

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO MICROBIOLOGIA AGRÍCOLA
CURSO DE MESTRADO**

**QUALIDADE SANITÁRIA E MICROBIOLÓGICA DA CARNE-DE-
SOL COMERCIALIZADA EM ESTABELECIMENTOS VAREJISTAS
NO MUNICÍPIO DE CRUZ DAS ALMAS-BA**

PRISCILA COUTINHO MIRANDA

**CRUZ DAS ALMAS - BAHIA
OUTUBRO – 2010**

QUALIDADE SANITARIA E MICROBIOLÓGICA DA CARNE-DE-SOL COMERCIALIZADA EM ESTABELECIMENTOS VAREJISTAS NO MUNICÍPIO DE CRUZ DAS ALMAS-BA

PRISCILA COUTINHO MIRANDA

Engenheira Agrônoma

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2007

Dissertação submetida ao colegiado do Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia e Embrapa Mandioca e Fruticultura, como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Microbiologia Agrícola.

Orientadora: Norma Suely Evangelista Barreto

Co-orientadora: Márcia Luciana Cazetta

CRUZ DAS ALMAS - BAHIA

OUTUBRO – 2010

FICHA CATALOGRAFICA

M672

Miranda, Priscila Coutinho.

Qualidade sanitária e microbiológica da carne-de-sol comercializada em estabelecimentos varejistas no Município de Cruz das Almas-BA / Priscila Coutinho Miranda._ 2010.

90 f: il.

Orientadora: Norma Suely Evangelista Barreto.

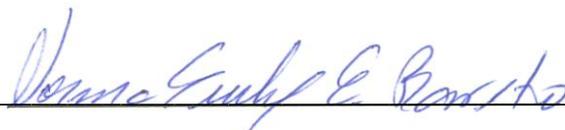
Dissertação(Mestrado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia. Área de Concentração: Microbiologia Agrícola.

1. Alimentos – microbiologia. 2. Carne – microbiologia 3. Carne -controle de qualidade. I. Universidade Federal do Recôncavo da Bahia – Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. II. Título.

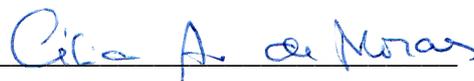
CDD 641.36

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA AGRÍCOLA
CURSO DE MESTRADO

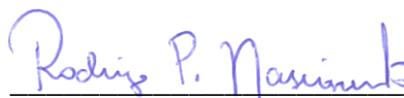
COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO
DE PRISCILA COUTINHO MIRANDA



Prof^a. Dr^a. Norma Suely Evangelista Barreto
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB
(Orientador)



Prof^a. Dr^a. Célia Alencar de Moraes
Universidade Federal de Viçosa - UFV



Prof. Dr. Rodrigo Pires do Nascimento
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB

CRUZ DAS ALMAS - BAHIA

OUTUBRO - 2010

*A Deus, por estar sempre comigo, tornando minha jornada mais tranqüila.
Aos meus pais Erivaldo C. Lima Miranda e Jailza M^a. Coutinho Miranda pela
dedicação infinita.*

Aos meus irmãos Nilo e Hígia, amigos de todas as horas.

À minha querida avó Helena por todo o carinho.

*Ao meu namorado Danillo pelo apoio na realização dos trabalhos e
companheirismo.*

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia pela oportunidade de realização do curso;

À Professora Dr^a. Norma Suely Evangelista Barreto, minha orientadora, pela oportunidade de continuar trabalhando na área de alimentos, pelo compromisso com seus orientados, disposição e competência profissional;

À Professora Dr^a. Márcia Luciana Cazetta pela contribuição na realização dos trabalhos;

À minha família, especialmente aos meus pais Eivaldo e Jailza pelo amor e confiança.

A Danilo Cerqueira Barbosa pelo companheirismo e boa vontade de passar as férias auxiliando-me nas atividades laboratoriais;

Aos colegas do NEPA, especialmente a Gleyde Córdova, pela amizade e colaboração nas análises;

À Claudia Moreira pela amizade e oportunidade de moradia;

A todos os meus amigos pelos incentivos e, em especial, Gleize Fiaes;

Ao amigo Ricardo Bastos e aos professores Carlos Ledo e Albany pelo auxílio estatístico;

Aos comerciantes do Mercado Municipal, aos gerentes e manipuladores de todos os estabelecimentos pelas valiosas informações;

A CAPES pela concessão da bolsa durante todo o curso;

E a todos aqueles que, direta ou indiretamente, colaboraram para a realização deste trabalho.

ÍNDICE

	Página
RESUMO	
ABSTRACT	
INTRODUÇÃO.....	01
CAPÍTULO 1	
A carne-de-sol: aspectos gerais.....	05
1.1 Processamento da carne-de-sol.....	06
1.2 Contaminação microbiológica na cadeia de produção da carne-de-sol.....	06
1.3 Qualidade microbiológica da carne-de-sol no Brasil.....	08
1.4 Legislação brasileira para a carne-de-sol.....	09
1.5 Surtos alimentares.....	10
1.5.1 Microrganismos Indicadores de qualidade	11
1.5.1.1 Grupo dos coliformes.....	11
1.5.1.2 <i>Salmonella</i> spp.....	14
1.5.1.3 <i>Staphylococcus aureus</i>	15
1.6 Resistência a antimicrobianos.....	17
CAPÍTULO 2	
Avaliação higiênico-sanitária de diferentes estabelecimentos de comercialização de carne-de-sol bovina no município de Cruz das Almas-Bahia	
Introdução.....	24
Material e métodos.....	26
Resultados.....	29
Discussão.....	36

CAPÍTULO 3

Avaliação microbiológica e susceptibilidade a antimicrobianos de cepas de *Salmonella* spp e *Escherichia coli* isoladas de amostras de carne-de-sol comercializada no município de Cruz das Almas-Bahia.

Introdução.....	46
Material e métodos.....	48
Resultados.....	53
Discussão.....	59
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	70
REFERÊNCIAS.....	72

RESUMO

Miranda, P. C. Qualidade sanitária e microbiológica da carne-de-sol comercializada em estabelecimentos varejistas no município de Cruz das Almas, Bahia

As deficiências higiênico-sanitárias durante o processamento e comercialização da carne-de-sol, associados à ausência de refrigeração ou manutenção do produto sob refrigeração inadequada, permite a proliferação de micro-organismos, que podem colocar em risco a saúde do consumidor. Baseado nisso, este trabalho objetivou avaliar a qualidade sanitária e microbiológica da carne-de-sol comercializada em Cruz das Almas, Bahia, relacionando se os dados encontrados atendem ao proposto pela legislação brasileira. Foram analisadas 36 amostras de carne-de-sol, adquiridas em 12 diferentes estabelecimentos (supermercados, minimercados, açougues e mercado municipal), quanto à presença de coliformes totais e termotolerantes, *Escherichia coli*, *Staphylococcus* coagulase positiva e *Salmonella* spp. Foram realizados ainda testes de cloreto e umidade na carne-de-sol e susceptibilidade a antimicrobianos das estirpes isoladas. A avaliação das condições de exposição e comercialização do produto nos estabelecimentos serviu de informação complementar, a fim de analisar o grau de segurança alimentar da carne. De acordo com os resultados, os supermercados apresentaram melhores condições de higiene e instalações físicas que os demais estabelecimentos. Na análise físico-química, o teor de umidade variou de 52,37 a 74,69%, enquanto para o cloreto houve uma variação de 3,16 a 5,98%. Nas análises microbiológicas, 10 (83,3%) estabelecimentos apresentaram contagens de mesófilos $>10^5$ UFC.g⁻¹. Coliformes totais e termotolerantes variaram de $2,3 \times 10^1$ a $>1,1 \times 10^5$ e <3 a $>1,1 \times 10^5$ NMP.g⁻¹, respectivamente, com a presença de *Escherichia coli* sendo observada em nove estabelecimentos. De acordo com a Resolução nº 12 da ANVISA, 58,33% das amostras de carne-de-sol estavam fora dos padrões exigidos na legislação quanto à presença de coliformes termotolerantes (10^3 NMP.g⁻¹). A contagem de *Staphylococcus* spp. variou de $4,8 \times 10^4$ a $9,0 \times 10^8$ UFC. g⁻¹ de colônias típicas e atípicas, embora não tenha sido confirmada a presença de *Staphylococcus* coagulase positiva. A presença de

Salmonella spp foi observada em três estabelecimentos, sendo identificadas três espécies: *S. enterica* subsp. *enterica* (2), *S. enterica* subsp. *indica* (1) e *S. Paratyphi* A (1). Todas as estirpes de *Salmonella* spp. apresentaram resistência a eritromicina, ácido nalidíxico, tetraciclina e cefalotina. Perfil de multirresistência foi observado em 100% das cepas. Para as cepas de *E. coli* os maiores índices de resistência foram verificados para os antimicrobianos eritromicina, ampicilina, tetraciclina e cefalotina, com perfil de multirresistência em 87% delas. Baseado nisso, conclui-se que medidas e ações de vigilância sanitária devem ser sugeridas para coibir a venda da carne-de-sol em condições inadequadas, prevenindo dessa maneira o risco para a saúde pública.

Palavras-chaves: Condições higiênico-sanitárias, coliformes, bactérias mesófilas, saúde pública.

ABSTRACT

Miranda, P.C. Sanitary quality and microbiological analysis of sun-dried meat sold at retail stores in Cruz das Almas, Bahia

The hygienic and sanitary deficiencies during the processing and marketing of sun-dried meat, associated with the lack of refrigeration or storage of the products under inadequate refrigeration allows the proliferation of micro-organisms, which can endanger consumer's health. From this premise, this study aimed to evaluate the sanitary and microbiological quality of sun-dried beef distributed in Cruz das Almas, Bahia, analyzing whether the data found matches what is proposed by Brazilian regulation. We analyzed 36 samples of sun-dried meat, bought in 12 different outlets (supermarkets, convenience stores, butcher shops and municipal market), for the presence of fecal coliforms and thermotolerant, *Escherichia coli*, coagulase positive *Staphylococcus* and *Salmonella* spp. Chloride and moisture tests were also performed in sun-dried meat and the antimicrobial susceptibility of strains isolated. The evaluation of exposure and marketing conditions of the product in establishments served as additional information in order to analyze the degree of food safety of the meat. According to the results, the supermarkets showed better hygiene and physical facilities than other establishments. In the physical-chemical analysis, moisture content ranged from 52.37 to 74.69%, while chloride amount presented a variation from 3.16 to 5.98%. In the microbiological analysis, 10 (83.3%) establishments had a mesophilic counting $> 10^5$ CFU g⁻¹. fecal coliforms and thermotolerants ranged from 2.3×10^1 to $>1.1 \times 10^5$ and <3 to 1.1×10^5 NMP.g⁻¹, respectively, and the presence of *Escherichia coli* was observed in nine establishments. According to Resolution N^o. 12 from ANVISA, 58.33% of sun-dried meat samples were out of the standards required by law for the presence of fecal coliform (10^3 NMP.g⁻¹). The counting of *Staphylococcus* spp. ranged from 4.8×10^4 to 9.0×10^8 CFU / g of typical and atypical colonies, even though the presence of coagulase positive was not confirmed. *Salmonella* spp was found in three site and three species were identified: *S. enterica* subsp. *enterica* (2), *S. enterica* subsp. *indica* (1) and *S. Paratyphi* A (1). All strains of *Salmonella* spp. were resistant to erythromycin, nalidixic acid, tetracycline and cephalothin.

Multi-resistance profile was observed in 100% of the strains. To the strains of *E. coli*, the higher rates of resistance were observed for the antibiotics erythromycin, ampicillin, tetracycline and cephalothin, where 87% showed multidrug resistance profile. Based on these findings, it is concluded that measures and action in health surveillance should be suggested to prevent the sale of sun-dried meat under inadequate conditions, thus preventing the risk to public health.

Keywords: Sanitary conditions, coliforms, mesophilic bacteria, public health

INTRODUÇÃO

A carne-de-sol, também denominada carne-de-sertão, carne serenada, carne-de-viagem, carne-mole, carne-do-vento ou carne acacinada, tem em todos esses nomes uma designação praticamente única do produto: mantas de carne desidratadas e dessecadas, muito consumidas de norte a sul do País (VENTURINI, 2007).

Por se tratar de um produto semi-preservado, a cura ocorre exclusivamente pela adição de cloreto de sódio (NaCl) em baixas concentrações, em média 5,0% oscilando entre 2,9 e 11,9% (SILVA, 1999). A carne-de-sol surgiu como uma alternativa para a preservação do excedente da produção de carne bovina e, atualmente, é produzida em larga escala, devido às suas características organolépticas agradáveis, muito apreciadas principalmente na região nordeste do Brasil (COSTA E SILVA, 2001).

Embora a utilização desse alimento esteja ligada à história da cultura brasileira, existem poucas pesquisas na literatura sobre a qualidade microbiológica da carne-de-sol, uma vez que este produto é altamente popular, não existindo tecnologia sofisticada para sua elaboração e tampouco padrões oficiais de identidade e qualidade, o que permite que esse alimento seja elaborado de forma caseira e sob condições sanitárias inadequadas (MENUCCI, 2009). Por outro lado, a ausência de regulamentação para a sua produção, aliado à falta de inspeção regular nos estabelecimentos de comercialização é, ainda, agravada pela baixa exigência do produto quanto à conservação, uma vez que dispensa o uso de embalagem e armazenamento sob refrigeração.

A duração média da carne-de-sol é de três a quatro dias, o que é insuficiente para ser classificado como alimento industrial, já que após este prazo a carne se deteriora com aparecimento de uma limosidade superficial e que lhe confere cheiro de fermentação azeda, imprópria para o consumo. A maior causa da deterioração da carne-de-sol ocorre devido ao crescimento de uma flora mista de bactérias, fungos e leveduras responsáveis pelo limo superficial e azedamento do produto (NOBREGA, 1982).

A determinação da incidência de micro-organismos deteriorantes e patogênicos na carne-de-sol, além de ser uma fonte de dados para a

especificação de padrões microbiológicos, também serve de subsídio para o estabelecimento da melhoria nos aspectos tecnológicos durante o processamento desse alimento, bem como a aplicação de boas práticas de fabricação. Contudo, a maior preocupação quanto ao consumo desse produto, está relacionada à sua segurança, ou seja, ausência de contaminação por agentes químicos, físicos e microbiológicos em concentrações prejudiciais à saúde do consumidor.

Por outro lado, um dos fatores que pode ser determinante para a elevada carga microbiana encontrada na carne-de-sol é o baixo teor de sal utilizado, suficiente apenas para reduzir a atividade de água para valores próximos a 0,96, valor esse capaz de inibir o crescimento de *Pseudomonas*, mas que oferece condições favoráveis ao desenvolvimento de bactérias Gram-positivas, como as pertencentes ao gênero *Staphylococcus* (SILVA, 1999). Ainda segundo o autor, a carne-de-sol apresenta condições propícias ao desenvolvimento de *Staphylococcus aureus*, não só por suas características intrínsecas supracitadas, mas, principalmente, pelas condições em que o produto é comercializado. Outros micro-organismos também de interesse na avaliação da qualidade da carne-de-sol são os coliformes, indicadores de contaminação fecal e que indicam ainda a presença de micro-organismos patogênicos. A contaminação por coliformes ocorre principalmente nas etapas de abate e processamento (SOUSA, 2006).

