teste de vermelho de metila e negativas no teste de Voges-Proskauer. A maioria das cepas não hidrolisa ureia e são incapazes de utilizar citrato como única fonte de carbono (HOLT et al., 1994; QUINN et al., 2011)

Está distribuída no intestino de crianças saudáveis, adultos e outros mamíferos; entretanto, algumas cepas de *E. coli* apresentam potencial patogênico, sugerindo a aquisição de genes de virulência de cepas comensais, mutações ou transferência horizontal de determinantes gênicos, durante o processo evolutivo da espécie. As cepas patogênicas são divididas em patotipos, de acordo com o tipo de toxina produzida e as doenças específicas que causam (MADIGAN et al., 2010). Segundo Germano & Germano (2011) as diarreias causadas por *E.coli* apresentam distribuição mundial, entretanto a real incidência não é dimensionada devido à elevada subnotificação de casos, somado ao grande número de tipos antigênicos dessa bactéria e somente alguns serem capazes de provocar doenças nos humanos.

Segundo Huang et al. (2006), existem seis classes de *Escherichia coli* patogênica que podem causar gastroenterites: *E. coli* enteropatogênica (EPEC), *E. coli* enteroagregativa (EAEC), *E. coli* enterotoxigênica (ETEC), *E. coli* enteroinvasora (EIEC), *E. coli* difusamente aderentes (DAEC) e *E. coli* enterohemorrágica, (EHEC).

a) *Escherichia coli* enteropatogênica

A doença causada por *E. coli* enteropatogênica (EPEC) é conhecida como Diarreia Infantil, sendo os recém-nascidos e lactentes jovens os mais acometidos. A maioria das crianças acometidas recupera-se rapidamente, quando o desequilíbrio hidroeletrólítico é corrigido a tempo (HEREDIA et al., 2009). EPEC coloniza o intestino delgado, promove modificação na estrutura das microvilosidades e adere-se intimamente à célula hospedeira, originando lesão que resulta em redução na capacidade de absorção intestinal, denominada *attaching and effacing*. (FRANCO & LANDGRAF, 2008)

Surtos de EPEC são esporádicos. A incidência varia mundialmente, mas os países com saneamento precário têm a maior frequência de surtos. Muitos surtos ocorrem em creches e enfermarias pediátricas (FDA, 2012).

b) *Escherichia coli* enteroagregativa

Escherichia coli enteroagregativa (EAEC) é reconhecida como um patógeno entérico emergente. Nos países desenvolvidos é causa de diarreia persistente e desnutrição em crianças e pacientes infectadas pelo HIV. A via de transmissão é fecal-oral, sendo os fatores de risco para EAEC ingestão de alimentos e água contaminados, falta de higiene, susceptibilidade do hospedeiro e, possivelmente, a imunossupressão (HUANG et al., 2006).

A forma de adesão é característica dessas cepas, sendo mediada por adesinas denominadas *bundle forming pillus* – BFP (FRANCO & LANDGRAF, 2008). Ligam-se ao epitélio do jejuno, íleo e cólon, por meio de suas fímbrias. Após a adesão, ocorre a produção de muco pelo enterócito, resultando na formação de um biofilme. Em seguida, ocorre a liberação de toxinas pela cepa bacteriana, lesando os enterócitos (HUANG et al., 2006).

Os sintomas mais comuns na infecção por EAEC são diarreia aquosa com ou sem sangue e muco, dor abdominal, náuseas, vômitos e febre baixa. Pode causar tanto uma doença diarreica aguda como crônica (14 dias ou mais), dependendo do paciente. Crianças desnutridas em países em desenvolvimento podem ser incapazes de alcançar total recuperação da mucosa lesada, tornando-se mais propensas a quadros crônicos. Os sintomas clínicos variam conforme a suscetibilidade genética do hospedeiro e seu sistema imunológico, a heterogeneidade de virulência entre cepas e a quantidade de bactérias ingeridas pelo hospedeiro infectado (HUANG et al., 2006; HEREDIA et al., 2009).

Em 2011, em surto na Alemanha e outros países da União Europeia, foi isolado uma estirpe de *E. coli* do sorotipo O104:H4 que produzia Shiga toxina e por isso acreditou-se ser uma *E. coli* enterohemorrágica (EHEC). No entanto, a análise genética mostrou que essa cepa possuía 93% de homologia com uma estirpe de *E. coli* enteroagregativa (EAEC), que raramente é implicada em grandes surtos de origem alimentar. Assim, a cepa O104:H4 que causou o surto parece ser uma estirpe EAEC que adquiriu a capacidade de produzir a Shiga toxina (FDA, 2012).

c) *Escherichia coli* enterotoxigênica

Gastroenterite é o nome comum da doença causada por *E. coli* enterotoxigênica (ETEC), apesar de ser conhecida popularmente como “diarreia dos viajantes”. A dose infectante (10^9 células) para ocorrer a doença é elevada (FDA, 2000). Na sua forma mais severa, assemelha-se à cólera, apresentando diarreia severa que leva à desidratação. Ela ocorre em países em desenvolvimento e também tem sido a causa de vários surtos de DTAs nos Estados Unidos. As cepas de ETEC aderem-se e colonizam a mucosa intestinal, excretando

para o interior da célula do hospedeiro enterotoxinas termoestável (ST) e/ou termolábil (LT), que levam à diarreia aquosa (FRANCO & LANDGRAF, 2008). As LT são inativadas após 30 minutos à 60°C ,enquanto as toxinas ST são resistentes ao aquecimento de 100°C por até 30 minutos (FRANCO & LANDGRAF, 2008).

Sua transmissão é fecal-oral através de alimentos e água contaminados. Em países subdesenvolvidos, onde ocorre a contaminação dos recursos hídricos por esgotos com maior frequência, ETEC tende a ser endêmica (PIGOTT, 2008). Embora a maioria dos pacientes com infecção por essa bactéria apresente diarreia aquosa normalmente sem febre, algumas vezes pode ocorrer sangue nas fezes. Os sintomas são geralmente auto-limitantes, durando de três dias a uma semana, após um período de incubação de um a três dias.

d) *Escherichia coli* enteroinvasora

E. coli enteroinvasora (EIEC) acomete crianças maiores e adultos, e acredita-se que os surtos estejam mais relacionados com a transmissão interpessoal (FRANCO & LANDGRAF, 2008). Apresentam características próprias, como não possuir flagelos, fermentar tardiamente ou não utilizar a lactose (VAN DEN BELD & REUBSAET, 2011). São capazes de penetrar nas células epiteliais e causar manifestações clínicas semelhantes às infecções causadas por *Shigella*, apesar de não produzirem Shiga toxina. EIEC internaliza-se no enterócito onde modifica o citoesqueleto, rompe a célula, multiplica e invade outras células. No local da invasão ocorre acúmulo de actina que ocasiona morte da célula. Os sintomas são disenteria, cólicas abdominais, febre e mal-estar geral, com eliminação de sangue e muco nas fezes (FRANCO & LANDGRAF, 2008).