Dados epidemiológicos realizados em diversos países citam as salmonelas entre os agentes patogênicos mais freqüentemente encontrados em surtos de toxinfecção de origem alimentar, tanto em países desenvolvidos, como os em desenvolvimento. Os surtos atribuídos a esse patógeno estão, geralmente, relacionados com o consumo de produtos cárneos (CARNEIRO, 2003).

Diante do relatado, torna-se importante à análise de testes microbiológicos, para caracterizar as condições higiênico-sanitárias da carne-de-sol comercializada no município de Cruz das Almas-BA, parâmetro importante para que este produto não ofereça riscos à saúde dos consumidores.

CAPÍTULO 1

A Carne-de-sol: aspectos gerais

RESUMO

Miranda, P. C. A Carne-de-sol: aspectos gerais

A carne-de-sol é um produto artesanal, resultado de técnicas superficiais de salga e desidratação, empregado pela população principalmente no Norte e Nordeste do Brasil. No entanto, as deficiências higiênicas associadas ao seu processamento são agravadas pela ausência de refrigeração. Aliado a isso, a manipulação e armazenamento inadequados, a aquisição de matéria prima de origem desconhecida ou duvidosa podem ser fatores importantes na ocorrência de surtos de origem alimentar, colocando em risco a saúde do consumidor. Apesar das restrições impostas durante a produção das carnes salgadas, pela adição de sal e secagem, que tendem a reduzir a microbiota da carne fresca, estudos têm relatado a presença de micro-organismos desejáveis e indesejáveis nestes produtos. Por outro lado, um dos fatores que pode ser determinante para a elevada carga microbiana encontrada na carne-de-sol é o baixo teor de sal utilizado, suficiente apenas para reduzir a atividade de água para valores próximos a 0,96, valor esse que oferece condições favoráveis ao desenvolvimento de bactérias Gram-positivas, como as pertencentes ao gênero *Staphylococcus*. Outros micro-organismos também de interesse na avaliação da qualidade da carne-de-sol são os coliformes, indicadores de contaminação fecal, mas que indicam também a presença de micro-organismos patogênicos. Essa contaminação ocorre principalmente nas etapas de abate e processamento do produto. Dessa forma, torna-se importante a determinação da incidência de micro-organismos patogênicos na carne-de-sol, pois, além de ser uma fonte de dados para a especificação de padrões microbiológicos, também serve de subsídio para o estabelecimento da melhoria nos aspectos tecnológicos durante o processamento desse alimento, bem como a aplicação de boas práticas de fabricação.

Palavras-chaves: micro-organismos patogênicos, saúde pública, qualidade

ABSTRACT

ABSTRACT

Miranda, P.C. Sun-meat: General

The sun-dried meat is a handmade product, resulting from superficial of salting and drying, used mainly by people in northern and northeastern Brazil. However, the deficiencies associated to the hygienic deficient processing are exacerbated by the absence of refrigeration. Allied to this, the handling and inadequate storage, the purchase of raw material from unknown or doubtful sources may be important factors in the occurrence of food born outbreaks, endangering the health of consumers. Despite the restrictions imposed during the production of salted meat, by adding salt and drying, which tend to reduce the microflora on fresh meat, studies have reported the presence of desirable and undesirable micro-organisms in these products. Moreover, one of the factors that could contribute to the high microbial load found in sun-dried meat is low amount of salt used, which is just enough to reduce the water activity to values close to 0.96, a value that offers favorable conditions for development of gram-positive bacteria, such as those belonging to the genus *Staphylococcus*. Other micro-organisms, also relevant in assessing the quality of sun-dried meat, are the coliforms, indicators of fecal contamination, but also indicators of the presence of micro-organisms. This contamination occurs mainly during the slaughter and processing of the product stages. Thus, it becomes important to determine the incidence of pathogenic microorganisms in sun-meat, because, besides being a source of data for specifying microbiological standards, it also serves as a subsidy for the establishment of improvement in technological aspects during the processing of that food, as well as the implementation of good manufacturing practices.

Keywords: pathogen micro-organisms, public health, quality

1.1 Processamento da carne-de-sol

Para se fabricar a carne-de-sol, a carne bovina é submetida a um leve processo de desidratação e salga, obtendo-se um produto com características muito semelhantes à carne fresca e que tem durabilidade de até 72-96 horas a temperatura ambiente. O sal utilizado na produção da carne-de-sol é mais fino do que o usado para produzir o charque. Apesar do nome “carne-de-sol”, a mesma é raramente exposta ao sol no processo de desidratação, apenas deixada em local coberto e bem ventilado, permitindo assim uma secagem gradual e controlada. Portanto, o antigo nome “carne-de-vento” expressaria melhor o processo pelo qual a carne-de-sol é preparada, sendo feita a partir de cortes de toda a carcaça bovina (SIC, 2010).

Quando os animais são abatidos pelos próprios fabricantes, aguarda-se o *rigor mortis* para realizar-se a desossa. Os cortes individuais são mantidos na espessura de 3 a 4 cm e em seguida recebem incisões parciais a cada 3 cm para facilitar a penetração do sal no interior do músculo e a perda de umidade para o ambiente (CARVALHO JÚNIOR, 2002).

Em seguida aplica-se salga seca, esfregando uma generosa quantidade de sal nas peças. Após esse processo, a carne é lavada com água potável, com o objetivo de remover o excesso de sal da superfície. O sal é uma substância higroscópica e seu excesso na superfície da carne aumenta a umidade, podendo favorecer o desenvolvimento de micro-organismos halófilos, eventualmente presentes. A secagem é realizada em varais com ou sem a exposição ao sol, no entanto, essa exposição possibilita a obtenção de um produto microbiologicamente mais estável. O tempo e o procedimento variam de acordo com o local, podendo ser só à sombra em instalações abertas que permitam a circulação do ar noturno, por breve exposição ao sol, seguida ou não de secagem à sombra (SILVA, 2001).

1.2 Contaminação microbiológica na cadeia de produção da carne-de-sol

Por constituir um veículo potencial de contaminantes de natureza biológica, física ou química nas diversas fases, desde a produção primária até a

transformação, armazenagem, transporte e distribuição para o consumo, a carne-de-sol deve, via de regra, se submeter ao controle de qualidade higiênico-sanitário, tecnológico e comercial (FEITOSA, 1999).

A contaminação dos alimentos se inicia na produção da matéria-prima e se estende às etapas de transporte, recepção e armazenamento. Durante a manipulação pode haver contaminação por condições precárias de higiene de manipuladores, equipamentos, utensílios, ambiente e condições inadequadas de armazenamento dos produtos alimentícios (ZANDONADI, 2007).

No Brasil, grande parte dos problemas de qualidade da carne bovina comercializada está relacionada com a falta de inspeção sanitária. Nos estados das regiões Norte e Nordeste, a situação sanitária e fiscal, com raras exceções tem sido bastante crítica. Nestes estados, praticamente não são encontrados matadouros-frigoríficos de médio e grande porte, onde os bovinos apresentam baixa qualidade zootécnica e os abates oficialmente registrados são em número muito menor do que demonstram os censos (FELÍCIO, 2001).

Aliado a estas questões, os alimentos de origem animal, especificamente a carne, pela sua composição rica em nutrientes e sua elevada atividade de água, é bastante susceptível à deterioração microbiana. Excelente meio de cultura para o desenvolvimento de micro-organismos, esse alimento está freqüentemente envolvido como veículo de patógenos causadores de enfermidades ao homem e a outros animais (OLIVEIRA, 2008).

A incidência de diferentes micro-organismos encontrados na carne fresca é muito variada, principalmente porque a microbiota inicial da carne é afetada pelas condições pré-abate, bem como pelas fontes de contaminação, incluindo facas, mesas de corte, couro e material fecal. Após a limpeza, a superfície da carcaça bovina pode ter entre 10^2 e 10^4 UFC.cm⁻² e, após a desossa, os cortes de carne para embalagem, devem ter provavelmente, um número de micro-organismos contaminantes consideravelmente maiores. Durante a estocagem aeróbia da carne, a limosidade pode tornar-se visível quando o número de bactérias atingir 10^8 UFC.cm⁻², e odores estranhos podem ser sentidos quando o número atingir 10^7 UFC.cm⁻² (SILVA, 2001; OLIVEIRA, 2008).

Segundo Carvalho Junior (2002) o controle da temperatura, pH e atividade de água são ferramentas importantes no controle da deterioração microbiana dos

alimentos. Imediatamente após o abate, os músculos bovinos são extremamente susceptíveis ao crescimento microbiano, pois, além de ricos em nutrientes, apresentam pH na faixa de 7,0 e 7,2, temperatura na ordem de 38,5°C e atividade de água próxima a 1,0, o que constitui condições ideais para o crescimento de micro-organismos deterioradores e produtores de toxinfecções.

No processamento de carne-de-sol as deficiências higiênicas associadas a esta etapa, são agravadas pela ausência de refrigeração. A manipulação e o armazenamento inadequados, a aquisição de carne de origem desconhecida ou duvidosa (sem identificação, prazo de validade e data de embalagem) podem ser fatores importantes na ocorrência de surtos de origem alimentar colocando em risco a saúde do consumidor (MENUCCI, 2009).

1.3 Qualidade microbiológica da carne-de-sol no Brasil

Poucos estudos têm relatado a qualidade microbiológica da carne-de-sol em diversas regiões brasileiras. Costa e Silva (1999) analisando a qualidade sanitária da carne-de-sol comercializada em João Pessoa – PB verificaram que a contagem total de micro-organismos aeróbios, na maioria das amostras, estava acima de cinco ciclos logarítmicos. A presença de *Staphylococcus aureus* em 50% das amostras era superior a 10^5 UFC/cm² e o número mais provável de coliformes fecais se encontrava acima de 10^3 NMP/cm², em 60% das amostras analisadas.

Da mesma forma, Leite Jr. et al., (2000) ao analisar a presença de micro-organismos mesófilos, *Salmonella* spp e *Staphylococcus aureus*, em amostras de carnes-de-sol comercializadas à temperatura ambiente e sob refrigeração no comércio varejista de Campina Grande-PB, observaram que os resultados encontrados não demonstraram diferença significativa nas contagens presuntivas de *Staphylococcus aureus* para as amostras comercializadas à temperatura ambiente ou sob refrigeração. A presença de *Salmonella* spp foi detectada em 40% das amostras comercializadas à temperatura ambiente, e em 30% das mantidas sob refrigeração.

Sousa et al., (2006), ao analisarem amostras de carne-de-sol de diferentes produtores, comercializada no município de Solânea-PB, observaram elevadas

contagens de bactérias mesófilas, coliformes totais, coliformes fecais, *Staphylococcus aureus* e presença de *Salmonella* spp.

Na cidade de Diadema-SP, Menucci (2009) encontrou resultados semelhantes aos supracitados ao analisar carnes-de-sol comercializadas em 22 “casas do norte”. Os resultados permitiram concluir que esse alimento comercializado em 20 (90,9%) dos estabelecimentos apresentaram condições higiênico-sanitárias insatisfatórias no conjunto das análises microbiológicas e macroscópicas, devido aos perigos físicos e/ou a presença de micro-organismos patogênicos, estando em desacordo com as Resoluções RDC 12/2001 e RDC 175/2003 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária- ANVISA. *Staphylococcus aureus* foi encontrado em 50% das amostras de carne-de-sol analisadas, além de apresentarem potencial para a produção da enterotoxina. A presença de *Salmonella* spp foi encontrada em apenas duas amostras.

1.3.1 Legislação brasileira para a carne-de-sol

Considerando o grande volume de carne-de-sol comercializada no Nordeste brasileiro, existe a necessidade da definição de critérios e padrões físico-químicos para sua elaboração, visto que o produto parcialmente desidratado e semipreservado pela salga não pode se enquadrar no padrão existente para a carne de charque e similares, porque sua vida-de-prateleira é muito curta quando comparada a estes produtos (LIRA; SHIMOKOMAKI, 1998). Neste contexto, a carne-de-sol não se enquadra em qualquer das legislações brasileiras existentes sobre o assunto e não possui uma regulamentação técnica que lhe confira definições de critérios e padrões físico-químicos ou microbiológicos ou que lhe atribua um memorial descritivo para a sua elaboração. Também não existe no Regulamento Industrial de Inspeção Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA) do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) qualquer artigo que forneça um conceito caracterizando-a de forma legal e sua elaboração segue então, conceitos ou normas regionais (SIC, 2009). Esses fatores, associados aos procedimentos rudimentares de abate e elaboração da carne-de-sol, contribui para o desenvolvimento de uma microbiota indesejável, que pode gerar riscos à saúde do consumidor.

De acordo com a Portaria nº 451 de 19 de setembro de 1997 do Ministério da Saúde as características microbiológicas da carne-de-sol não estão contempladas nessa portaria (BRASIL, 1997).

A Resolução RDC Nº 12, de 2 de janeiro de 2001, do Ministério da Saúde (BRASIL, 2001), com o intuito de proteger a saúde do consumidor, estabelece padrões microbiológicos sanitários para os alimentos, não existindo padrões específicos para a carne-de-sol. Dessa forma, pela ausência de padrões microbiológicos para esse alimento na legislação brasileira, é usado como parâmetro de especificação o disposto na RDC Nº 12, no grupo de alimentos designados: produtos cárneos maturados (presuntos crus, copas, salames, lingüiças dessecadas, charque, "jerked beef" e similares), cujo limite máximo para os micro-organismos *Staphylococcus* coagulase positiva é de $5,0 \times 10^3$ UFC.g⁻¹, coliformes a 45°C/g 10^3 NMP/g e ausência de *Salmonella* sp em 25 g da amostra (BRASIL, 2001).

1.3.2 Surtos alimentares

Todos os anos, de uma a 100 milhões de pessoas contraem doenças de origem alimentar decorrentes do consumo de alimentos e água contaminada. Esse número pode ser maior, diante da falta de dados epidemiológicos reais, uma vez que é estimado apenas 1 a 10% dos casos computados pelas estatísticas oficiais e, geralmente, os produtos cárneos estão sempre associados a alguma enfermidade alimentar (ANDREOLI, 2009).

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

A carne fresca proveniente de animais sadios, obtida em abate sob condições higiênicas, apresenta uma microbiota contaminante que possui um baixo número de bactérias patogênicas, composta, principalmente, por bactérias Gram-negativas, destacando-se os gêneros *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Aeromonas*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium*, *Moraxela* e micro-organismos da Família *Enterobacteriaceae*, na qual se incluem principalmente, os coliformes. Os

cocos Gram-positivos são representados pelos *Micrococcus* e *Staphylococcus* e, em menor frequência, pelos estreptococos fecais (SOUZA, 2006).

Dentre os micro-organismos patogênicos que potencialmente podem estar presentes no produto final destacam-se a *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Listeria monocytogenes*, que entram nas plantas de abate a partir dos animais vivos e operários (CORREIA, 2003).

1.5.1 Micro-organismos indicadores de qualidade

Os micro-organismos indicadores de qualidade usualmente utilizados em pesquisas com alimentos são as enterobactérias e os estreptococos fecais. O principal objetivo da utilização de bactérias como indicador da falta de medidas sanitárias é identificar falha no tratamento e/ou na manipulação do alimento. (LIMA 2007). A contagem de *Escherichia coli*, enterobactéria pertencente ao grupo dos coliformes, representa a forma mais adequada de verificação de uma provável contaminação de origem fecal nos alimentos (FORSYTHE, 2005).

Por outro lado, a contagem de bactérias aeróbias mesófilas também é empregada para indicar a qualidade sanitária dos alimentos, pois mesmo que bactérias patogênicas estejam ausentes na amostra e não haja alterações sensoriais no produto, o número elevado dessas bactérias mesófilas indica que o mesmo pode está insalubre (FRANCO; LANDGRAF, 2005).

1.5.1.1 Grupo dos coliformes

O grupo dos coliformes é diferenciado em dois grupos, os coliformes totais que são utilizados para avaliar as condições higiênicas, contaminação após o processamento, limpeza e sanitização deficitárias, tratamentos térmicos ineficientes ou multiplicação durante o processamento e estocagem e coliformes fecais, empregados como indicadores de material fecal (SILVA, 2000).

Os coliformes totais são um subgrupo da família *Enterobacteriaceae* que inclui 44 gêneros e 176 espécies. Apresentam-se sob a forma de bastonetes Gram-negativos, não formadores de esporos, sendo capazes de fermentar a lactose, com produção de gás, quando incubados a 35° - 37°C, por 48 horas (MORELLI, 2008). Amplamente distribuídos na natureza, são encontrados no solo, na água, nas plantas e no trato intestinal de seres humanos e animais.

Como membros desse grupo destacam-se os gêneros *Escherichia*, *Enterobacter* e *Citrobacter*. Assim, a presença de coliformes totais em uma amostra de alimento não indica necessariamente, contaminação fecal recente ou ocorrência de enteropatógenos (FRANCO; LANDGRAF, 2005).

O grupo dos coliformes termotolerantes, comumente chamados coliformes fecais é um subgrupo dos coliformes totais (MORELLI, 2008). Caracterizam-se pela presença da enzima β -galactosidase e pela capacidade de fermentar a lactose, com produção de gás no prazo de 24 horas a $\pm 44 - 45^{\circ}\text{C}$ em meios contendo sais biliares ou outros agentes tenso-ativos com propriedades inibidoras semelhantes. Empregados como indicadores de contaminação por material fecal, presumindo-se que a população deste grupo seja formada por uma alta concentração de *Escherichia coli*, ao redor de 90%. Sua presença em alimentos sugere a presença de outros micro-organismos entéricos (CERQUEIRA; HORTA, 1999; SILVA, 2000; SILVA 2007).

Segundo Jay (2005) a *Escherichia coli* está incluída tanto no grupo dos coliformes totais quanto no grupo dos coliformes termotolerantes. Esta espécie pertence ao gênero *Escherichia*, classificado dentro da família *Enterobacteriaceae*. A *E. coli* é um micro-organismo cuja temperatura ideal para multiplicação encontra-se na faixa de 25°C a 40°C . Sendo assim, o armazenamento dos produtos cárneos sob refrigeração é considerado uma barreira para sua multiplicação (SILVA, 2007).

A maioria das cepas de *E. coli* presentes no trato gastrointestinal são comensais não patogênicos. No entanto, nas últimas décadas, se comprovou a existência de linhagens de *E. coli* patogênicas ao homem, que podem provocar infecções graves, inclusive levando a morte, passando a merecer maior atenção da indústria, autoridades de saúde e sociedade. Na maioria dos surtos descritos, a transmissão foi veiculada por alimentos de origem bovina, tendo sido a carne, crua ou mal passada, implicada em quase todos os surtos documentados (GERMANO; GERMANO, 2003; MACEDO, 2007).

Em 1920 começaram a surgir evidências de que o micro-organismo denominado *Bacterium coli*, renomeada posteriormente como *Escherichia coli*, poderia provocar gastroenterite com mortalidade significativa em crianças. Por volta de 1940, ficou efetivamente estabelecida a enteropatogenicidade desta

bactéria. Sendo assim, cepas de *E. coli* patogênicas são definidas como bactérias capazes de causar diarreia no homem ou animais, e a subdivisão é feita de acordo com o mecanismo de cada doença (ICMSF, 1996).

Atualmente existem seis grupos de *E. coli* patogênicas reconhecidos, sendo esses: *E. coli* enteropatogênica (EPEC), *E. coli* enterotoxigênica (ETEC), *E. coli* enteroinvasiva (EIEC), *E. coli* enteroagregativa (EAEC), *E. coli* de aderência difusa (DAEC) e *E. coli* Shiga toxigênica (STEC) ou enterohemorrágica (EHEC) (MORELLI, 2010).

No grupo das enterohemorrágicas (EHEC), a *E. coli* O157:H7 é o sorotipo mais comum e mais estudado. Os relatos atuais sugerem que, ao longo do tempo, a *E. coli* foi infectada por um vírus que inseriu seu DNA no cromossomo da bactéria e um de seus genes passou a conter a informação para a produção da toxina "Shiga-like". Estas toxinas, também chamadas verotoxinas, estão intimamente relacionadas, em estrutura e atividade à toxina produzida pela *Shigella dysenteriae*. A combinação de letras e números no nome da bactéria se refere aos marcadores específicos encontrados em sua superfície e isto as distingue de outros sorotipos de *E. coli*. A *E. coli* O157:H7 foi reconhecida, pela primeira vez, como causa de enfermidade nos Estados Unidos em 1982, durante um surto de diarreia sanguinolenta severa, tendo sido isolada em hambúrgueres contaminados. Desde então, a maioria das infecções são provenientes da ingestão de carne moída mal cozida, pois o trato intestinal de ruminantes, particularmente bovinos e ovinos, parece ser o principal reservatório das cepas enterohemorrágicas de *E. coli* O157:H7. Em suínos e aves a presença parece não ser tão comum, embora já tenha sido isolada do intestino desses animais. A patogênese da infecção tanto pela *E. coli* O157:H7 quanto para outras *E. coli* enterohemorrágicas não está completamente compreendida. Sabe-se que as propriedades virulentas envolvidas são distintas daquelas de outros grupos de *E. coli* (SILVA, 2004; MORELLI, 2010).

1.5.1.2 *Salmonella* spp

O gênero *Salmonella* foi inicialmente caracterizado em 1885, tendo sua denominação em homenagem ao patologista Daniel Elmer Salmon. Pertencente à família *Enterobacteriaceae* é classificada com base em suas características

bioquímicas. Desta forma, se distingue sorologicamente, mediante provas bioquímicas, cerca de 2.000 sorotipos de *Salmonellas*, considerados na atualidade como patógenos, produzindo muitas e variadas enfermidades identificadas de um grande número de hospedeiros distribuídos pelo mundo (PONTES, 2004; FIGUEIREDO, 2008).

Essa bactéria se apresenta como bastonete curto (1 a 2 μm), Gram-negativos, não esporulados, na maioria móveis por flagelos peritríquios, exceto *Salmonella Gallinarum* e *Salmonella Pullorum*, de metabolismo aeróbio ou facultativamente anaeróbio. Fermenta a glicose com produção de ácido e gás, sendo incapaz de fermentar a lactose e a sacarose e, além disso, utiliza o citrato como única fonte de carbono, reduz o nitrato a nitritos, mas não produz indol ou urease. O gás sulfídrico (H_2S) geralmente é produzido pela maioria dos sorovares. Determinados sorotipos de *Salmonella* apresentam exceções para algumas características comuns do gênero (FRANCO; LANDGRAF, 1996; FIGUEIREDO, 2008).

A temperatura ótima para crescimento é de 37°C, mas podem também crescer a 43°C. São bastante sensíveis ao cloreto de sódio, tendo sido detectados em salmoura contendo 3,2% de sal. Embora a concentração máxima tolerada seja de 5,8%, estes valores dependem de outros fatores como pH e a temperatura da salmoura. Suportam uma variação de pH entre 4,5 e 9,0, com pH ótimo de crescimento entre 6,5 e 7,5. A atividade de água ideal para o crescimento de *Salmonella* spp. oscila de 0,945 a 0,999 (SILVA, 2000; FORSYTHE, 2005).

Amplamente difundida na natureza, tem como reservatório principal o trato intestinal de pessoas e animais, principalmente os mamíferos, pássaros e os répteis. As aves apresentam um importante papel na transmissão desse patógeno, pois podem ser portadoras assintomáticas, excretando continuamente salmonelas em suas fezes, onde a intoxicação alimentar ocorre pela ingestão de alimentos contaminados com qualquer um dos sorovares (TRABULSI, 2008).

Com relação à transmissão da *Salmonella* para o homem, esta geralmente ocorre pelo consumo de água e alimentos contaminados, embora, a transmissão de pessoa para pessoa possa ocorrer, particularmente nos hospitais, ou ainda,

por meio do contato com animais infectados, principalmente entre veterinários e trabalhadores de granjas e fazendas (TRABULSI, 2008).

Este gênero é, possivelmente, o mais perigoso da carne, considerando as estatísticas das toxinfecções alimentares, e continua sendo um dos mais estudados (PARDI, et al., 1995; REZENDE, 2005). A incidência da *Samonella* spp em carnes é relativamente alta, sendo a quantidade encontrada variável de acordo com as condições de manejo dos animais durante sua criação, cuidados higiênicos nas operações de abate e posterior manipulação das carcaças (SILVA, 2000). A contaminação pode, ainda, ocorrer nos pontos de venda em função da exposição e manuseio inadequados desses alimentos (CARNEIRO, 2003).

As doenças causadas por *Salmonella* costumam ser subdivididas em três grupos: a febre tifóide, causada pela *Salmonella typhi*; febres entéricas, causadas pela *Salmonella paratyphi* (A, B e C) e as enterocolites, também chamadas de salmoneloses, causadas pelas demais linhagens do gênero (FRANCO; LANDGRAF, 2005). Embora os micro-organismos sejam eliminados rapidamente do trato intestinal, mais de 5% dos pacientes tornam-se portadores assintomáticos após a cura da doença, possuindo, portanto, um papel importante na disseminação da doença (JAY, 2005).

Como a *Salmonella* spp. pode se multiplicar facilmente em alimentos de origem animal e sua dose infectante varia de 10 células a milhões delas, sua ausência em produtos alimentícios é exigida na maioria dos países. A legislação brasileira segue as normas internacionais, sendo rigorosa neste sentido, ou seja, não há tolerância em relação à presença desta bactéria nos alimentos. Para as análises, recomenda-se um plano de amostragem de duas classes, estabelecendo ausência de *Salmonella* em 25g de cada unidade de amostra (BRASIL, 2001; AMSON et al., 2007).

1.5.1.3 *Staphylococcus aureus*

As bactérias do gênero *Staphylococcus* são cocos Gram-positivos, pertencentes à família *Micrococcaceae* e por se dividirem em planos diferentes, quando vistos ao microscópio, apresentando-se na forma de cacho de uva. São anaeróbias facultativas, com maior desenvolvimento sob condições aeróbias, quando produzem catalase. Apresentam temperatura de crescimento na faixa de

7°C a 47,8°C, sendo as enterotoxinas produzidas entre 10° e 46°C, com ótimo na faixa de 40° e 45°C. Em geral, quanto menor a temperatura, maior o tempo para produção da enterotoxina (JAY, 2005).

O grupo é tolerante a concentrações de 10% a 20% de cloreto de sódio (NaCl), com valor mínimo de atividade de água (Aa) na faixa de 0,86 apesar de, sob condições ideais, já ter sido observado seu crescimento em Aa de 0,83, embora sem a produção de enterotoxinas. Com relação ao pH apresentam faixa de pH de 4 a 9,8, com ótimo entre 6 e 7 (SILVA, 2000; FRANCO; LANDGRAF, 2005).

Staphylococcus aureus se encontra amplamente disseminado no ambiente, sendo o seu principal reservatório o homem e os outros animais. Dessa forma, tem as fossas nasais como o seu habitat natural. A partir do nariz, os micro-organismos se difundem pelo rosto, mãos e por toda a pele do indivíduo, podendo ser encontrado ainda na garganta, nos cabelos e na pele de mais de 50% da população humana. A partir dos portadores o *S. aureus* pode, de várias formas, atingir o ambiente, vestimentas, mobiliário, utensílios e equipamentos, assim como os alimentos. Os animais domésticos também podem albergar o *S. aureus*, se constituindo em possíveis fontes de contaminação dos alimentos (IARIA, 1981; PARDI, 2001; JAY, 2005).

O gênero possui 35 espécies conhecidas, sendo quatro delas de interesse potencial em microbiologia de alimentos. A espécie *Staphylococcus aureus* é a que está mais frequentemente associada às doenças estafilocócicas, pois produz uma enterotoxina altamente termoestável, responsável no homem, por quadros de estafiloenterotoxemia ou estafiloenterotoxiose (WASHINGTON et al., 2008).

Staphylococcus aureus é o principal micro-organismo implicado em surtos de DTA's (Doenças Transmitidas por Alimentos), sendo transmitidos aos alimentos principalmente pelo homem e pelas condições inadequadas de higiene, permitindo contaminações cruzada por contato com equipamentos, utensílios e a matéria-prima. A frequência de portadores dessa bactéria é relativamente alta e pode se constituir em um elemento importante na cadeia epidemiológica da intoxicação alimentar estafilocócica, desde que ocorra infecção por *S. aureus* produtor de enterotoxina (GERMANO; GERMANO, 2008).

As enterotoxinas são proteínas de cadeia curta secretadas no meio, solúveis em água e soluções salinas, ricas em lisina, ácido aspártico, glutâmico e resíduos de tirosina e a maioria possui uma cisteína, requerida para conformação apropriada e provavelmente responsável pela atividade emética. Elas são altamente estáveis ao calor e resistentes à maioria das enzimas proteolíticas como pepsina e tripsina, e exercem sua atividade no trato digestivo após a ingestão do alimento. Atualmente vários grupos de enterotoxinas com diferentes características são reconhecidas, sendo a maioria dos surtos provocados pelas do tipo A e D (JAY, 2005).

1.6 Resistência a antimicrobianos

A descoberta dos antibióticos e a sua utilização em terapia anti-infecciosa constituiu um progresso inquestionável da medicina do século XX. No entanto, a eficácia dos agentes antibacterianos foi rapidamente superada pela capacidade que as bactérias têm de se opor à sua ação. Visto que as bactérias podem adquirir resistência aos antibióticos, modificando o seu genoma por mutação ou incorporando genes provenientes de outros micro-organismos por diferentes sistemas de transferência genética. Com isso, é freqüente encontrar estirpes resistentes a várias classes de antibacterianos (VAZ, 2009, TAVARES, 2009).

As mudanças no sistema de criação animal, principalmente a adoção de sistemas intensivos, aumentaram a pressão de infecção e o nível de estresse para os animais nos quais os antibióticos são utilizados, não só para fins terapêuticos, mas também para fins profiláticos. Estas alterações fizeram com que o uso de antimicrobianos tornasse uma ferramenta essencial à produção, na forma de medicamentos preventivos, curativos ou através da utilização de antimicrobianos em doses baixas para melhorar o crescimento animal (CARNEIRO et al., 2007; INSA, 2010).

O uso indiscriminado dessas drogas, não somente na medicina veterinária, como também na humana, por meio da excessiva prescrição de antibióticos por parte dos médicos, resulta na seleção de bactérias resistentes. Estas não somente podem se tornar predominantes em uma população de bactérias, como pode transferir material genético para bactérias susceptíveis, adquirindo a resistência (RIBEIRO, 2006).

A resistência a drogas antibacterianas pode ser codificada pelo cromossomo bacteriano ou em plasmídeos o que facilita a difusão destes genes. Sendo que os plasmídeos e transposons geralmente são mediadores de múltipla resistência, na qual os micro-organismos se tornam resistentes a determinadas drogas de diferentes classes. Esse tipo de transferência pode acontecer entre diferentes gêneros e espécies de bactérias (QUINN, 2005).