e) *Escherichia coli* difusamente aderentes

Os processos patofisiológicos associados com as infecções causadas por *E. coli* difusamente aderentes (DAEC) ainda não são bem conhecidos. O padrão de aderência difusa é devido á adesinas (LE BOUGUENEC & SERVIN, 2006). As DAEC induzem um efeito citopático caracterizado por lesões nas microvilosidades, provocam reações inflamatórias nas células intestinais através de indução de secreção de citocinas capazes de estimularem a migração de leucócitos polimorfonucleares (BERNET-CAMARD et al., 1996, BETIS et al., 2003). No entanto, algumas estirpes de DAEC não induzem esta secreção em culturas de células de epitélio humano. Isto provavelmente deve-se ao fato de que o grupo de DAEC é composto por organismos heterogêneos que diferem entre si quanto á sua patogenicidade. A

adesão difusa é presumivelmente insuficiente para causar danos no intestino, sendo o papel de DAEC na doença diarreica controverso (ARIKAWA et al., 2005).

f) *Escherichia coli* enterohemorrágica

A designação *E. coli* enterohemorrágica (EHEC) foi inicialmente utilizada para cepas de *E. coli* pertencentes ao sorotipo O157:H7 causadoras da colite hemorrágica (CVE, 2000). Franco & Landgraf (2008) relatam que, posteriormente, foi proposta a inclusão do sorotipo O26:H11. EHEC tem como mecanismo de patogenicidade a produção de citotoxinas *Shiga-like* (SLTs), assim denominadas por serem muito semelhantes à toxina do bacilo *Shiga*. Podem também ser denominadas Verotoxinas (VTs), já que sua atividade biológica pode ser observada em cultivos de células Vero, de rim de macaco. Suas cepas têm características diferentes do gênero, dentre elas a dificuldade ou não crescimento em temperatura normalmente empregada para pesquisa de *E. coli* no alimento (44,5°C/ 45°C) e a dose infectante necessária ser baixa (10 a 100 bactérias) (FDA, 2012). Esse pequeno número de bactérias causa alterações nos citoesqueletos das células epiteliais do intestino com destruição da mucosa e acúmulo da actina no local da lesão. Observa-se lesão dos vasos sanguíneos das microvilosidades, justificando o sangue nas fezes. Os sintomas são caracterizados por dores abdominais, diarreia aguda com sangue e ausência de febre (FRANCO & LANDGRAF, 2008).

Estima-se que aproximadamente 15% das infecções por *E. coli* O157:H7, possam apresentar uma complicação chamada Síndrome Hemolítica Urêmica (SHU), caracterizada pela lise dos eritrócitos e falência renal (CVE, 2000). Foi reconhecida como a causa da doença em 1982, durante um surto de diarreia sanguinolenta severa que foi atribuída ao consumo de hambúrgueres contaminados. O gado é um reservatório natural da EHEC, por isso a ocorrência parece estar relacionada diretamente com carne bovina (FRANCO & LANDGRAF, 2008).

Em 1994, foram relatados e confirmados 20 casos de diarreia causada por *Escherichia coli* O157: H7 pelo Seattle-King County Department of Public Health (SKCDPH). A partir da investigação epidemiológica, a infecção foi associada com o consumo de salames distribuídos em vários estados do oeste dos Estados Unidos. Três casos adicionais foram identificados no norte da Califórnia. A identificação de salame como a fonte de infecção de *E. coli* O157:H7 neste surto estendeu o espectro de veículos alimentares associados a este micro-organismo, pois surtos anteriores haviam sido associados com outros alimentos de origem animal (carne

moída, carne assada e leite), incluindo também vegetais crus e cidra de maçã, possivelmente contaminado com fezes de bovinos (CDC, 1995).

1.3.3 *Salmonella enterica*

Salmonella é uma bactéria Gram negativa, não formadora de esporos, pertencente à família *Enterobacteriaceae*. É anaeróbia facultativa, produz gás a partir de glicose (exceto *S. Typhi*) e é capaz de utilizar o citrato como única fonte de carbono. A maioria é móvel através de flagelos peritríquios. Variantes imóveis são incluídas no gênero, como *S. Gallinarum* e *S. Pullorum* (FDA, 2012). A taxonomia do gênero baseia-se na composição dos antígenos de superfície que são os somáticos (O), os flagelares (H) e os capsulares (Vi) (ADANS & MOSS, 2005).

O gênero *Salmonella* é dividido em duas espécies: *S. bongori* e *S. enterica*. *Salmonella bongori* está principalmente associada a animais de sangue frio e dificilmente colonizam o intestino de animais de sangue quente. Suas estirpes raramente são isoladas de pacientes humanos. No entanto, durante 1984-2004, 27 cepas de *S. bongori* foram identificadas a partir de dois grupos epidêmicos na Itália e, a partir daí, casos esporádicos de enterite aguda ocorreram em várias cidades da Sicília, envolvendo crianças de um mês a três anos de idade (CDC, 2012c).

Já *Salmonella enterica* corresponde à maior preocupação em termos de saúde pública mesmo em países desenvolvidos (GROSH, 2011) e é dividida em seis subespécies (JAY, 2000; FDA, 2012):

- *S. enterica* subsp. entérica (I)
- *S. enterica* subsp. salamae (II)
- *S. enterica* subsp. arizonae (IIIa)
- *S. enterica* subsp. diarizonae (IIIb)
- *S. enterica* subsp. houtenae (IV)
- *S. enterica* subsp. indica (VI)

Salmonella é classificada em sorotipos, com base no esquema de Kaufmann White, publicado em 1934. Existem 2.610 diferentes sorovares de *Salmonella* sp. sendo que 1.547 são pertencentes ao grupo *S. enterica* subsp. *enterica* (GUIBOUDENCHE et al., 2010).

Salmonella enterica pode ser epidemiologicamente dividida em três grupos. O primeiro pode causar dois tipos de doença, que infectam somente seres humanos, dependendo do sorotipo: *S. Typhi*, *S. paratyphi* A e *S. paratyphi* C. Este grupo inclui os agentes da febre

tifóide e paratifóide, que são os mais graves de todas as doenças causadas por salmonelas (JAY, 2000). A doença geralmente está associada com a ingestão de água contaminada por esgotos ou de alimentos em contato com esse ambiente. A doença tifóide tem longo tempo de incubação, e cursa com febre alta, diarreia ou constipação, cefaleia, letargia, podendo apresentar erupção cutânea. A taxa de letalidade é maior do que a febre paratifóide (FDA, 2012). De acordo com Adam & Moss (2005), a síndrome paratifóide geralmente é auto-limitante em pessoas imunocompetentes. A patogenia desses micro-organismos não é completamente entendida e seu tratamento é complicado pelo surgimento de cepas resistentes aos antimicrobianos (GROSH, 2011). Sabe-se que o micro-organismo penetra nas células epiteliais intestinais, invade a lâmina própria, e alcançam a corrente linfática. São fagocitados por macrófagos, porém não são destruídos e mantém a capacidade de multiplicação. Assim, chegam à corrente sanguínea, e podem invadir outros órgãos. Enquanto está no interior dos macrófagos não é atingido pelos antibióticos, umas das razões pela qual a terapia não é efetiva (FRANCO & LANDGRAF, 2008).

O segundo grupo são sorovares adaptados a hospedeiros, alguns dos quais são patogênicos a humanos e podem ser contraídos de alimentos: *S. Gallinarum* (aves), *S. Dublin* (gado), *S. Abortus-equi* (cavalos), *S. Abortus-ovis* (ovinos), e *S. Choleraesuis* (suína). No terceiro grupo estão os sorovares não-daptados, ou seja, sem preferência de hospedeiro, patogênicos para os seres humanos e outros animais, a maioria transmitidas por alimentos (JAY, 2000).

O gênero pode habitar o trato intestinal de seres humanos e animais, incluindo aves e répteis, e a infecção humana é causada, na maioria dos casos, por ingestão de alimentos contaminados com fezes dos humanos e animais portadores (PIGOTT, 2008). Além das instalações de pré e pós-processamento do alimento, outras rotas de transmissão tem sido identificadas. A transmissão aérea de agentes patogênicos também é possível, e dependendo da proximidade pode ser originada a partir de fontes agrícolas (HEREDIA et.al, 2009). *Salmonella* sp. pode sobreviver em alimentos de baixa atividade de água por longos períodos, bem como em alimentos com baixa acidez (HEREDIA et al., 2009).

A contaminação do produto de origem animal pode ocorrer em qualquer fase do processamento, incluindo a re-contaminação após o processamento térmico (PIGOTT, 2008). Considerada como um micro-organismo de ampla distribuição, a bactéria é capaz de disseminar-se com facilidade pelos alimentos a partir de um produto contaminado. Em estudo realizado por Peresi et al. (1998), constatou que embora ovos crus fossem a maior fonte de transmissão, o isolamento de *S. Enteritidis* de alimentos não indicados como veiculadores

pelo inquérito epidemiológico e que não continham ovos, sugeriram a ocorrência da contaminação cruzada durante o preparo da refeição. Este fato demonstra a importância das boas práticas de higiene no preparo de alimentos e reforça a necessidade da implantação de programas de orientação aos profissionais manipuladores de alimentos.

A lesão ocorre após a colonização do epitélio do intestino delgado, onde há resposta inflamatória, havendo liberação de endotoxina bacteriana. As endotoxinas correspondem à fração lipídica do lipossacarídeo que compõem a membrana externa de *Salmonella* e são responsáveis pelo efeito tóxico dessa bactéria quando ocorre lise celular (FRANCO & LANDGRAF, 2008). Os sintomas de salmonelose são náuseas, vômitos, diarreia, cólicas e febre, esses sinais agudos ocorrem durante um a dois dias, havendo redução gradual dentro de uma semana. Em pessoas saudáveis, os sintomas, geralmente, desaparecem sem tratamento. Algumas complicações podem ocorrer tais como uretrite, uveíte, e/ou conjuntivite, artrites, devido à reação auto-imune do hospedeiro à infecção. Pode também ocorrer septicemia e infecção de órgãos internos, e/ou articulações (FDA, 2012). A mortalidade é inferior a 1%, no entanto, *S. Enteritidis* tem uma taxa de mortalidade de 3,6% nos surtos em asilos e hospitais, com os idosos sendo particularmente afetados, devido à desidratação e desequilíbrio eletrolítico. A dose infectante depende da idade e saúde do hospedeiro e do sorovar, podendo, em alguns casos, ser muito baixa (FDA, 2012).

Para determinar a origem de surtos de *Salmonella*, emprega-se o DNA-*fingerprinting*, onde isolados de pacientes e alimentos implicados no surto são comparados pelo perfil de clivagem de seu DNA. Bactérias com mesmo perfil de clivagem de DNA são consideradas como um grupo clonal e sugerem uma fonte comum (CDC, 2012b).

Em agosto e setembro de 2009, a rede nacional de subtipagem molecular para a vigilância de doenças de origem alimentar dos Estados Unidos (PulseNet) detectou um grupo clonal de *Salmonella* Montevideo causando infecção em diversas regiões do país. . Ao todo, foram detectados 272 casos em 44 estados e no Distrito de Columbia. Em estudo caso-controle, o consumo de salame foi associado à doença. A cepa do surto foi identificada em pimenta preta e vermelha usada para condimentar os salames. Este surto demonstra a importância de prevenir a contaminação do produto após as etapas de controle do processamento. Embora as especiarias possam estar contaminadas por vários fungos e bactérias, poucos relatos têm apontado os temperos como implicados em doença em humanos (CDC, 2012a).

1.3.4 *Listeria monocytogenes*

O gênero *Listeria* está classificado em seis espécies: *L. monocytogenes*, *L. ivanovii*, *L. innocua*, *L. seeligeri*, *L. welshimeri* e *L. grayi* de acordo com o Manual de Bergey. Entretanto, mais duas espécies foram identificadas recentemente: *L. marthii* e *L. rocourtiae* (LUDWING et al., 2009; EUZE'BY, 2010a; EUZE'BY, 2010b).

As bactérias do gênero são bacilos Gram positivos, anaeróbios facultativos, catalase positivos, oxidase negativos, não formadores de esporo. São ubiqüitários e apresentam formato cocóide (0,4-0,5µm x 0,5-2,0µm), possuem flagelos peritríquios e exibem uma motilidade característica de tombamento. As colônias em ágar triptose, vistas sob iluminação oblíqua, têm brilho azul esverdeado. Crescem em ampla faixa de temperatura (0 a 42 °C), tendo um crescimento ótimo entre 30 e 35° C. Abaixo de 5°C tem seu crescimento lento, com permanência de um a 33 dias na fase lag, e tempo de geração de 13 a 130 horas na fase log. A sobrevivência sob congelação e relativa resistência ao calor, são características que merecem atenção em relação à inocuidade dos alimentos (ADAMS & MOSS, 2005; LUDWING et al., 2009; QUINN et al., 2011).