O desenvolvimento de resistência entre bactérias entéricas foi bem estudado visto ser o intestino o maior local de transferência da resistência antibiótica, tanto por causa do vasto número de bactérias presentes, quanto em razão das oportunidades de disseminação destas bactérias em animais criados intensivamente. Plasmídeos de resistência a múltiplas drogas são mantidos uma população pelo uso de qualquer antibiótico para o qual a resistência é codificada em genes plasmidiais. Assim, o uso de quase todo o antibiótico tenderá a promover resistência múltipla (VAZ, 2009).

CAPÍTULO 2

Avaliação higiênico-sanitária de diferentes estabelecimentos de comercialização de carne-de-sol bovina no município de Cruz das Almas-BA

RESUMO

Miranda, P.C. Avaliação higiênico-sanitária de diferentes estabelecimentos de comercialização de carne-de-sol bovina no município de Cruz das Almas-BA

Este trabalho teve como objetivo avaliar o perfil higiênico-sanitário das unidades de comercialização de carne-de-sol bovina, no município de Cruz das Almas, Bahia. Ao todo, foram estudados 12 estabelecimentos comerciais, sendo eles: quatro supermercados, três minimercados, dois Boxes (localizados no Mercado Municipal) e três açougues, no período de Dezembro de 2009 a Janeiro de 2010. Para a metodologia foi utilizado um estudo descritivo observacional da estrutura física das unidades de comercialização e entrevista por meio de questionário semi-estruturado com os comerciantes dos açougues e mercado municipal e com os gerentes e manipuladores dos supermercados e minimercados, relacionando se os dados encontrados atendiam o proposto pela legislação brasileira. Nesta etapa, foram feitas perguntas acerca de uma série de parâmetros, como a origem da matéria prima, condições de comercialização e armazenamento do produto, capacitação dos funcionários, inspeção sanitária, principais problemas e/ou dificuldades enfrentadas. De acordo com os resultados, os supermercados apresentaram melhores condições de higiene e instalações físicas que os demais estabelecimentos. Os Boxes do Mercado Municipal, minimercados e açougues apresentaram índices mais críticos de inadequação aos requisitos propostos na legislação. Refrigeração não era utilizada em 06 (50%) estabelecimentos e em 12 (100%) deles a carne-de-sol não se encontrava com embalagem. Em 09 (75%) as facas não eram de uso exclusivo. A manipulação simultânea de dinheiro e alimento foi verificada em 3 (25%) estabelecimentos. A utilização de toucas descartáveis só foi observada em 03 (25%) estabelecimentos, nos demais os manipuladores usavam bonés. A utilização de aventais, sapatos fechados e limpos também só foram verificados em 03 (25%) unidades e manipuladores portando alianças e/ou relógios em 100% deles. Lavagem inadequada das mãos e conversas durante a manipulação e comercialização do alimento foi verificada em todos os estabelecimentos. Em função dos resultados insatisfatórios

encontrados, pode-se afirmar que a carne-de-sol no município de Cruz das Almas não está sendo comercializada de maneira segura, no que diz respeito aos riscos de contaminação microbiológica. Neste caso, há necessidade de intervenção de autoridades sanitárias competentes, a fim de se fazer cumprir a legislação vigente, bem como ações educativas que promovam uma maior conscientização da população local e a capacitação dos manipuladores envolvidos no processo de manipulação e comercialização da carne-de-sol, no sentido de adotar boas práticas sanitárias.

Palavras-chave: Boas práticas de fabricação, qualidade sanitária, manipulador.

ABSTRACT

Miranda, P.C. Sanitary inspections of individual establishments marketing beef sun-dried beef in the city of Cruz das Almas-BA

This study aimed to evaluate the profile of hygiene and sanitary units marketing beef sun-dried beef, in Cruz das Almas, Bahia. Altogether we studied 12 commercial establishments, among them: four supermarkets, three convenience stores, two Boxes (located in the Municipal Market) and three butchers in the period December 2009 to January 2010. For the methodology used was a descriptive observational study of the physical structure of unit sales and an interview using a semi-structured questionnaire with the butchers and dealers in the municipal market and the managers and handlers of supermarkets and mini markets, linking the data found attended proposed by the Brazilian legislation. In this step, we asked questions about a number of parameters, as the source of raw material, storage conditions and product marketing, employee training, health inspection, main problems and difficulties faced. According to the results, the supermarkets had better hygiene and physical facilities as other establishments. Boxes on the Market Hall, convenience stores and butcher shops presented higher critical inadequacy to the requirements proposed in the legislation. Cooling was not used in 06 (50%) locations and 12 (100%) of the sun-dried beef was not with the package. In 09 (75%) the knives were not of exclusive use. The simultaneous manipulation of money and food was seen in 3 (25%) establishments. The use of disposable caps was only observed in 03 (25%) establishments in the other handlers wore hats. The use of aprons, closed shoes and clean also were found in only 03 (25%) units and manipulators carrying alliances and / or watches in 100%. Inadequate washing of hands and conversations during the handling and marketing of food was observed in all establishments. In light of the unsatisfactory results found, it can be said that the sun-dried meat in Cruz das Almas is not being marketed safely, with regard to the risks of microbiological contamination. In this case, there is need for intervention by relevant health authorities, in order to enforce the legislation, as well as educational efforts to promote greater awareness of the local population and

training of food handlers involved in handling and marketing of meat-de- sun, to adopt good health practices.

Keywords: Good Manufacturing Practices, quality sanitary handler.

1.0 INTRODUÇÃO

Os estabelecimentos de venda de alimentos como os açougues e os supermercados, devem manter rigorosa higiene, adotando padrões necessários que assegurem a garantia dos alimentos, atendendo aos padrões sanitários vigentes. Dessa forma, é competência do serviço de vigilância sanitária (Visa) de alimentos nos municípios, supervisionar o funcionamento desses estabelecimentos, no sentido de salvaguardar a saúde pública (SOTO et al., 2007).

Todas as pessoas que trabalham com produtos alimentícios são considerados “manipuladores”, ou seja, quem produz, vende, transporta, recebe, prepara e serve o alimento. Esse profissional, como todo ser humano, é portador de micro-organismos na parte externa do seu corpo (mãos, pele e cabelos), na parte interna (boca, garganta e nariz) e secreções (fezes, urina, saliva e suor) (VASCONCELOS et al., 2008). Dessa forma, a sua capacitação em todas as etapas é de suma importância a fim de garantir um alimento seguro à população.

Anualmente, milhares de registros são emitidos pelos órgãos oficiais de saúde pública sobre casos de intoxicações alimentares e mortalidade de indivíduos, devido a falhas de procedimentos em estabelecimentos do comércio varejista de alimentos (MENNUCCI, 2010). Os alimentos, tanto de origem animal quanto vegetal, podem ser contaminados por micro-organismos patogênicos ou deterioradores, em qualquer uma das etapas de produção, manipulação, transporte, armazenamento e distribuição (SILVA, 1999). Neste sentido, a carne-de-sol por ser um produto cuja elaboração é norteadada por uma tecnologia rudimentar e variável de acordo com o estado ou mesmo a localidade e obedecendo a um preparo quase que doméstico, pode sofrer contaminação em diversas etapas do processo, principalmente por não haver um controle rigoroso sobre a matéria prima utilizada, além da falta de fiscalização rigorosa dos órgãos oficiais competentes.

Assim, a segurança alimentar se torna um desafio atual por visar à oferta de alimentos livres de agentes que possam pôr em risco a saúde do consumidor (SOTO et al., 2009). Além do que, em razão da complexidade dos fatores envolvidos em toda a cadeia produtiva do alimento, a questão deve ser analisada

em todas as etapas de produção, ou seja, desde o abate ou colheita, passando pelo transporte, armazenamento e processamento, até a distribuição final ao consumidor (ZANDONADI et al., 2007).

É conhecido que grande parte dos manipuladores e consumidores desconhece os requisitos necessários para a correta manipulação dos alimentos, incluindo o armazenamento (local, temperatura, tempo de armazenamento) bem como os perigos que podem estar associados à presença de micro-organismos patogênicos. Por outro lado, tanto a sociedade quanto os órgãos fiscalizadores pedem e exigem qualidade, embora, poucos saibam como atingi-la (OLIVEIRA, 2008).

A contaminação dos alimentos por micro-organismos não pode ser evitada por completo, mas pode ser reduzida com a aplicação de boas práticas ao longo de toda a cadeia produtiva. Embora, durante o processo de manipulação, os alimentos possam sofrer contaminação em virtude das condições precárias de higiene dos manipuladores, equipamentos, utensílios, ambiente, má conservação da matéria-prima e ingredientes, ou armazenamento incorreto dos produtos acabados, e com isso as Boas Práticas de Fabricação (BPF) constitui uma ferramenta indispensável neste processo, a fim de melhorar a qualidade dos alimentos (ZANDONADI et al., 2007; SOTO et al., 2009).

Baseado nisso, este trabalho teve como objetivo realizar um diagnóstico higiênico-sanitário nas unidades de comercialização de carne-de-sol no município de Cruz das Almas, Bahia, a fim de avaliar a forma e procedimento de comercialização da carne, bem como o cumprimento da legislação vigente.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Amostragem

Considerando que os órgãos oficiais do Município de Cruz das Almas não dispõem de informações sobre a quantidade de estabelecimentos que comercializam carne-de-sol na cidade, este universo foi identificado por meio de pesquisa de campo realizada ao longo do ano de 2009.

O cálculo do tamanho da amostra foi de forma aleatória simples, de maneira que fosse observado um maior número de estabelecimentos possível. Dessa forma, para compor a amostra foram analisados 12 estabelecimentos, no período de dezembro de 2009 a janeiro de 2010.

2.2. Modelo de Estudo

A avaliação dos estabelecimentos foi realizada por meio de um estudo descritivo observacional, no qual houve um contato direto com as unidades de comercialização (supermercados, minimercados, açougues e mercado municipal) além de conversas informais com os comerciantes (açougues e mercado municipal) e com os gerentes e manipuladores (minimercados e supermercados). A análise do local foi realizada duas vezes no período estudado.

2.3. Instrumento de Coleta dos Dados

Para a avaliação das condições higiênico-sanitárias dos estabelecimentos foi utilizada uma lista de verificação (*check list*) contendo questões sobre edificações e instalações, manipuladores, equipamentos e utensílios, origem da matéria-prima, dentre outros dados relevantes, adaptado segundo Menucci (2009) (Quadros 1 e 2). O instrumento usado para avaliar as condições de comercialização da carne-de-sol foi a Resolução Nº 216 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 2004) e a Portaria Nº 326 da Secretaria de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde (BRASIL, 1997).

Quadro 1. Dados da entrevista realizada com os gerentes, comerciantes e manipuladores dos diferentes estabelecimentos de comercialização de carne-de-sol em Cruz das Almas, Bahia.

Identificação	
Estabelecimento:	
Local:	Data:
Nome do Responsável:	
Entrevista:	
Origem da matéria prima:	
Como é realizado o transporte:	
Como é o armazenamento da carne-de-sol antes de ser exposta:	
Teor de sal:	
Higienização	
Os funcionários são capacitados para a manipulação adequada e higiênica da carne-de-sol?	
Conhecimento acerca da legislação federal e municipal sobre as condições para a comercialização de carnes:	
Inspeção por meio de técnicos da Vigilância Sanitária:	

Quadro 2. Ficha de observação das unidades de comercialização de carne-de-sol no município de Cruz das Almas, Bahia.

Observação das Unidades de Comercialização			
1- FORMA DE EXPOSIÇÃO DA CARNE-DE-SOL NA COMERCIALIZAÇÃO			
a) Pendurada			
	Sim	<input type="checkbox"/>	Não <input type="checkbox"/>
b) Sobre balcão			
	Sim	<input type="checkbox"/>	Não <input type="checkbox"/>
c) Sob refrigeração			
	Sim	<input type="checkbox"/>	Não <input type="checkbox"/>
d) Próxima à porta do estabelecimento			
	Sim	<input type="checkbox"/>	Não <input type="checkbox"/>
e) Próxima a outros produtos			
	Sim	<input type="checkbox"/>	Não <input type="checkbox"/>
2- CARACTERÍSTICAS DO MANIPULADOR			

a) Usa uniforme/avental/ roupas exclusivas			
Sim	<input type="checkbox"/>	Não	<input type="checkbox"/>
b) Uniformes limpos			
Sim	<input type="checkbox"/>	Não	<input type="checkbox"/>
c) Proteção para os cabelos com touca descartável ou bebigão			
Sim	<input type="checkbox"/>	Não	<input type="checkbox"/>
d) Presença de ferimentos ou machucados nas mãos			
Sim	<input type="checkbox"/>	Não	<input type="checkbox"/>
e) Ferimentos ou machucados estão protegidos			
Sim	<input type="checkbox"/>	Não	<input type="checkbox"/>
f) Unhas cortadas			
Sim	<input type="checkbox"/>	Não	<input type="checkbox"/>
g) Unhas limpas			
Sim	<input type="checkbox"/>	Não	<input type="checkbox"/>
h) Usa adornos nas mãos			
Sim	<input type="checkbox"/>	Não	<input type="checkbox"/>
i) Higienização das mãos antes da manipulação da carne-de-sol			
Sim	<input type="checkbox"/>	Não	<input type="checkbox"/>
j) Manipula dinheiro			
Sim	<input type="checkbox"/>	Não	<input type="checkbox"/>
k) Atitudes inadequadas (Fuma, fala, canta, assobia, tosse)			
Sim	<input type="checkbox"/>	Não	<input type="checkbox"/>
3- UTENSÍLIOS E SUPERFÍCIES			
a) Facas de uso exclusivo para corte das carnes-de-sol			
Sim	<input type="checkbox"/>	Não	<input type="checkbox"/>
b) Superfícies de corte de uso exclusivo para as carnes-de-sol			
Sim	<input type="checkbox"/>	Não	<input type="checkbox"/>
c) Limpos			
Sim	<input type="checkbox"/>	Não	<input type="checkbox"/>
d) Material não contaminante			
Sim	<input type="checkbox"/>	Não	<input type="checkbox"/>
4- VETORES E PRAGAS URBANAS			
a) Presença de vetores e pragas no estabelecimento			
Sim	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
5- CONDIÇÕES DO ENTORNO AO ESTABELECIMENTO			
a) Fumaça de escapamentos, poeiras e outras partículas			
Sim	<input type="checkbox"/>	Não	<input type="checkbox"/>

3. RESULTADOS

3.1. Aspectos gerais

Foram identificados 12 estabelecimentos que comercializavam carne-de-sol em Cruz das Almas, Bahia. Os demais não fizeram parte da amostragem, pois comercializavam apenas carnes frescas ou salgadas industrializadas. A Tabela 1 apresenta os estabelecimentos analisados, bem como a forma na qual a carne-de-sol é comercializada.

Tabela 1 Amostras de carne-de-sol, de acordo com o estabelecimento e a forma de comercialização no município de Cruz das Almas-BA.

Amostras	Estabelecimento	Comercialização
A	Supermercado	Refrigerada
B	Supermercado	Refrigerada
C	Supermercado	Refrigerada
D	Supermercado	Refrigerada
E	Minimercado	Refrigerada
F	Minimercado	Refrigerada
G	Minimercado	Balcão
H	Açougue	Pendurada
I	Açougue	Pendurada
J	Açougue	Balcão
L	Boxe	Balcão
M	Boxe	Balcão

Esse alimento é comercializado em estabelecimentos que passam por inspeção e fiscalização do Serviço de Vigilância Sanitária Municipal. Nos açougues, minimercados e mercado municipal, a matéria prima é comprada na região, proveniente de animais abatidos em frigoríficos de cidades vizinhas, como Santo Antônio de Jesus e Feira de Santana, sendo então preparada (curada) pelo comerciante. Nos supermercados, a carne-de-sol, embalada à vácuo, é proveniente de empresas de grande porte, localizadas nas cidades de Itapetinga-BA e Vitória da Conquista - BA. Nos minimercados, a carne-de-sol é preparada no próprio estabelecimento. Já nos boxes e açougues, os comerciantes responderam

que existe uma área específica no frigorífico para o processamento desse produto.