A espécie *L. monocytogenes* possui capacidade em montar resposta adaptativa à acidez, resistindo a um amplo intervalo de pH (4,3 a 9,6), sendo capaz de tolerar altas concentrações de sal (NaCl a 10%) e sobreviver por até um ano em 16% de NaCl em pH 6,0. Além disso, foi observado neste micro-organismo aumento de resistência ao aquecimento á 56°C, após a exposição de células á falta de nutrientes, etanol, ácido e H₂O₂ (ADAMS & MOSS, 2005, HEREDIA et al., 2009). É a única espécie envolvida em surtos conhecidos de listeriose de origem alimentar. Foi diferenciada em 13 sorotipos, no entanto, apenas quatro desses sorotipos (1/2a, 1/2b, 1/2c, e 4b), foram relatados como causa de listeriose humana (HEREDIA et al., 2009). A listeriose é uma doença de origem alimentar que afeta principalmente indivíduos de grupos de risco (imunossuprimidos, idosos, recém-nascidos), onde a letalidade pode alcançar 25%. A doença pode ocorrer em surtos, mas na maioria das vezes ocorrem casos esporádicos. A doença está principalmente associada com alimentos prontos para consumo com vida de prateleira estendida (refrigerados) (GRAM, 2004).

Listeria tem a capacidade de formar biofilmes que permitem que as células sobrevivam aos agentes de higienização. Coloniza os equipamentos e contamina o alimento durante a produção, mesmo quando a matéria-prima é livre de micro-organismos na fase inicial do processamento (GRAM, 2004). Segundo Heredia et al. (2008), a bactéria pode estar presente em equipamentos de embutimento e de embalagem, transportadores, *chillers*,

cortadores, trituradores e misturadores. Geralmente, a presença de quaisquer espécies de *Listeria* nos alimentos é um indicador de falta de higiene, portanto a amostragem das superfícies dos equipamentos após a limpeza e desinfecção antes do início do processamento tem sido uma prática comum para verificar a eficácia dos procedimentos de higienização (TOMPKIN, 2004).

A distribuição ubíqua em ambientes naturais e de produção de alimentos, a possibilidade de contaminação cruzada durante o processamento, somado à capacidade de formar biofilmes, crescimento em baixas temperaturas e sobrevivência em condições adversas são características que devem ser levadas em conta para estabelecer um método apropriado para controlar *L. monocytogenes* no produto final (HEREDIA et al, 2009).

Algumas cepas de *L. monocytogenes* são mais virulentas e apresentam maior probabilidade de estarem envolvidas em DTAs do que outras. Esta informação justifica o fato de alimentos de uma determinada origem serem mais implicados em casos de listeriose. A virulência é um fator importante envolvido nos eventos que levam à doença e devem ser levadas em consideração no desenvolvimento de estratégias para o controle da bactéria (TOMPKIM, 2001).

Os surtos de *L. monocytogenes* têm sido quase sempre associados ao consumo de laticínios (GRAM, 2004). Entretanto, a bactéria é relativamente resistente a ingredientes de cura e tem sido encontrada em uma variedade de alimentos, tais como salame, presunto, carnes enlatadas e carne fresca. Em pesquisa conduzida na Austrália, entre as 13,2% das amostras de alimentos positivas que foram encontradas, grande parte era resultado de contaminação cruzada nos estabelecimentos (ADANS E MOSS, 2005).

Segundo dados coletados em 1997 pelo Centro de Controle e Prevenção de Doenças dos Estados Unidos – CDC, a listeriose é responsável, anualmente, por cerca de 2.500 casos e 500 óbitos nos Estados Unidos. Em 2008, o número de infecções por *L. monocytogenes* diminuiu 36% em comparação com o período de 1996 a 1998. Houve um aumento moderado na incidência entre 2008 e 2009, no entanto, ainda era em nível inferior à década anterior (FDA, 2012).

Em análise microbiológica de embutidos no Brasil, Gottardo (2011) isolou *L. monocytogenes* em 5% das 60 amostras de salame e Sakate (2003) em 7% dos 45 produtos analisados. Entretanto a incidência de listeriose humana no país não é conhecida (SCHWAB & EDELWEISS, 2003), pois apenas 5 a 10% dos casos de DTA chegam ao conhecimento e são registrados pelas autoridades sanitárias brasileiras (RANTHUM, 2012).

1.3.5 Estafilococos coagulase positiva

Staphylococcus são cocos Gram positivos, com diâmetro de 0,5 a 1,0µm, pertencentes à família *Microcaceae*. Imóveis, catalase positivos, aeróbios e anaeróbios facultativos. Em exame microscópico, aparecem em pares, ou em cadeias curtas ou agrupados como cacho de uva. Apresentam metabolismo de carboidratos oxidativo e fermentativo, com produção de ácidos (HOLT et al., 1994). São bactérias mesófilas, podendo crescer na temperatura de 7°C a 47,8°C. São micro-organismos atípicos, na medida em que eles são capazes de crescer em níveis baixos de atividade de água (A_w), com um crescimento demonstrado em 0,83 Aa. Suportam pH entre 4,5 e 9,5, o ideal sendo entre 7,0 e 7,5. São tolerantes a concentrações de 10% a 20% de NaCl e a nitratos, o que torna os alimentos curados potencial veículos do patógeno (FRANCO & LANDGRAF, 2008, PARDI et al., 2001). Bactérias do gênero *Staphylococcus* são ubiqüitárias e impossíveis de serem totalmente eliminadas do meio ambiente. Muitas das espécies e subespécies deste gênero são potencialmente encontradas em alimentos contaminados a partir do ambiente, humanos e animais (FDA, 2012).

Em 1957, iniciou-se ao emprego de culturas puras de micro-organismos, chamadas culturas *starters*, na elaboração de produtos fermentados permitindo uniformidade entre eles, redução do tempo de fermentação e conservação do produto (VURAL, 1998). Duas categorias de micro-organismos são comumente utilizadas como culturas starters: as bactérias ácido lácticas que contribuem para a inocuidade e estabilidade do produto e *Staphylococcus* coagulase negativa responsáveis por estabilizar a cor, prevenir a rancificação e realçar compostos aromáticos dos produtos cárneos (CIROLINI, 2010).

Várias espécies de *Staphylococcus* já foram isoladas de embutidos fermentados. Em pesquisa dessas culturas em salsichas fermentadas, realizado por Fiorentini (2009), *Staphylococcus xylosus* foi a espécie dominante (42,8%), seguido por *S. saprophyticus* (28,5%), *S. lentus* (19%), *S. epidermidis* (4,7%) e *S. warneri* (4,7%). Entretanto *S. saprophyticus* e *S. epidermidis* são espécies encontradas na pele de humanos e animais domésticos e já foram isolados de infecções urinárias de humanos. O aparecimento destas espécies nos produtos embutidos são, provavelmente, provenientes da pele de suínos ou da manipulação humana durante a fabricação. A adição dessas cepas como alternativa de processamento não deve ser realizada, uma vez que *S. saprophyticus* e *S. epidermidis* são patógenos oportunistas. Por isso a caracterização pelos métodos fenotípicos e moleculares de micro-organismos utilizados como culturas *starters* se faz necessária para assegurar a segurança do alimento e do consumidor (FIORENTINI, 2009).

A gastroenterite estafilocócica é causada pela ingestão de alimentos que contenham uma ou mais toxinas as quais são produzidas por apenas algumas espécies e variedades deste gênero (JAY, 2000). São descritos cinco subtipos de enterotoxinas estafilocócicas (A, B, C₁₂₃, D, E) e recentemente outras foram descobertas (G, H, I) (FDA, 2012).

Apesar de se acreditar que a produção de enterotoxina esteja associada com as estirpes de *Staphylococcus aureus* que produzem coagulase e termonuclease (TNase), muitas espécies desse gênero que não possuem essa característica são reconhecidas como produtoras de enterotoxinas. Sabe-se que pelo menos 18 espécies oferecem risco para os alimentos. Seis delas são coagulase e TNase positivas e 10 espécies não possuem estas características (JAY, 2000; FDA, 2012).

As enterotoxinas são termoestáveis e produzidas entre 10°C e 46°C, os extremos de temperatura são dependentes dos demais parâmetros que devem se encontrar em condições ótimas. Em geral, quanto mais baixa for a temperatura, maior será o tempo para produção de toxina. Em condições ótimas, a enterotoxina é detectada no alimento após quatro a seis horas. A termorresistência da toxina é um fator importante na indústria de alimentos, pois na maioria dos casos, o alimento sofrerá algum tipo de tratamento térmico no processamento, o qual eliminará o micro-organismo, não inativando a toxina (FRANCO & LANDGRAF, 2001)

Segundo Forsyth & Hayes (1998) existem muitos fatores interligados que são necessários para que *Staphylococcus* causem intoxicação:

- A fonte da cepa enterotoxigênica deve estar presente no ambiente de alimentos processados, produzidos e preparados;
- O micro-organismo deve ser transferido da fonte até o alimento;
- O alimento deve estar contaminado com doses elevadas de estafilococos;
- A bactéria deve sobreviver no alimento, não sendo inibida pelo crescimento e competição de outros micro-organismos, por aquecimento, pH ou outras condições adversas antes que produza a toxina;
- A temperatura do alimento deve permanecer na faixa adequada para a sua multiplicação e produção de toxinas;
- A quantidade de toxina deve exceder o limiar de suscetibilidade do indivíduo exposto;

A quantidade mínima de enterotoxina necessária para causar sintomas nos seres humanos é de 20 ng. Este nível de toxina é atingido quando as populações excedem 100.000 (10⁵) bactérias por grama de alimento (FDA, 2012; JAY, 2000).

Em 2011, a ANVISA estabeleceu na legislação a enumeração de somente estafilococos coagulase positiva tendo por objetivo substituir a exigência do controle de *S.*

aureus (BRASIL, 2001). Nela a determinação da capacidade de produção de termonucleases e de toxinas estafilocócicas das cepas isoladas podem ser realizadas a fim de se obter dados de interesse à saúde pública. O aparecimento dos sinais de intoxicação alimentar por estafilococos geralmente é rápido, 4 horas após a ingestão. Esse período da ingestão até a manifestação dos sintomas depende da susceptibilidade do indivíduo à toxina, da quantidade de alimento com toxina ingerido e da saúde geral do indivíduo. Os sintomas mais comuns são náuseas, vômitos, cólica abdominal e prostração. Em casos mais graves pode ocorrer dor de cabeça, cãibra muscular, alterações transitórias da pressão arterial e frequência cardíaca. A recuperação geralmente ocorre em até dois dias, sendo a taxa de mortalidade muito baixa ou nula. A vítima não adquire imunidade contra novas exposições à toxina (JAY, 2000).

Para evitar que *Staphylococcus* sp, seja um perigo à saúde dos consumidores, certos aspectos devem ser levados em consideração: refrigeração adequado do alimento, manutenção em temperaturas acima de 60°C, evitar o preparo com muita antecedência, cozimento adequado, higiene rigorosa, evitar contato dos manipuladores que apresentem infecções respiratórias, distúrbios gastrointestinais, ou lesões de pele, evitar tocar no alimento que não será submetido ao tratamento térmico, combater moscas e investir em educação sanitária. (PARDI et al., 2001; JAY, 2005)

Estafilococos são os agentes responsáveis por 45% dos surtos das toxinfecções reportadas mundialmente. Vários trabalhos referem-se aos manipuladores como os principais responsáveis pela contaminação dos alimentos. Alimentos que exigem manuseio considerável durante a preparação e que são mantidos a temperaturas ligeiramente elevadas após a preparação são frequentemente envolvidos em intoxicação alimentar estafilocócica. (FDA, 2000)

Devido à baixa severidade da intoxicação estafilocócica, os surtos acabam sendo subnotificados aos Órgãos de Saúde Pública (PEREIRA, 2006). De acordo com o Sistema de Informacion para la Vigilancia de las Enfermedades Transmitidas por los Alimentos (SIRVETA, 2007), no Brasil, entre os anos de 1993 a 2002, foram notificados seis casos de toxinfecção veiculados por salame contaminado; em três desses *Staphylococcus aureus* foi isolado. Em 2012, conforme relato da SES do Rio Grande do Sul, 80 pessoas adoeceram com sintomas de intoxicação estafilocócica após consumo de linguiça de carne defumada e salame tipo italiano (SES, 2012).

2. DISCUSSÃO

O salame é um produto cárneo consumido por grande parte da população brasileira e sua elaboração deve ser realizada de acordo com as normas de processamento. Entretanto, observa-se que não há padronização do processamento. Ordóñez (2007) sugere que a fase de maturação seja realizada em temperatura entre 22 e 27°C com 75 a 90% de umidade relativa, no entanto Martins (2006) afirma que a temperatura ideal seria 18 a 20°C com 85% de umidade. Martins (2006) também relata que toda massa de embutidos apresenta micro-organismos provenientes das matérias-primas, contaminação humana e do próprio ambiente. A contaminação do salame pode ocorrer em qualquer fase do processo, inicialmente a partir do próprio animal, posteriormente pela água, instalações industriais e equipamentos mal higienizados (EVANGELISTA, 2001). Quando ocorre após as fases de controle de micro-organismos (cura, desidratação, diminuição do pH), na embalagem final, no fatiamento do produto ou na casa do consumidor há o aumento do risco, pois será consumido sem qualquer tratamento térmico. Quando o processamento ocorre de forma correta, não há proliferação de bactérias indesejáveis, entretanto, na ocorrência de qualquer alteração no embutido, variação de temperatura, atividade de água (Aa) e/ou pH, o crescimento da microbiota desejável é interrompido, podendo propiciar o crescimento dos micro-organismos deteriorantes e patogênicos.