3.2. Edificação

No quesito referente à edificação e localização dos estabelecimentos observou-se que 100% dos açougues eram expostos à poeira em suspensão e a fumaça provocada pelo escapamento dos carros. Nos mini-mercados e açougues a estrutura física se apresentava desgastada e precária. Em 100% dos açougues e 33,3% dos minimercados foi possível perceber paredes, pisos e bancadas desgastadas, enquanto 16,6% dos estabelecimentos (açougue F e mini-mercado G) dividiam o espaço com atividades não alimentícias.

O Mercado Municipal recentemente foi transferido para um novo prédio, com novas instalações, assim todos os boxes dispunham de lavatórios para a higienização das mãos. Os banheiros masculinos e femininos se apresentavam em bom estado de conservação, embora, durante as visitas não tenha sido observado agentes sanitizantes para a higienização das mãos, bem como o uso de toalhas descartáveis.

Todos os estabelecimentos estudados possuíam abastecimento de água potável, ligado à rede pública, cuja potabilidade era atestada por laudo oficial.

3.3. Utensílios e superfícies de manipulação

Na Tabela 2 observa-se que em 50% dos supermercados, as facas utilizadas e as superfícies de corte eram de uso exclusivo para a carne-de-sol.

Nos demais estabelecimentos, esses utensílios também eram utilizados no corte de outros produtos não cárneos, além de carne fresca, defumados e outros produtos prontos para o consumo como queijos e salames.

Tabela 2. Situação dos utensílios e superfícies de manipulação nos estabelecimentos de comercialização da carne-de-sol.

Estabelecimentos	Facas de uso exclusivo		Utensílios e superfícies limpos		Utensílios e superfícies de material não contaminante		Técnicas adequadas de higienização	
	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%
Supermercados	2/4	50	2/4	50	3/4	75	1/4	25
Minimercados	0/3	0	0/3	0	2/3	66,6	0/3	0
Açougues	0/3	0	0/3	0	2/3	66,6	0/3	0
Boxes	0/2	0	0/2	0	1/2	50	0/2	0
Total analisado	12	100	12	10	12	100	12	100
Total adequado	02	16,6	02	16,6	08	66,6	01	8,3
Total inadequado	10	83,3	10	83,3	04	33,3	11	91,6

nº - número de estabelecimentos

Quando observada a higiene da superfície e utensílios, apenas dois supermercados apresentavam boas condições. Em 83,3% dos estabelecimentos foi verificado que os mesmos não se encontravam limpos, apresentando resíduos de carne (Figura 1) sangue e gordura, ao passo que em 25%, as bancadas apresentavam fendas e rachaduras fator que dificulta o processo de higienização.



Figura 1. Fragmento de carne na parede de um dos estabelecimentos de comercialização de carne-de-sol em Cruz das Almas, Bahia.

Com relação ao processo de higienização dos utensílios e equipamentos, em 100% dos minimercados, açougues e boxes estes são lavados com

detergente neutro e posteriormente sanitizados com água clorada, embora não tenham respondido com precisão qual a concentração dos sanitizantes utilizados e o tempo de contato dos utensílios e equipamentos com os mesmos. Nos supermercados, apenas 25% utilizam estufa de esterilização para os utensílios, permanecendo lá até o momento do uso. Nos demais supermercados o material é lavado com detergente e posteriormente sanitizado com cloro. A maioria dos estabelecimentos não dispunha de água quente, indispensável na higienização para eliminação de gorduras.

3.4. Pessoal na área de manipulação e venda

Os manipuladores, em 100% dos boxes e 33% dos açougues, realizavam diversas tarefas, tais como atender, manipular a carne-de-sol e receber o pagamento (Figura 2).



Figura 2. Manipulação simultânea de dinheiro e carne-de-sol em um boxe no Mercado Municipal de Cruz das Almas, Bahia.

No item uniforme, foi observado que os manipuladores de 75% dos supermercados portavam uniformes, tais como calças e camisas em cores claras, botas de borracha brancas e aventais plásticos brancos, compatíveis com a atividade que exerciam (Tabela 3). Em 100% dos minimercados e açougues, os funcionários usavam camisa da empresa, sem a utilização de aventais e em 100% dos boxes, os comerciantes utilizavam jaleco.

O uso de proteção nos cabelos foi observado em 25% dos estabelecimentos, sendo que apenas os manipuladores dos supermercados

utilizavam toucas, embora parte do cabelo ainda ficasse exposto. Nos demais estabelecimentos, os manipuladores utilizavam bonés da empresa. O uso de bonés permite exposição do cabelo com a possibilidade de cair fios sobre os alimentos.

Tabela 3. Situação do pessoal na área de manipulação nos estabelecimentos de comercialização da carne-de-sol, em Cruz das Almas, Bahia.

Estabelecimentos	Uso de uniforme (avental, roupas exclusivas)		Uniforme limpo		Proteção do cabelo com touca descartável ou bebico		Manipulação de dinheiro		Atitudes inadequadas (falar, cantar assobiar)	
	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%
Supermercados	3/4	75	4/4	100	3/4	75	0/4	0	4/4	100
Minimercados	0/3	0	0/3	0	0/3	0	0/3	0	3/3	100
Açougues	0/3	0	0/3	0	0/3	0	1/3	33	3/3	100
Boxes	0/2	0	0/2	0	0/2	0	2/2	100	2/2	100
Total analisado	12	100	12	100	12	100	12	100	12	100
Total adequado	03	25	04	33	03	25	09	75	0	0
Total inadequado	09	75	08	66	09	75	03	25	12	100

nº - número de estabelecimentos.

A utilização de luvas foi verificada em três estabelecimentos (dois supermercados e um boxe). Entretanto, as luvas se encontravam em péssimas condições de conservação, apresentando manchas e furos. Nesse caso, eram utilizadas em várias atividades como, por exemplo, manusear a balança ao pesar a carne ou abrir os balcões de refrigeração e receber o dinheiro, como verificado em um dos boxes do mercado municipal. Nos demais estabelecimentos (minimercados e açougues) não se observaram a utilização de luvas, nem a lavagem das mãos antes de manipular a carne-de-sol. Em 50% dos boxes, o manipulador lavou as mãos antes de manipular a carne, embora de forma inadequada, ao passo que o outro, por portar luvas, não a fez.

Em todos os estabelecimentos estudados era comum o uso de flanelas de uso múltiplo, sendo utilizadas, além de secar as mãos, para outras atividades, como por exemplo, limpar as superfícies e utensílios. Nos boxes foi observada ainda a presença de flanelas sobre as mantas de carne (Figura 3).



Figura 3. Utilização de flanelas próximas às mantas de carne-de-sol nos boxes do Mercado Municipal em Cruz das Almas, Bahia.

De acordo com a Tabela 4, 91,6% dos manipuladores utilizava adornos nas mãos, sendo os mais comuns relógios e alianças. Em um manipulador no supermercado foi observado lesão por corte provocado por acidente de trabalho. A manutenção de unhas curtas prevaleceu em 100% dos estabelecimentos estudados. Embora quanto a estarem limpas foi observado em 10 (83,3%) das casas de carne.

Tabela 4. Condições das mãos dos manipuladores nos diferentes estabelecimentos de comercialização de carne-de-sol em Cruz das Almas, Bahia.

Estabelecimento	Ausência de ferimentos		Unhas curtas		Unhas limpas		Ausência de Adornos	
	n ^o	%	n ^o	%	n ^o	%	n ^o	%
Supermercados	0/4	75	4/4	100	*4/4	100	¼	25
Minimercados	3/3	100	3/3	100	3/3	100	0/3	0
Açougues	3/3	100	3/3	100	2/3	66,6	0/3	0
Boxes	2/2	100	2/2	100	1/2	50	0/2	0
Total analisado	12	100	12	100	12	100	12	100
Total adequado	11	91	12	100	10	83,3	01	8,3
Total inadequado	1	8,3	0	0	02	16	11	91,6

n^o - Número de estabelecimentos

* Não observado em dois estabelecimentos por portar luvas.

A utilização de máscaras foi observada em apenas 01 (8,33%) supermercado. Quando perguntado sobre o tempo de utilização das mesmas, os funcionários não souberam responder com precisão, respondendo que, após a realização de certas atividades, como por exemplo, lavagem da área de manipulação, as máscaras eram descartadas.

Quando perguntado sobre a realização de exames periódicos, 100% dos supermercados e minimercados responderam que sim. Nos demais estabelecimentos não houve demonstração da realização de tais exames, importantes e obrigatórios para todos os manipuladores de alimentos.

3.5. Exposição e venda

Na Tabela 5 é mostrada a forma como a carne-de-sol é comercializada. Nos supermercados, o produto é comercializada refrigerada, com a temperatura sendo auferida a cada seis meses, variando de 6° a 15°C. Em 100% dos açougues a carne-de-sol é vendida pendurada em ganchos, enquanto que nos boxes é comercializada sobre a superfície do balcão, à temperatura ambiente ($\pm 25^{\circ}\text{C}$) durante o dia e, a noite, armazenada sob refrigeração.

Tabela 5. Forma de comercialização da carne-de-sol nos diferentes estabelecimentos em Cruz das Almas, Bahia.

Estabelecimentos	Pendurada		Balcão		Sob refrigeração		Próximo à porta	
	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%
Supermercado	0/4	0	0/4	0	4/4	100	0/4	0
Minimercados	1/4	33,3	0/3	0	2/3	66,6	1/3	33,3
Açougues	3/3	100	0/3	0	0/3	0	3/3	100
Boxes	0/2	0	2/2	100	0/2	0	0/2	0
Total	04	33	02	16,6	06	50	04	33,3

nº - Número de estabelecimentos

Com relação à presença de vetores e pragas, em todos os estabelecimentos estudados foi detectada a presença de mosca doméstica pertencente à Ordem Diptera.

4. DISCUSSÃO

A carne-de-sol comercializada em Cruz das Almas é adquirida de diversas formas. Nos supermercados, o produto é proveniente de empresas de grande porte, as quais possuem um padrão de qualidade e segurança na sua fabricação. Neste caso, os cortes de carne são adquiridos embalados a vácuo. Essa preocupação por parte desses estabelecimentos está atrelada à exigência de sua clientela. Segundo os gerentes, o consumidor tem maior poder aquisitivo e entende de segurança alimentar, questionando sobre a procedência do produto. O consumidor atual é diferente do consumidor do passado, uma vez que o mesmo tem acesso a um grande volume e diversidade de informações sobre o produto que irá comprar. No entanto, em países desenvolvidos os consumidores se preocupam mais com a segurança do alimento do que no Brasil, uma vez que o consumidor brasileiro, especialmente a população de baixa renda, apresenta maior interesse pelo preço dos produtos do que pela sua qualidade e segurança (MELO, 2006). Um dado relevante nesse estudo é que em 100% dos estabelecimentos as informações veiculadas nos produtos não ofereciam segurança ao consumidor quanto ao prazo de validade e data de fabricação. Nos boxes do mercado municipal e açougues não existiam quaisquer informações nas embalagens de carne-de-sol, no momento da sua compra.

Quando questionado sobre a capacitação dos funcionários ou o uso de Boas Práticas de Manipulação (BPM), apenas os supermercados e minimercados adotam essas práticas. Nestes, todos os funcionários responsáveis pelo setor de carne receberam algum tipo de treinamento para a adequada manipulação e higienização do alimento, enquanto nos demais estabelecimentos não há uma preocupação com relação a este aspecto, em virtude da clientela pouco exigente. A Resolução nº 216 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária estabelece que os manipuladores de alimentos devam ser supervisionados e capacitados periodicamente em higiene pessoal, manipulação higiênica dos alimentos e doenças transmitidas pelos alimentos, sendo que esta capacitação deve ser comprovada mediante documentação (BRASIL, 2004).

A comercialização da carne-de-sol em estabelecimentos localizados em ruas com grande movimentação de veículos torna-se um fator agravante, visto que estes estabelecimentos comercializam a carne pendurada em ganchos à

temperatura ambiente ($\pm 25^{\circ}\text{C}$) ou sob o balcão. De acordo com a Portaria nº 368 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 1997) os estabelecimentos industrializadores/elaboradores de alimentos deverão estar situados, preferivelmente, em zonas isentas de odores indesejáveis, fumaça, poeira e outros contaminantes.

Os utensílios e equipamentos utilizados para o processamento dos alimentos podem representar uma fonte potencial de contaminação, pois possuem partes de difícil higienização, com acúmulo de sujeira e conseqüentemente o alojamento de micro-organismos. Superfícies irregulares nos equipamentos também permitem a infiltração microbiana, favorecendo seu desenvolvimento (TORRES, 2008).

A Portaria nº 326, de 30 de Julho de 1997 do Serviço de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde (BRASIL, 1997) aprova o “Regulamento Técnico sobre as Condições Higiênico-Sanitárias e Boas Práticas de Fabricação para Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Alimentos”, definindo as condições técnicas para a utilização de materiais que compõem equipamentos e utensílios. De acordo com esta Portaria, todo o equipamento e utensílio utilizado no local de manipulação de alimentos, que possa entrar em contato com o mesmo, devem ser confeccionados em material que não libere substâncias tóxicas, odores e sabores; não seja absorvente e resistente à corrosão e que seja capaz de resistir operações de limpeza e desinfecção.

A utilização de facas e utensílios entre alimentos diferentes, observada nos estabelecimentos estudados, é uma situação considerada crítica, uma vez que favorece a contaminação cruzada entre os diversos tipos de alimentos, caracterizando uma conduta de risco à saúde do consumidor. A observação de bancadas que apresentavam fendas e rachadura, em alguns estabelecimentos, dificulta o processo de higienização. Bancadas nessas condições favorece o acúmulo de resíduos orgânicos, transformando-o em um ambiente ideal para a proliferação dos micro-organismos.

A utilização de máscaras em alguns estabelecimentos estudados torna-se desnecessária, pois além de não ser utilizada de maneira correta, protegendo apenas a boca, ficando o nariz exposto, estudos tem relatado que, na área de alimentos, as máscaras não apresentam muita necessidade de uso, sendo

apenas recomendadas ao manipular de alimentos prontos para o consumo. Até o presente momento, não existe qualquer trabalho científico que prove a eficácia das máscaras como barreira efetiva para minimizar a contaminação de alimentos ou superfícies durante o preparo dos mesmos (SILVA Jr., 2010).

Neste estudo se observou que as roupas de trabalho não eram somente utilizadas no estabelecimento, fato este que facilita a contaminação por agentes externos (rua) na área de manipulação da carne-de-sol.

Outro ponto importante e observado em todos os estabelecimentos estudados são os riscos ocupacionais. Em nenhum deles se observou a utilização de luvas de aço, utilizadas para evitar cortes nas mãos. O controle de saúde, que deve ser realizado para os funcionários dos estabelecimentos que produzem e/ou manipulam alimentos, é exigido pela Vigilância Sanitária, o qual objetiva a saúde do trabalhador e a sua condição em estar apto para o trabalho, não podendo ser portador de doença infecciosa ou parasitária (BRASIL, 1996). De acordo com a Norma Regulamentadora (NR 07) do Ministério do Trabalho (Brasil, 1996) é estabelecido que o controle de saúde dos manipuladores de alimentos deverá seguir as diretrizes do Programa de Controle Médico de Saúde Ocupacional (PCMSO) que visa à saúde dos trabalhadores e prevê o acompanhamento periódico das condições de saúde do conjunto deles, com realização de exames clínicos semestrais, incluindo necessariamente aqueles indicados para detecção de moléstias infecto-contagiosas e daquelas transmissíveis aos alimentos através do seu manipulador; que são coprocultura, coproparasitológico, hemograma e VDRL, além de outros determinados pelo médico responsável pelo programa. Após os resultados destes exames, emite-se o ASO (Atestado de saúde ocupacional), o qual a cópia deste, deve permanecer à disposição da autoridade sanitária sempre que requisitados.

A manipulação de dinheiro e do alimento, no momento da comercialização, se constitui em um fator de risco de contaminação da carne. Outra irregularidade muito comum, observada neste estudo, foi a utilização de flanelas de múltiplo uso, utilizadas para secar as mãos e outras atividades, tais como limpeza de bancadas e balanças. Em um estudo realizado na Inglaterra em açougues de supermercados, quanto à higienização das mãos dos manipuladores, se verificou que a irregularidade mais comum era o uso de toalhas multiuso para secar as

mãos. Essas toalhas se encontravam muito contaminadas, inclusive com grande número de bactérias indesejáveis e/ou patogênicas, representando uma importante fonte de contaminação durante a secagem das mãos (VALENTE, 2001).

Assim, uma das medidas de controle importante e simples a ser tomada pelo manipulador de alimentos é a higiene das mãos. As mãos podem veicular vários micro-organismos importantes como a *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* e *Pseudomonas aeruginosa* que indica a utilização inadequada de produtos antisépticos. A transgressão às regras fundamentais de lavagem das mãos (após usar o sanitário e outras situações de risco) possibilita a contaminação dos produtos, uma vez que as mãos são importantes veículos de contaminação quando em contato com indivíduos, indivíduo e alimento, indivíduo e equipamento e utensílio e ambiente (TRIGO 1999; VASCONCELLOS, 2010).

Durante a comercialização da carne-de-sol, nos açougues, a carne é bastante manipulada pelos comerciantes, enquanto que nos boxes, a mesma é submetida a uma série de fatores de risco, pois, além do comerciante, o cliente também tem fácil acesso ao alimento. Outro fator de grande relevância na comercialização da carne-de-sol é a temperatura, pois, na maioria dos estabelecimentos estudados, a carne é comercializada à temperatura ambiente ($\pm 25^{\circ}\text{C}$). Esse é um dos fatores mais importantes, que influencia na deterioração ou na segurança microbiológica da carne (CORREIA, 2008).

A presença de vetores, como moscas, encontradas em todos os estabelecimentos é problemática, devido à possibilidade de contaminação do alimento, uma vez que esses vetores podem servir de veículo na disseminação de patógenos. Na lista de organismos patogênicos ao homem, isolados em moscas, são citadas bactérias como *Shigella* sp. e *Vibrio cholerae*, além de vírus entéricos, protozoários e helmintos (THYSSEN et al., 2004). Menucci (2009) ao avaliar as condições higiênico-sanitárias de Casas do Norte na Cidade de Diadema, SP observou esses vetores mecânicos em 50% dos estabelecimentos estudados, além disso, o autor encontrou, na maioria das amostras analisadas microscopicamente, fragmentos de insetos.

Dessa forma, pode-se afirmar que a comercialização da carne-de-sol em Cruz das Almas apresenta falhas, no que diz respeito aos riscos de contaminação

microbiológica. Neste caso, há necessidade de intervenção de autoridades sanitárias competentes, a fim de se fazer cumprir a legislação vigente, bem como ações educativas que promovam uma maior conscientização da população local e capacitação dos manipuladores.

CAPÍTULO 3

Avaliação microbiológica e susceptibilidade a antimicrobianos de cepas de *Salmonella* e *Escherichia coli* isoladas de amostras de carne-de-sol comercializada no município de Cruz das Almas-Bahia

RESUMO

Miranda, P.C. Avaliação microbiológica e susceptibilidade a antimicrobianos de cepas de *Salmonella* e *Escherichia coli* isoladas de amostras de carne-de-sol comercializada no município de Cruz das Almas-Bahia

Este estudo teve como objetivo avaliar a qualidade microbiológica e físico-química, bem como testar a susceptibilidade de cepas de *Salmonella* e *E. coli*, isoladas de amostras de carne-de-sol, comercializada em Cruz das Almas, Bahia, Brasil. Para isso, foram analisadas 36 amostras de carne-de-sol, adquiridas em 12 estabelecimentos (supermercados, minimercados, açougues e mercado municipal) e realizadas contagens de bactérias mesófilas aeróbias, coliformes totais (Ct) e termotolerantes (CT), *Staphylococcus* coagulase positiva, *E. coli* e *Salmonella* spp. De acordo com os resultados em 83% dos estabelecimentos foi observado a presença de micro-organismos aeróbios $> 10^5$ UFC.g⁻¹ e Ct e CT variando de $2,3 \times 10^1$ a $>1,1 \times 10^5$ e <3 a $>1,1 \times 10^5$ NMP.g⁻¹, respectivamente. *Escherichia coli* foi identificada em 75% dos estabelecimentos, com contagem de *Staphylococcus* spp. variando de $4,8 \times 10^4$ a $9,0 \times 10^8$ UFC.g⁻¹, embora não tenha sido confirmada a presença de *Staphylococcus* coagulase positiva. A presença de *Salmonella* foi verificada nas amostras de 25% dos estabelecimentos, sendo encontrados os sorotipos *Salmonella enterica* subesp. *enterica*, *Salmonella enterica* subesp. Indica e *Salmonella enterica* serovar Paratyphi A. A umidade na carne-de-sol variou de 52,37 a 74,69%, enquanto a análise de cloreto variou de 3,16 a 5,98%. O teor de sal encontrado nas amostras é insuficiente para reduzir a atividade de água e umidade do produto e, conseqüentemente, não exerce ação inibidora significativa no crescimento microbiano. Quanto aos testes de susceptibilidade a antimicrobianos, as cepas de *Salmonella* apresentaram 100% de resistência à tetraciclina, ácido nalidíxico, cefalotina e eritromicina e resistência intermediária em 75% dos isolados à ampicilina e gentamicina. As cepas de *E. coli*, apresentaram resistência a eritromicina 16 (100%); ampicilina 11 (68,75); cefalotina 10 (71,4%); tetraciclina 09 (64,25%); ácido nalidíxico 05 (35,7%) e gentamicina 02 (12,5). Perfil de multirresistência foi verificado em 14 (87,5%)

cepas de *E. coli*, sendo que em 4 (28,57%) isolados a resistência foi mediada por plasmídio. Perfil de multirresistência também foi observado em 100% das cepas de *Salmonella*, tendo uma estirpe apresentou resistência plasmidial e as demais, resistência cromossômica. Os níveis de resistência observados ressaltam a necessidade do uso responsável dos agentes antimicrobianos na produção animal, uma vez que esta prática pode gerar riscos à saúde dos consumidores por meio da transferência de genes de resistência. Pode-se afirmar que a carne-de-sol consumida em Cruz das Almas pode estar sendo processada a partir de matéria prima de baixa qualidade ou sofrendo contaminação ao longo da cadeia de produção, evidenciando falhas nas boas práticas de fabricação durante o processamento desse alimento.

Palavras-chave: Coliformes termotolerantes, contaminação, micro-organismos patogênicos.

ABSTRACT

**Miranda, P.C. Microbiological evaluation and antibiotic susceptibility of
Miranda, P.C. Microbiological evaluation and antibiotic susceptibility of
Salmonella strains and *Escherichia coli* isolated from sun-dried beef
marketed in Cruz das Almas, Bahia**

This study aimed to evaluate the microbiological and physical chemistry, as well as to test the susceptibility of strains of *Salmonella* and *E. coli* isolated from sun-dried beef, sold in Cruz das Almas, Bahia, Brazil. In order to do that, we analyzed 36 samples of sun-dried meat, acquired in 12 establishments (supermarkets, mini markets, butcher shops and municipal market) and carried out countings of mesophilic aerobic bacteria, total coliforms (Ct) and *Staphylococcus* coagulase positive, *E. coli* and *Salmonella* spp thermotolerants (TC),. According to the results, 83% of establishments revealed the presence of aerobic micro-organisms $> 10^5$ CFU g⁻¹, and Ct and CT ranging from 2.3×10^1 to $> 1.1 \times 10^5$ and <3 to $> 1.1 \times 10^5$ NMP.g⁻¹, respectively. *Escherichia coli* was identified in 75% of sites, with enumeration of *Staphylococcus* spp. ranging from 4.8×10^4 to 9.0×10^8 CFU g⁻¹, although the presence of coagulase positive was not confirmed. The presence of *Salmonella* was found in samples from 25% of establishments, and the serotypes *Salmonella enterica* subsp. *enterica*, *Salmonella enterica* subsp. *Indica* and *Salmonella enterica* serovar Paratyphi A. were found. The moisture in sun-dried meat ranged from 52.37 to 74.69%, while the analysis of chloride content ranged from 3.16 to 5.98%. The salt content found in the samples is insufficient to reduce the water activity and moisture of the product and therefore does not exert significant inhibitory action on microbial growth. Regarding antimicrobial susceptibility tests, the *Salmonella* strains showed 100% resistance to tetracycline, nalidixic acid, penicillin and erythromycin and intermediate resistance in 75% of the isolates to ampicillin and gentamicin. From the strains of *E. coli*, 16 were resistant to erythromycin (100%), ampicillin 11 (68.75), cephalothin 10 (71.4%), tetracycline 09 (64.25%), nalidixic acid 05 (35.7%) and gentamicin 02 (12.5). Multiresistance profile was observed in 14 (87.5%) strains of *E. coli*, and in 4 (28.57%) isolates resistance was plasmid mediated. Multiresistance profile was

also observed in 100% of Salmonella strains, with one strain presenting resistance plasmid and the others chromosomal resistance. The levels of resistance observed emphasize the need of a responsible use of antimicrobials in animal production, since this practice may represent a risk to consumer's health through the transfer of resistance genes. It can be argued that sun-dried meat consumed in Cruz das Almas may still be rendered from low quality raw material or suffer contamination throughout the production chain, highlighting weaknesses in good manufacturing practices during processing of food .

Keywords: Thermotolerant coliform, contamination, pathogen micro-organisms.

1. INTRODUÇÃO

A carne-de-sol é um produto artesanal, resultante de técnicas superficiais de salga e desidratação, normalmente empregada pela população do norte e nordeste do Brasil. As ausências de tecnologia sofisticada na sua elaboração e padrões oficiais de identidade e qualidade possibilitam a produção, comercialização e distribuição desse alimento sob condições higiênico-sanitárias precárias, permitindo a presença de micro-organismos patogênicos. Por outro lado, o não atendimento aos padrões mínimos de qualidade torna esse alimento um veículo na disseminação de patógenos, podendo colocar em risco a saúde dos consumidores (MENUCCI, 2009). A determinação da incidência de micro-organismos deteriorantes e patogênicos presentes na carne-de-sol, além de servir de base para padrões microbiológicos, também serve de subsídio para que haja melhoria nos processos tecnológicos de processamento.

Os alimentos em geral devem estar em condições higiênico-sanitárias adequadas ao consumo. Para isso, são usados os coliformes totais e termotolerantes e a bactéria *E. coli*, a qual é o indicador de contaminação fecal mais conhecido. A importância das bactérias em relação à carne reside principalmente no fato de que elas estão intimamente ligadas ao processo de deterioração, infecção e intoxicação alimentar (SILVA, 2006).

As carnes e seus derivados se encontram entre os alimentos que mais preocupa a humanidade, em razão dos riscos que oferecem. Nos Estados Unidos, 25% dos surtos provocados por *E. coli* enteropatogênica, no período de 1993 a 1997, tiveram a carne bovina como o alimento mais envolvido, sendo o gênero *Salmonella* o mais perigoso encontrado na carne (SANTOS, 2007). Assim, a melhor forma de eliminar micro-organismos patogênicos nesse alimento é impedindo seu acesso ao produto, utilizando desde o campo até a venda final, boas práticas agrícolas e de fabricação.

Por outro lado, os manipuladores também atuam como uma fonte de contaminação aos alimentos. Embora possam não apresentar sintomas de doença, eles podem eliminar patógenos nas fezes, pele, saliva, entre outros, comprometendo a qualidade e segurança do alimento devido a maus hábitos de higiene pessoal. Neste contexto, a carne-de-sol, pode ser manipulada por

portadores assintomáticos de *Salmonella* Typhi ou *Salmonella* Enteritidis, responsáveis pela febre tifóide e entérica, respectivamente (SILVA JR., 2002).

Por outro lado, em função da relevância dos estudos relacionados com o desenvolvimento da resistência bacteriana, a maior parte das investigações sobre transferência de resistência de bactérias de animais para o homem, está relacionada com as bactérias gram-negativas causadoras de infecções alimentares, como os gêneros *Salmonella* e *Escherichia*. Estes micro-organismos estão entre os quatro grupos de bactérias que têm sido alvos prioritários em programas de monitoramento relacionados a esta questão (VEIERA et al., 2010). Nos humanos, linhagens patogênicas de *E. coli* tem sido identificados como causa primária de infecções no trato urinário, meningite neonatal, septicemia nosocomial e enterites. Por outro lado, a resistência a pelo menos uma classe de antibióticos tem sido relatado, tanto na medicina humana quanto na veterinária, restringindo as opções terapêuticas disponíveis (SCHMIDT et al., 2003).

Apesar do processo de salga e secagem das carnes salgadas reduzirem a microbiota da carne fresca, estudos têm relatado a presença de micro-organismos desejáveis e indesejáveis nestes produtos. Dessa forma, considerando os riscos que este alimento pode oferecer à saúde da população, em virtude das precárias condições higiênico-sanitárias em que a mesma é produzida e comercializada, é que se buscou analisar a qualidade microbiológica da carne-de-sol, bem como verificar a susceptibilidade a antimicrobianos de estirpes de *E. coli* e *Salmonella* isolados deste alimento.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Área de estudo

Os estabelecimentos estudados compreenderam supermercados, minimercados, açougues e mercado municipal, localizados nas principais vias públicas do município de Cruz das Almas, Bahia.

2.2 Realização das coletas

A coleta das unidades amostrais da carne-de-sol foi realizada no período de janeiro a março de 2010. Todas as amostras, ao serem adquiridas, eram levadas imediatamente ao laboratório de Microbiologia de Alimentos e Ambiental, no Núcleo de Estudos em Pesca e Aquicultura na Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, para serem processadas.

2.3. Amostragem

A carne-de-sol é comercializada apenas sob a forma a granel, desta forma, foi dispensada a amostragem estatística, sendo procedida a colheita de amostra indicativa, aplicando-se um plano amostral de duas classes, que considera a unidade amostral analisada como aceitável ou inaceitável para determinado micro-organismo, quando comparada ao limite de tolerância M para a amostra indicativa (BRASIL, 2001). Assim, a unidade amostral foi retirada em diferentes pontos do alimento, solicitando-se ao vendedor três unidades amostrais da carne-de-sol, pesando cada uma entre 100 e 150g, totalizando 36 amostras. Tomando por base a classificação em categorias, definida pela *International Commission on Microbiological Specifications for Foods* (ICMFS), e considerando a característica do alimento a ser avaliado, foram pesquisados bactérias mesófilas aeróbias, coliformes totais (Ct), coliformes termotolerantes (CT), *Escherichia coli* e os patógenos *Staphylococcus* coagulase positiva e *Salmonella* (ICMSF, 2006).