Segundo Galli (1993), os maiores problemas ocorrem nas fases de fermentação e secagem, originando o desenvolvimento insuficiente da cor, das propriedades de liga e estabilização insatisfatória. Se a matéria prima não apresentar baixo pH, a carne não apresentará o encolhimento das fibras porque não terá perdido água suficiente, dificultando a penetração de sal o que impede um eficiente processo de cura e posterior secagem (MARTINS, 2006).

A presença de *Escherichia coli*, que tem crescimento favorável em 0,96 de Aa (JAY, 2000), além de indicar condições higiênico-sanitárias precárias, pode indicar também atividade de água fora do padrão exigido. Segundo a ANVISA o nível máximo permitido no salame é de 0,90 de Aa.

Os valores limites de pH para que os micro-organismos estudados sobrevivam são: *Staphylococcus aureus* pH 4,0, *Salmonella* sp. pH 4,05, *Listeria monocytogenes* pH 4,1 e *E. coli* O157:H7 pH 4,5. (JAY, 2000). Sabe-se que a legislação brasileira não utiliza o valor do pH dos salames como critério de controle obrigatório e Santa (2008) encontrou em sua

pesquisa uma variação de pH 4,35 a 6,92 em salame tipo italiano, valores que permitem o crescimento dos micro-organismos patogênicos.

Estudos afirmam que *Salmonella* e outras enterobactérias não sobrevivem ao longo da fermentação e secagem. Entretanto, um estudo realizado com a inoculação experimental da *E. coli* enterohemorrágica (EHEC) durante o processamento de salame, demonstrou que o micro-organismo pode sobreviver, mas não cresce durante a fermentação, secagem e armazenamento por dois meses à 4°C (CDC, 1995). Diante do fato de que a dose infectante necessária para EHEC é baixa, o salame curado, produto que não é cozido após o processamento, conclui-se que esse pode ser um veículo da bactéria.

Na Europa, vários surtos de *Salmonella* foram associados ao consumo de salame e outros produtos de salsicharia fermentados. A contaminação desses produtos foram causados por tempo de cura insuficiente, baixa atividade de água e o pH elevado do salame, permitindo que a *Salmonella* sobrevivesse (ADAM & MOSS, 2000).

A combinação dos obstáculos antimicrobianos ou barreiras introduzidas durante a fermentação de produtos embutidos acaba reduzindo ou eliminando os micro-organismos competidores do *Staphylococcus aureus*. Aliado a isso, sua capacidade de tolerar diferentes condições de crescimento é adequada para o seu crescimento em produtos embutidos e curados (PARDI et al.,2001). O limite de atividade de água (Aa) nos salames é 0,90 (BRASIL, 2003) e sabe-se que esse gênero pode crescer até 0,83 de Aa (FRANCO & LANDGRAF, 2001). Porém, segundo SIRVETA (2007), poucas são as citações de casos relacionados com intoxicação estafilocócica veiculadas por salame. Talvez pelo fato do crescimento das células desse micro-organismo ser possível no produto, porém sem produção de toxinas. Nesse sentido, Jay (2000) explica que uma baixa Aa cessa a produção de enterotoxina B de *Staphylococcus aureus*, embora a multiplicação de células continue.

Pereira (2006) afirma que a severidade dos surtos de intoxicação estafilocócica é baixa. No entanto, em estudo realizado por Carmo (2004), cerca de 4.000 pessoas adoeceram ao consumirem feijão tropeiro, sendo que 50% procuraram atendimento médico e 16 pessoas vieram a óbito.

A legislação brasileira tem como exigência a contagem de estafilococos coagulase positiva, entretanto Lamaita et al. (2005) analisaram amostras de leite cru e comprovaram que espécies não produtoras de coagulase produziam enterotoxinas em maior frequência do que espécies com resultado positivo para a prova da coagulase.

A presença de *L. monocytogenes* tem sido relatada em uma grande variedade de carnes e produtos cárneos, além de plantas de processamento. A incidência de infecção, no entanto,

é baixa, pois resulta em doença invasiva apenas se o indivíduo for suscetível e exposto a uma dose suficientemente elevada de uma estirpe virulenta. De acordo com pesquisa de Schwab e Edelweiss (2003), no Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), de 10 placentas de abortos ou partos prematuros, *L. monocytogenes* foi detectada em cinco delas. Alguns estudos diagnosticaram que salames podem ser fonte desse patógeno, Sakate (2003) e Gottardo (2011) encontraram a bactéria em 7% e 5%, respectivamente, dos produtos testados. Porém, Barbuti (2002) relatou que *Listeria* sp. tem dificuldade de crescer em produtos cárneos curados devido à presença da microflora típica, juntamente com as características físico-químicas desses produtos. Dessa forma, o risco à saúde, associado à ocorrência de *L. monocytogenes* em salames fermentados, processados de forma adequada, pode ser baixo. Entretanto Adam e Moss (2005) relatam que essa bactéria é relativamente resistente aos ingredientes de cura e tem sido encontrada em uma variedade de alimentos, tais como salame, presunto, carnes enlatadas e carne fresca. Jay (2000) explica que esse patógeno é capaz de acumular muitos osmoprotetores, dentre eles a carnitina, que pode ser o soluto compatível em carne e produtos lácteos o qual permite o crescimento do micro-organismo sob condições osmóticas estressantes (produtos curados). Diante disso, a detecção de *L. monocytogenes* em amostras desse tipo de alimento sugere que grupos vulneráveis devam evitar o seu consumo, inclusive porque o seu controle não é exigido nos salames pela legislação vigente.

Atualmente a população humana tem modificado as preferências alimentares e por isso as alterações na produção de alimentos e sistemas de distribuição. Devido à facilidade dos micro-organismos se dispersarem, exibirem diversidade fisiológica, tolerarem condições extremas, às vezes serem ubíquos, podem contaminar e crescer em muitos produtos alimentares o que resulta no surgimento de novos casos de infecções ou intoxicações, bem como doenças transmitidas por alimentos tradicionais. Com aumento das viagens e oportunidades do comércio, não é surpreendente que o risco de contrair e disseminar uma DTA possa ser local, regional e mundial. Para que haja avanços no controle de patógenos de origem alimentar é necessário compreender a fisiologia dos patógenos, as respostas e suas restrições ao crescimento.

3. CONCLUSÃO

O produto cárneo salame, por suas características de processamento deve ser inócuo e não apresentar risco à saúde humana. Entretanto, existem muitos trabalhos os quais relatam a presença de patógenos nesse produto e ocorrência de surtos. Entre esses, *Listeria monocytogenes* tem sido isolada de salames com frequência, seja pela falta de exigência na legislação, seja pela sua adaptação e permanência no ambiente de processamento. Diante de sua capacidade de atingir grupos de risco, seria importante a exigência de sua ausência nos controles microbiológicos obrigatórios.