2.4 Análise físico-química

2.4.1 Umidade e cloreto

Para a determinação da umidade foi empregada a técnica gravimétrica, com secagem da amostra em estufa (100°C ± 5), baseado na remoção de água por

aquecimento (A.O.A.C., 1997). O teor de cloreto de sódio foi determinado pelo método titulométrico por meio da precipitação de íons Cl^- com formação de sais de prata insolúveis (A.O.A.C., 1997).

2.5 Análises microbiológicas

A preparação das amostras envolveu as etapas de retirada da unidade analítica e preparação de diluições decimais seriadas, para inoculação nos meios de cultura. A retirada das unidades analíticas foi realizada sob condições assépticas, onde os utensílios empregados no corte das unidades da amostra foram previamente esterilizados em autoclave (121^o/15 min.), assim como toda a vidraria utilizada.

A unidade analítica analisada de cada estabelecimento consistiu na elaboração de um “pool” das três amostras. Para a pesquisa de mesófilos, coliformes e *Staphylococcus* coagulase positiva, foi utilizado um total de 25 g da amostra, transferida para um erlenmeyer contendo 225 mL de solução salina 0,85%, homogeneizado em liquidificador previamente sanitizado, e correspondendo a diluição inicial 1:10 (10^{-1}). A partir desta, foram realizadas as demais diluições até 1:100000 (10^{-5}). Em seguida foram pesados outros 25 g da amostra para o teste de presença/ausência de *Salmonella* (Figura 1).



Figura 1. Etapas do processamento das amostras de carne-de-sol para as análises microbiológicas. 1A –“Pool” de amostras; 1B-Pesagem de 25g da amostra; 1C- liquidificação com 225 ml de solução salina 0,85%; 1D- Unidade analítica contendo APA para enriquecimento de *Salmonella*.

2.5.1. Contagem de bactérias mesófilas aeróbias

Depois de realizadas as diluições, alíquotas de 1,0 mL de cada diluição foram semeadas em duplicata em placas de Petri utilizando a técnica *pour plate* e

em seguida, adicionado 15 mL do meio *Plate Count Agar* (PCA). Logo após, as placas foram homogeneizadas e incubadas por 48 horas a 35°C. Decorrido o período de incubação, as placas que apresentavam entre 25 e 250 colônias foram contadas, com o auxílio de um contador de colônias, sendo calculado o resultado em unidades formadoras de colônias por grama de amostra (UFC/g) (APHA, 2002).

2.5.2. Determinação do grupo dos coliformes (Número Mais Provável)

A determinação do Número Mais Provável (NMP) do grupo dos coliformes foi realizada usando a técnica de fermentação dos tubos múltiplos. Na prova presuntiva, alíquotas de 1 mL de cada diluição foi inoculada em tubos de ensaio contendo Caldo Lauril Sulfato Triptose (CLS) e tubos de Durhan invertido e incubados por 48 h a 35°C. A positividade da prova era confirmada através da formação de gás nos tubos de Durhan e turvação do meio. Os resultados positivos de cada série foram anotados e consultados na tabela de Hoskins adaptada pelo *Bacteriological Analytical Manual* - BAM (1984). Decorrido esse período, os tubos de EC positivos eram semeados em placas de Petri contendo o meio de cultura Agar Eosina Azul de Metileno (EMB) e incubadas a 35°C por 24 horas. As colônias características de *E. coli*, isto é, com diâmetro de 2 a 5 mm, centro negro, com ou sem brilho metálico esverdeado (Figura 2) foram isoladas em tubos de ensaio contendo Agar Triptose Soja (TSA) inclinado.

De cada placa de EMB correspondente a cada tubo de CT positivo foram isoladas duas a três colônias características de *E. coli*. As cepas suspeitas de *E. coli* foram confirmadas, usando os testes bioquímicos do IMViC (Indol, Vermelho de Metila, Voges-Proskauer e Citrato) (APHA, 2002).



Figura 2. Colônias típicas de *E. coli*, em meio EMB com diâmetro de 2 a 5 mm, centro negro, com ou sem brilho metálico esverdeado.

2.5.3. Contagem de *Staphylococcus coagulase positiva*

A contagem de *Staphylococcus coagulase positiva* foi realizada por meio da semeadura em superfície do meio seletivo ágar Baird-Parker, suplementado com emulsão de gema de ovo a 20% em solução fisiológica e solução de telurito de potássio a 1% e incubadas a 35°C por 48 h, como descrito pelo (APHA, 2002). Para a contagem presuntiva de colônias típicas do gênero *Staphylococcus*, foram selecionadas as placas contendo de 20 a 250 colônias e, com o auxílio de um contador de colônias, contadas as colônias típicas e atípicas, ou seja, colônias negras, circulares, brilhantes, pequenas, lisas, convexas, com bordas perfeitas e rodeadas por uma zona opaca e ou/ halo transparente.

Em seguida eram retiradas cinco colônias suspeitas de *Staphylococcus* e submetidas ao teste de coagulase. Para isso, as cepas foram inoculadas em tubos de ensaio contendo 2 mL de Caldo Infusão Cérebro Coração (BHI) e incubados a 35°C por 24 h. Posteriormente, eram transferidos 0,2 mL da cultura do tubo de ensaio e adicionado 0,5 mL de Plasma de Coelho da marca Coaguloplasma. Os tubos eram então homogeneizados com rotação leve e incubados a 35°C durante um intervalo de seis horas até 24 h para a verificação da formação ou não de coágulo.

2.5.4. Pesquisa de *Salmonella*

Para a pesquisa de *Salmonella*, 25 g das amostras foram submetidas a um pré-enriquecimento em meio APA (Água Peptonada Alcalina) e incubados a 35°C por 24 h. Decorrido esse período, eram retiradas alíquotas de 1 mL e 0,1 mL e inoculadas em 10 mL de caldo Tetracionato (TT) e 10 mL de caldo Rappaport

(RV), respectivamente. Os tubos eram então incubados por 24 h, à temperatura de 43°C e 42°C, em banho-maria. Dos tubos que apresentavam crescimento bacteriano, eram retiradas alíquotas com o auxílio de uma alça de níquel-cromo e estriadas em placas de Petri contendo os meios seletivos Agar MacConkey e Agar *Salmonella-Shigella* (SS). As placas eram então incubadas por 24 h a 35°C. As colônias com crescimento característico de *Salmonella* nos meios seletivos (Figura 3) eram então inoculadas em agar Ferro Açúcar Triplo (TSI) e agar Lisina Ferro (LIA) e incubados por 24 h a 35°C. A partir do crescimento positivo nos tubos (ácido na base e alcalino no ápice para o meio ágar TSI e alcalino com ou sem produção de H₂S para o meio ágar LIA), uma nova alíquota era retirada e semeada em ágar triptona soja (TSA), para a posterior realização dos testes bioquímicos adicionais e sorologia.



Figura 3. Colônias típicas de *Salmonella* no meio seletivo *Salmonella-Shigella* (SS). Colônias transparentes com centro negro pela produção de H₂S.

As cepas de *Salmonella* foram identificadas por meio de chave de identificação bioquímica (urease, indol, fermentação de dulcitol, sacarose e lactose, vermelho de metila (VM), Voges Proskauer (VP) e utilização do citrato), além de testes de sorologia (SILVA et al., 2010).

2.6 Teste de susceptibilidade a antimicrobianos

A susceptibilidade aos antimicrobianos foi avaliada pelo método de difusão em placa, seguindo a metodologia proposta pelo Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2005). Os antimicrobianos testados foram: ácido nalidíxico (30 µg), ampicilina (10 µg), gentamicina (100 µg), imipenem (10 µg), tetraciclina (30 µg), amicacina (30 µg), eritromicina (15 µg) e cefalotina (30 µg).

2.7 Teste de cura

As cepas submetidas ao teste de antibiograma que apresentaram perfil de resistência aos antibióticos foram submetidas ao teste de cura plasmidial, realizada de acordo com Molina-aja et al., (2002).

2.8 Análises estatísticas

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, utilizando o Programa SISVAR 5.1 e para a comparação das médias dos tipos de estabelecimentos comerciais (supermercados, minimercados, açougues e boxes) quanto à contagem de micro-organismos, foi utilizado o Teste de Tukey (5% de Probabilidade) (FERREIRA, 2008).

3. RESULTADOS

3.1. Análises físico-químicas

A Tabela 1 indica os resultados das análises do teor de cloreto de sódio (NaCl) e umidade na carne-de-sol. A umidade em todas as amostras foi relativamente alta, com média de 68,71%, variando de 52,37 a 74,69%, enquanto a concentração média de NaCl foi de 3,98%, variando de 3,16 a 5,89%.

Tabela 1. Resultados das análises físico-químicas realizadas na carne-de-sol comercializada em diferentes estabelecimentos comerciais em Cruz das Almas-BA.

Amostra*	Umidade (%)	NaCl (%)
A	74,09	4,05
B	67,54	4,06
C	70,34	3,47
D	71,39	3,99
E	69,31	3,98
F	74,69	3,16
G	72,49	3,97
H	70,25	3,90
I	69,62	4,16
J	71,01	3,22
K	68,71	3,98
L	61,47	4,02
M	56,37	5,89

* Médias de três repetições, expressas em porcentagem (%)

3.2. Análises microbiológicas

Na Tabela 2 são apresentados os resultados da análise microbiológica das amostras de carne-de-sol.

Tabela 2. Análises microbiológicas da carne-de-sol adquiridas em diferentes estabelecimentos comerciais no comercio varejista de Cruz das Almas, Bahia, no período de 2010.

Estabelecimento	Amostra	Mesófilos (UFC.g ⁻¹)	<i>Staphylococcus</i> spp (UFC/g ⁻¹)	Coliformes Totais (NMP.g ⁻¹)	Coliformes a 45°C (NMP.g ⁻¹)	<i>Escherichia coli</i> (Positivo/negativo)	<i>Salmonella</i> spp (Ausência/presença) (25g)
Supermercado	A	6,6x10 ⁴	4,8x10 ⁴	9,3x10 ¹	<3,0	Negativo	Ausência
Supermercado	B	8,2x10 ⁶	5,5x10 ⁶	9,3x10 ²	2,3x10 ¹	Positivo	Ausência
Supermercado	C	7,2x10 ⁴	4,4x10 ⁶	2,3x10 ¹	2,3x10 ¹	Positivo	Ausência
Supermercado	D	2,3x10 ⁶	6,8x10 ⁵	2,8x10 ¹	7,2x10 ¹	Positivo	Ausência
Minimercado	E	5,5x10 ⁷	2,2x10 ⁵	>1,1x10 ⁵	2,3x10 ^{3*}	NI	Ausência
Minimercado	F	9,9x10 ⁶	8,3x10 ⁵	1,1x10 ⁴	<3,0	Negativo	Ausência
Minimercado	G	1,0x10 ⁸	9,0x10 ⁸	>1,1x10 ⁵	2,1x10 ^{3*}	Positivo	Presença
Açougue	H	6,2x10 ⁷	2,8x10 ⁸	>1,1x10 ⁵	2,4x10 ^{3*}	Positivo	Ausência
Açougue	I	1,3x10 ⁸	1,4x10 ⁸	>1,1x10 ⁵	>1,1x10 ^{5*}	Positivo	Presença
Açougue	J	2,1x10 ⁸	2,0x10 ⁸	1,1x10 ⁵	>1,1x10 ^{5*}	Positivo	Ausência
Boxe	L	1,6x10 ⁸	1,4x10 ⁸	>1,1x10 ⁵	9,3x10 ^{3*}	Positivo	Ausência
Boxe	M	1,1x10 ⁸	9,2x10 ⁷	>1,1x10 ⁵	>1,1x10 ^{5*}	Positivo	Presença
T					Acima do Limite de Tolerância: 07	Positivas: 09	Presença: 03
%					58,33	75	25

T = Totais absolutos; % = Totais relativos

* = valores acima do limite de tolerância estabelecido pela Resolução RDC 12/2001.

NI- Não Inoculado.

Os valores encontrados para micro-organismos mesófilos variaram de $6,6 \times 10^4$ a $2,1 \times 10^8$ UFC.g⁻¹ (Tabela 2). Amostras de 83,3% dos estabelecimentos estudados apresentaram contagens de bactérias mesófilas aeróbias acima de 10^5 UFC.g⁻¹. Quando verificado a presença de micro-organismos mesófilos por estabelecimento, observou-se que houve diferença estatística significativa ($p < 0,05$) entre eles (Tabela 3).

Tabela 3. Média da contagem de micro-organismos na carne-de-sol obtida em diferentes estabelecimentos de Cruz das Almas-Ba.

Estabelecimentos	Mesófilos (UFC.g ⁻¹)	<i>Staphylococcus ssp</i> (UFC.g ⁻¹)	Coliformes Totais (NMP.g ⁻¹)	Coliformes a 45°C (NMP.g ⁻¹)
Supermercados	2,7x10 ⁶ a	2,7x10 ⁶ a	2,7x10 ² a	3,0x10 ¹ a
Mini-mercados	5,5x10 ⁷ ab	3,0x10 ⁸ a	4,1x10 ⁴ ab	3,7x10 ⁴ a
Açougues	1,3x10 ⁸ b	2,1x10 ⁸ a	1,1x10 ⁵ b	4,1x10 ⁴ a
Boxes	1,4x10 ⁸ b	1,2x10 ⁸ a	5,6x10 ⁴ ab	5,5x10 ⁴ a

Obs: Médias na mesma coluna seguidas de letras diferentes apresentam diferença significativamente estatística pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Para à quantificação dos Coliformes totais (Ct) e Coliformes (CT) a 45°C foi observado um NMP.g⁻¹ variando de $2,3 \times 10^1$ a $1,1 \times 10^5$ e < 3 a $> 1,1 \times 10^5$, respectivamente (Tabela 2). Quando observado diferença significativa entre as médias das contagem de Ct nas amostras de carne-de-sol nos diferentes estabelecimentos analisados, observou-se que não houve diferença ($P > 0,05$) entre as amostras provenientes dos supermercados, minimercados e boxes. Para os CT a maior contagem média foi observada nas amostras provenientes dos boxes do mercado municipal, embora não tenha havido diferença significativa ($P > 0,05$) entre os estabelecimentos (Tabela 3).

A presença de *E. coli* foi observada em 83,33% das amostras analisadas (amostras B, C, D, F, G, H, I, J, L e M) (Tabela 2).

A presença de *Staphylococcus* coagulase positiva não foi observada, de forma a estar de acordo com os padrões legais vigentes para este patógeno. No entanto, altas contagens de *Staphylococcus* spp. variando de $4,8 \times 10^4$ a $9,0 \times 10^8$ UFC.g⁻¹ (Tabela 2) foi observado. Ao analisar a Tabela 3, observa-se que não

houve diferença significativa ($P>0,05$) na contagem de *Staphylococcus* spp nas amostras dos diferentes estabelecimentos estudados.

Salmonella foi obtida em amostras de três estabelecimentos, sendo identificadas três espécies de *Salmonella*, sendo elas, *S. enterica* subsp. *enterica* (2), *S. enterica* subsp. *indica* (1) e *S. Paratyphi* A (1). Todas as amostras positivas foram provenientes de casas de açougue (33,33%), minimercados (33,33%) e mercado municipal (50%).