Como a contaminação do salame pode ocorrer em qualquer fase do processo, deve-se priorizar a utilização de matéria prima de qualidade, monitorar todas as fases do processamento, além da distribuição e armazenamento aliado às boas práticas de fabricação onde o indivíduo que manipula o alimento conhece os riscos de contaminação, somado aos instrumentos, utensílios, máquinas e embalagens livres de patógenos, para reduzir a incidência de infecções e intoxicações alimentares.

REFERÊNCIAS

ABIPECS 2010, Associação Brasileira da Indústria Produtora e Exportadora de Carne Suína **Reportagem Fãs da linguiça e Ranking doméstico**. Disponível em: <<http://www.abipecs.org.br/news/206/134/Fas-da-Linguica-e-Ranking-Domestico.html>>. Acesso em: 20 jul de 2012.

ARIKAWA, K. et al. Interleukin-8 secretion by epithelial cells infected with diffusely adherent *Escherichia coli* possessing Afa adhesin-coding genes. **Microbiology and Immunology**, v. 49, n. 6, p. 493-503, 2005.

BARBUTI, S.; PAROLARI, G. Validation of manufacturing process to control pathogenic bacteria in typical dry fermented products. **Meat Science**, v. 62, p. 323-329, 2002.

ADANS, M.R.; MOSS, M. O. **Food microbiology**. 2.ed. RK: RSC, 480 p. 2005.

BERNET, C. M. F et al. Pathogenicity of the Diffusely Adhering Strain *Escherichia coli* C1845: F1845 Adhesin-Decay Accelerating Factor Interaction, Brush Border Microvillus Injury, and Actin Disassembly in Cultured Human Intestinal Epithelial Cells. **Infections and immunity**, [S.l.], v. 64, p. 1918–1928, jun. 1996.

BRASIL. Resolução - RDC nº 12. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. 2001. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em: 20 mai. 2012.

BRASIL. Instrução Normativa Nº 22/2000. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Copa, de Jerked Beef, de Presunto tipo Parma, de Presunto Cru, de Salame, de Salaminho, Salaminho tipo Alemão, de Salame tipo Calabrês, de Salame tipo Friolano, de Salame tipo Napolitano, de Salame tipo Hamburguês, de Salame tipo Italiano, de Salame tipo Milano, de Lingüiça Colonial e Pepperoni. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em: 17 jul. 2012.

BRASIL. Instrução Normativa Nº 22/2003. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Copa, de Jerked Beef, de Presunto tipo Parma, de Presunto Cru, de Salame, de Salaminho, de Salaminho tipo Alemão, de Salame tipo Calabrês, de Salame tipo Friolano, de Salame tipo Napolitano, de Salame tipo Hamburguês, de Salame tipo Italiano, de Salame tipo Milano, de Lingüiça Colonial e Pepperoni. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>. 2003>. Acesso em: 11 jul. 2012.

CARMO, L. S. et al. A case of massive Staphylococcal food poisoning incident. **Foodborn Pathogens and Disease**, [S.l.] v.1, n. 4, p. 241-246. 2004.

CDC. Center For Disease Control And Prevention. ***Escherichia coli* O157:H7 Outbreak Linked to Commercially Distributed Dry-Cured Salami Washington and California, morbidity and mortality weekly report**, v. 44, n. 9, Mar. 1995.

CDC. Centers For Disease Control And Prevention. Disponível em: <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5950a3.htm?s_cid=mm5950a3_w>. Acesso em: 07 July. 2012a.

CDC. Centers For Disease Control And Prevention. Disponível em: <http://www.cdc.gov/Salmonella/outbreaks/reporting_timeline.html> Acesso em: 10 July. 2012b.

CDC. Centers For Disease Control And Prevention. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/Salmonella/general/prevention.html>> Acesso em: 07 July. 2012c.

CIROLINI, A. et al. Salame tipo italiano elaborado com culturas starters nativas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, [S.l.]. v. 30, p. 171-179, mai. 2010.

CVE, Centro de vigilância epidemiológica. São Paulo. **Manual das doenças transmitidas por alimentos e água**. Atualização em 26/11/2000. Disponível em: <<http://www.cve.saude.sp.gov.br/htm/hidrica/Ecolinet.htm>>. Acesso em: 20 dez. 2011.

EUZE'BY, J. Notification that new names and new combinations have appeared in volume 60, part 6, of the IJSEM. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, [S.l.]. v. 60, p. 1987-1988, 2010a.

EUZE'BY, J. Notification that new names and new combinations have appeared in volume 60, part 9, of the IJSEM. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 60, p. 2695-2692, 2010b.

EVANGELISTA, J., **Tecnologia de Alimentos**, 2. ed. São Paulo. Atheneu, 2001.

FIORENTINI, A. M. et al. Phenotypic and Molecular Characterization of *Staphylococcus xylosus*: Technological Potential for Use in Fermented Sausage, **Brazilian Archives of Biology and Technology**. Curitiba, v. 52 , n.3, jun. 2009.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. Micro-organismos patogênicos de importância nos alimentos: **Microbiologia dos alimentos**. In FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. Ed. Atheneu., 2008. Cap. 4, p. 33-81

FORSYTH, S. J.; HAYES, P.R. **Food hygiene, microbiology and HACCP**, 3. ed, USA: An aspen publication. 1998. 480 p.

FDA, Food drug administration, **Bad bug book, Foodborne pathogenic microorganisms and natural toxins handbook**. 2. ed. Disponível em: <<http://www.fda.gov/Food/FoodSafety/FoodborneIllness/FoodborneIllnessFoodbornePathogensNaturalToxins/BadBugBook/default.htm>>. Acesso em: 10 July. 2012.

GALLI, F. Os embutidos como fabricá-los. **Revista Nacional da Carne**. [S.l.] n.194, p.16-28, abr. 1993.

GERMANO, P.M. L; GERMANO, M.I.S. Higiene e vigilância sanitária de alimentos. In: _____. **Agentes Bacterianos de Toxi-infecções**. 3. ed. Barueri: Manole, p.302-323, 2008.

GOTTARDO, E.T., Embutidos cárneos fermentados artesanais como veículos de microorganismos patogênicos de importância para saúde pública. **B. CEPPA**, Curitiba, v. 29, n. 1, p. 97-102, jan/jun. 2011.

GRAM, L., How to meet an FSO – Control of *Listeria monocytogenes* in the smoked fish industry. **Mitt. Lebensm Hyg**, [S.l.], v.95, p.59–67. 2004.

GROSH, S. An adhesion protein of *Salmonella enterica* serovar Typhi is required for pathogenesis and potential target for vaccine development, **PNAS**, [S.l.], v. 108, n.8, Feb. 3348-3353p. 2011.

GUIBOURDENCHE, M. et al. Supplement 2003 – 2007 (No. 47) to the White-Kauffmann-Le Minor scheme. **Research in Microbiology**. [S.l.]. n. 161, p. 26-29, 2010.

HEREDIA, N.; Wesley, I.; GARCIA, S. **Foodborne pathogens and toxins: an overview: microbiologically safe foods**. New Jersey: Wiley, 2009. 2. ed. p 15-52.

HOLT, J. G.; KRIEG, N. R.; SNATH, P. H. **Bergey's Manual of Determinative Bacteriology**. 9. ed. Williams & Wilkims, 1994. 787p.

HUANG, D.B. et al. A review of an emerging enteric pathogen: enteroaggregative *Escherichia coli*. **Journal of Medical Microbiology**. USA. v.55, p.1303–1311. 2006.

JAY. J. M. **Modern Food Microbiology**. ed. 6. USA: Aspen Publishers, 2000.635 p.

LAMAITA, H.C. et al. *Staphylococcus* sp. counting and detection of staphylococcal enterotoxins and toxic shock toxin syndrome from cooled raw milk. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária Zootécnica**. Belo Horizonte, v. 57, n. 5, 2005.

LANDGRAF, M. Microrganismos indicadores. In: FRANCO, B. D. G. M.; LANDFRAF, M: **Microbiologia dos alimentos**. Atheneu, 1996, Cap. 3, p. 27-31.

LAWRIE,A. C. **Ciência da Carne**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 384 p.

LE BOUGUÉNEC, C.; SERVIN, A. AL., Diffusely adherent *Escherichia coli* strains expressing Afa/Dr adhesins (Afa/Dr DAEC): hitherto unrecognized pathogens. **FEMS Microbiology Letters**. [S.l.] v.256,n.2, p.185-194, Jan. 2006.

LUDWIG, W.; SCHLEIFER, K. H.; WHITMAN, W. B. Listeriaceae. In: VOS, P.; GARRITY, G.; JONES, D.; KRIEG, N. R.; LUDWIG, W.; RAINEY, F. A.; SCHLEIFER, K.; WHITMAN, W. B. **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology** – 2009, 3 v, 2 ed., p. 244-268.

MADIGAN, M. T. et al. **Microbiologia de Brock**. 12. ed. Porto Alegre: ArtMed, 2010, 1128p.

MARTINS, R., **Dossiê técnico de produção de embutidos crus-curados (salame)**. 2006 Disponível em: < <http://sbrt.ibict.br/dossie-tecnico/downloadsDT/Mjk=>>. Acesso em: 19 jul. 2012.

ORDÓÑEZ, J. A. et.al. **Tecnologia de alimentos: Alimentos de origem animal**, 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2007. 2 v, 279 p.

PARDI, M. C. et al. **Ciência, higiene e tecnologia da carne**. Goiânia: Ufg, 1996. 1098p.

PARDI, M. C. et al. **Ciência, higiene e tecnologia da carne**. Goiânia: Ufg, 2001. 2 v. 1147 p.

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

PERESI, J.T.M. Surto de enfermidades transmitidas por alimentos causados por *Salmonella* Enteritidis. **Saúde pública**. São Paulo. v. 32, n. 5, p. 477-83, out. 1998.

PIGOTT, D. Foodborne Illness. **Emergency Medicine Clinics of North America**, [S.l.] n. 26, p. 475-497, 2008.

SES, Secretaria Estadual da Saúde. Prefeitura de Gravataí. **Alerta sobre surto de intoxicação alimentar**. Disponível em: <<http://www.gravatai.rs.gov.br/site/noticias.php?id=149621>>. Acesso em 19 jul.2012.

QUINN, P. J. et al. **Veterinary Microbiology and Microbial Disease**. 2. ed. Iowa: Wiley-blackwell, 2011.1231p.

RANTHUM, M. A. **Subnotificação e Alta Incidência de Doenças Veiculadas por Alimentos e de seus Fatores de Risco: causas e consequências no município de Ponta Grossa –PR** Disponível em: <<http://teses.icict.fiocruz.br/pdf/ranthummam.pdf>>. Acesso em: 16 jul. 2012

SAEED, A. M.; NAJI. R. Infectious agents. In: LASKY. T. **Epidemiologic principles and food safety**. New York: Oxford, 2007. Cap. 2. p.18-39.

SANTA, O. R. D., **Avaliação da qualidade de salames artesanais e seleção de culturas starter para a produção de salame tipo italiano**. Disponível em: <http://dspace.c3sl.ufpr.br/dspace/bitstream/handle/1884/16115/tese_Osmar_Roberto_Dalla_Santa.pdf;jsessionid=8DA5413AB01C8871E5C37FAB874B2F6A?sequence=1>. Acesso em: 19 jul. 2012

SAKATE, R. I. et al, Quantificação de *Listeria monocytogenes* em salames fatiados embalados a vácuo. **Archivos Latinoamericanos de nutrición**. Caracas, v.53, n.2, p.184-187, jun. 2003

SCHWAB, J. P.: EDELWEISS, M. I. A. Identificação de *Listeria monocytogenes* em placentas humanas e espécimes de aborto pela técnica de imunoistoquímica. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**. Rio de Janeiro, v. 39, n. 2, p. 111-114, 2003.

SILVA, M. P. et al. Avaliação do padrão coliformes a 45°C e comparação da eficiência das técnicas dos tubos múltiplos e Petrifilm EC na detecção de coliformes torais e *Escherichia coli* em alimentos . **Ciência da Tecnologia dos Alimentos**. Campinas, v.26. n.2, p. 352-359, abr-jun. 2006

SIRVETA, Sistema de información para la vigilância de las enfermedades transmitidas por los alimentos. Disponível em: <<http://www.panalimentos.org/sirveta>> Acesso em: 19 jul. 2012

TERRA, A. B. M. et al. Particularidades na fabricação de salame. São Paulo: Varela, 2004.

TOMPKIN, R. B. Control of *Listeria monocytogenes* in the Food-Processing Environment. **Journal of Food Protection**, USA. v. 65, n. 4, p. 709-725. 2002.

TOMPKIN, R. B. Environmental sampling – A tool to verify the effectiveness of preventive hygiene measures. **Mitt. Lebensm. Hyg.** USA. v. 95, p.45–51. 2004.

VAN DEN BELD, M. J.; REUBSAET, F. A. Differentiation between *Shigella*, enteroinvasive *Escherichia coli* (EIEC) and noninvasive *Escherichia coli*. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, [S.l.] Sep. 2011.

VURAL. H., The use of commercial starter cultures in the production of Turkish semi-dry fermented sausages. **Chemistry and materials science**. [S.l.] v. 207, n. 5, p. 410-412. 1998