3.3 Susceptibilidade de *Salmonella* e *E. coli* aos agentes antimicrobianos

Na Tabela 4 são apresentados os resultados do teste de suscetibilidade aos antimicrobianos para os isolados de *Salmonella* e *E. coli*, obtidas em amostras de carne-de-sol.

Tabela 4. Suscetibilidade a antimicrobianos para os isolados de *Salmonella* e *E. coli*, obtidas em amostras de carne-de-sol no comerciocl varejista de Cruz das Almas, Bahia.

Antimicrobianos	<i>Salmonella</i> (04)			<i>E. coli</i> (16)		
	Resistente N (%)	Intermediário N (%)	Sensível N (%)	Resistente N (%)	Intermediário N (%)	Sensível N (%)
Betalactâmicos						
Ampicilina	0	03 (75)	01 (25)	12 (75)	0	04 (25)
Imipenem	0	0	04 (100)	0	0	16 (100)
Cefalotina	04 (100)	0	0	10 (62,5)	06(37,5)	0
Aminoglicosídeo						
Gentamicina	0	03 (75)	01 (25)	02 (12,5)	06 (37,5)	08 (50)
Amicacina	0	0	04 (100)	09 (56,2)	05 (31,2)	02 (12,5)
Tetraciclina						
Tetraciclina	04 (100)	0	0	09 (56,2)	0	07 (43,7)
Macrolídeo						
Eritromicina	04 (100)	0	0	16 (100)	0	0
Quinolonas						
Acido nalidíxico	04 (100)	0	0	05 (31,2)	01 (6,2)	10 (62,2)

3.3.1 Susceptibilidade de *Salmonella* aos antimicrobianos

O perfil de suscetibilidade aos agentes antimicrobianos, classificados em seis grupos (β -lactâmicos, tetraciclinas, quinolonas, aminoglicosídeos, cefalosporinas e macrolídeos) mostrou que 100% das cepas de *Salmonella* apresentaram resistência a pelo menos um dos oito antimicrobianos testados.

Os antimicrobianos imipenem e amicacina pertencentes aos β -lactâmicos e aminoglicosídeo, respectivamente, apresentaram eficiência de 100% sobre as cepas de *Salmonella* (Tabela 4). Quando verificado o perfil de multirresistência dos isolados, pode-se observar que 100% deles apresentaram resistência a uma combinação de agentes antimicrobianos, incluindo a tetraciclina, eritromicina, ácido nalidíxico e cefalotina (Tabela 5). Assim, todos os isolados de *Salmonella* apresentaram índice MAR (Múltipla Resistência a Antimicrobianos) igual a 0,50, ou seja, resistência associada a quatro dos oito antimicrobianos testados.

Tabela 5. Índice de múltipla resistência a antimicrobianos (MAR) e perfil de resistência plasmidial das cepas de *Salmonella* isoladas de amostras de carne-de-sol comercializadas em Cruz das Almas-BA.

Cepa	Espécie	Antimicrobianos	MAR (%)	Resistência Plasmidial
M3	<i>S. entérica</i> subesp. <i>enterica</i>	ERI, NAL, TET, CFL	0,50	ERI
I1	<i>S. enterica</i> subesp. <i>indica</i>	ERI, NAL, TET, CFL	0,50	-
G2	<i>S. enterica</i> subesp. Serovar Paratyphi A	ERI, NAL, TET, CFL	0,50	-
G1	<i>S. enterica</i> subesp. <i>enterica</i>	ERI, NAL, TET, CFL	0,50	-

Nota: AMP = Ampicilina; ERI= Eritromicina; GEN = Gentamicina; IPM = Imipenem; NAL = Ácido nalidíxico; TET = Tetraciclina; CFL= Cefalotina; AMI= Amicacina.

Quando avaliado se o perfil de multirresistência das cepas testadas era devido a mutações cromossômicas ou plasmidial pode-se observar que das /quatro estirpes submetidas ao processo de cura, apenas uma (M3) apresentou resistência plasmidial ao antibiótico eritromicina, enquanto as cepas (I1, G1 e G2)

apresentaram um perfil de resistência associada a genes cromossômicos, uma vez que essa característica não foi perdida após este procedimento.

3.2.6 Susceptibilidade de *Escherichia coli* aos antimicrobianos

Os resultados do teste de suscetibilidade aos agentes antimicrobianos mostraram que 93,7% das cepas confirmadas e identificadas como *E. coli* apresentaram resistência a pelo menos um dos oito dos antimicrobianos testados (Tabela 4). Apenas o antimicrobiano β -lactâmico (imipenem) apresentou eficiência de 100% sobre todas as cepas. Maior resistência foi observada aos antimicrobianos eritromicina (100%), seguido da ampicilina (81,25%), cefalotina (62,25%), tetraciclina (56,25%), amicacina (56,25%), ácido nalidíxico (31,25%) e gentamicina (12,5%).

Com relação ao perfil de multirresistência, foi observado que 87,5% dos isolados apresentaram resistência a uma combinação de agentes antimicrobianos e monorresistência foi observada apenas para a eritromicina (12,5%) (Tabela 6).

O resultado do índice MAR para os 16 isolados mostrou que 87,5% das cepas apresentaram índice igual ou superior a 0,25, ou seja, resistência associada a dois ou mais dos oito antimicrobianos testados (Tabela 6).

Quando avaliado se o perfil de multirresistência das amostras testadas poderia ser devido a mutações cromossômicas ou plasmidial pode-se observar que, para algumas cepas, a resistência à eritromicina (6,25%), tetraciclina (11,1%), ampicilina (16,6%), gentamicina (50%) e ácido nalidíxico (20%) era de origem plasmidial. As demais cepas analisadas (68,7%) apresentaram resistência relacionada a genes cromossômicos, uma vez que essa característica não foi perdida após o procedimento de cura do plasmídeo.

Tabela 6. Índice de múltipla resistência a antimicrobianos (MAR) e perfil de resistência plasmidial das cepas de *Escherichia coli* isoladas de amostras de carne-de-sol comercializadas em Cruz das Almas-BA.

Cepa	Antimicrobianos	MAR (%)	Resistência Plasmidial
J2	ERI, NAL, TET, AMP, CFL	0,62	ERI
F5	ERI	0,12	-
F6	ERI, NAL, TET, AMP, CFL	0,62	TET
F4	ERI, GEN, TET, AMP	0,62	GEN
F1	ERI, NAL, AMP	0,37	-
B3	ERI	0,12	-
D1	ERI, TET,AMP, CFL	0,50	-
H1	ERI, NAL	0,25	-
G5	ERI, NAL, TET, AMP, CFL	0,62	NAL, AMP
G6	ERI, AMP, CFL, AMI	0,50	-
L4	ERI, AMP, CFL	0,37	AMP
M1	ERI, TET, CFL	0,50	-
C5	ERI, TET, AMP, CFL, AMI	0,62	-
C3	ERI, GEN, AMP	0,37	-
C1	ERI,TET,AMP,CFL	0,50	-
I2	ERI, CFL, AMP	0,37	-

Nota: AMP = Ampicilina; ERI= Eritromicina; GEN = Gentamicina; IPM = Imipenem; NAL = Ácido nalidíxico; TET = Tetraciclina; CFL= Cefalotina; AMI= Amicacina.

4. DISCUSSÃO

Por meio das análises físico-químicas, se observou que o baixo teor de sal e alta umidade, encontrados na carne-de-sol não são suficientes para inibir o crescimento microbiano. No momento das coletas, quando perguntado aos manipuladores e comerciantes sobre o teor de sal e a quantidade utilizada na

carne-de-sol, a maioria respondeu que variava entre 5,0 e 6,0%. Os resultados encontrados divergem dessa informação, visto que, com exceção da amostra (M) proveniente do Mercado Municipal, todas apresentaram um teor de sal bem inferior ao informado, fato preocupante, uma vez que a maioria dos micro-organismos, tanto os patogênicos como os deterioradores são capazes de se desenvolver em substratos com teores de sal inferiores a 10% (COSTA; SILVA, 1999).

Esse fato ocorre em virtude da carne-de-sol ser norteadada por uma tecnologia rudimentar e variável de estado para estado, ou mesmo de localidade para localidade, além de obedecer a um preparo quase que doméstico. Outro fator, também importante, é a composição centesimal da carne-de-sol, pois esta ainda não foi regulamentada na legislação brasileira e parâmetros importantes como o teor de umidade e a concentração de sal no produto final ainda são determinados por critérios aleatórios no processo de fabricação (LIMA, 2007).

Já para a umidade, o valor encontrado na presente pesquisa é muito próximo ao da carne *in natura*, que varia de cerca de 70% a 75% (SOUSA et al., 2006). O alto teor de umidade está relacionado com a baixa quantidade de sal (NaCl) utilizado no processo da salga da carne-de-sol, bem como a não exposição ao sol durante o processo de secagem, ou quando acontece, a exposição é feita no início da manhã, ou no final da tarde, por períodos relativamente curtos, insuficientes para provocar a desidratação do produto (COSTA, 2006).

Devido a estas características, a carne-de-sol não pode ser enquadrada na lista de exemplos da tecnologia de obstáculos de Hurdle Technology (teoria originada do conceito elaborado por Leistner, que se baseia na utilização simultânea de mais de uma barreira para o controle microbiano nos alimentos, obtenção de produtos estáveis, prolongada a vida de prateleira e seguros à saúde dos consumidores) uma vez que não se trata de um produto cárneo de umidade intermediária e estável à temperatura ambiente (MENUCCI, 2009).

Com relação às análises microbiológicas, os resultados referentes à quantificação de micro-organismos mesófilos, embora a legislação brasileira não especifique um limite para a contagem desses micro-organismos nas carnes e derivados, sabe-se que alimentos que apresentam contagens de mesófilos entre

10^5 e 10^6 UFC.g⁻¹ (valores para carne fresca) são considerados altamente contaminados e conseqüentemente, impróprios para o consumo (SILVA, 1991; COSTA, 1999). Os resultados encontrados nesta pesquisa são corroborados com os de Souza et al., (2006) que encontraram contagens de micro-organismos mesófilos variando de 10^3 a 10^5 UFC.g⁻¹ em carnes-de-sol comercializadas no município de Solânea-PB.

Cabe destacar que o grupo dos mesófilos, quando em quantidades elevadas, geralmente superiores a 10^6 UFCg⁻¹, pode indicar abusos relacionados a tempo e temperatura de armazenamento, e deterioração eminente, fornecendo também informações sobre as características higiênico-sanitárias do processamento e armazenamento do produto e/ou matéria-prima excessivamente contaminada (SIQUEIRA, 1995; VIDAL, 2005; CORREIA, 2008). Todas as bactérias patogênicas de origem alimentar são mesófilas e, assim, elevada contagem deste grupo, significa condições ideais de multiplicação para estes patógenos (FRANCO; LANDGRAF, 2006).

A diferença significativa encontrada na contagem de micro-organismos mesófilos nas amostras adquiridas nos supermercados e os demais estabelecimentos (açougues e boxes) pode ser atribuída a vários fatores, tais como qualidade da matéria-prima, inadequada higienização de utensílios e equipamentos, não treinamento da mão-de-obra empregada e processamento inadequado da carne-de-sol (VIDAL, 2005), pois mesmo apresentando falhas, os supermercados ainda são os que melhor se adéquam às exigências legais.

Outro fator que contribui para a elevada incidência de bactérias mesófilas, na carne-de-sol dos açougues e boxes é o excesso de manipulação do produto e as condições em que a mesma é comercializada, ou seja, a temperatura ambiente (média de 25°C). Nos supermercados e minimercados (com exceção da amostra G) o produto é vendido sob refrigeração, embora, nestes estabelecimentos não haja uma aferição periódica da temperatura nos balcões de refrigeração. Um dos grandes problemas encontrados na conservação pelo frio em estabelecimentos que comercializam produtos cárneos é o funcionamento inadequado dos equipamentos (VALENTE, 2001) problema este observado, nesta pesquisa, não somente nos estabelecimentos de pequeno porte, como também nos supermercados. Mendes (2001) ao analisar as condições de venda de produtos

cárneos na cidade de Salvador, BA, verificou que o mau funcionamento dos equipamentos de refrigeração na conservação das carnes era um dos problemas mais freqüentes.

De acordo com a Portaria nº304 de 22 de abril de 1996 do Ministério da Agricultura (BRASIL, 1996) é exigido que toda a carne colocada à venda, deva sair dos abatedouros ou centrais de desossa já preparada em seus diversos cortes, além de devidamente embalada, proporcionando maior período de tempo na sua comercialização. No varejo, a carne deve ser acondicionada a temperatura de até 7°C, como forma de promover maior segurança ao consumidor (OLIVEIRA, 2008).

Com relação à quantificação dos Ct a 35°C, a legislação brasileira não possui padrão, impossibilitando a comparação dos resultados com os limites adotados por órgãos nacionais de inspeção e controle dos alimentos. Para CT de acordo com a RDC N° 12 da ANVISA (BRASIL, 2001) o limite de coliformes a 45°C é de 10^3 NMP.g⁻¹ para produtos cárneos maturados. Assim, de acordo com esse parâmetro 58,33% das amostras analisadas foram classificadas como insatisfatórias quanto à presença desses micro-organismos. A ausência de diferença significativa na comparação das médias de contagens de CT nas amostras dos diferentes estabelecimentos comprova a ocorrência de falhas na higiene, em todas as unidades estudadas, durante uma ou mais etapas na cadeia de produção da carne-de-sol.

Dentre as bactérias do grupo dos coliformes a *E. coli* merece atenção, pois sua presença não é tolerada nos alimentos, mesmo que em pequenas quantidades, visto que algumas cepas têm sido envolvidas em surtos de gastroenterites severas (CHAPMAM, 1995; MENUCCI, 2009). Neste estudo, nas amostras G, H, I, J, L e M, provenientes de um minimercado, três açougues e dois boxes, a presença de *E. coli* era esperada como consequência das condições em que o alimento é comercializado, ou seja, à temperatura ambiente, no balcão ou penduradas, sem nenhum tipo de embalagem ou proteção. Além disso, o fácil acesso do produto pelos consumidores constitui um fator importante na contaminação do alimento.

A presença de *Staphylococcus* coagulase positiva não foi observada, de forma a estar de acordo com os padrões legais vigentes para este patógeno. No

entanto, altas contagens de *Staphylococcus* spp foram observadas. Estes resultados são corroborados com os de Costa e Silva (2001) que analisando a carne-de-sol submetida a baixas concentrações de cloreto, provenientes de estabelecimentos inspecionados e não inspecionados, encontraram nos dois grupos de amostras analisadas, elevadas contagens de *Staphylococcus* spp. Nos estabelecimentos inspecionados a contagem média era de 10^5 UFC.g⁻¹ e nos não-inspecionados de 10^7 UFC.g⁻¹.

O gênero *Staphylococcus* inclui mais de 30 espécies, e embora a produção de enterotoxinas esteja normalmente associada a *S. aureus* coagulase e termonuclease (TNase) positivos, algumas espécies de estafilococos que não produzem nenhuma dessas enzimas também podem produzir enterotoxinas, embora pouca informação esteja disponível sobre surtos causados por espécies coagulase negativa (CARMO et al., 2003; JAY, 2005). De acordo com o (ICMSF, 1985) a maioria das carnes curadas contém apenas de 3 a 6% de sal na fase aquosa, o que constitui um ambiente adequado à produção de enterotoxinas estafilocócicas, caso ocorra oxigênio em quantidade suficiente. Nos produtos que sofrem processamento térmico, o *S. aureus* é destruído facilmente pelo calor, e nos crus, as condições anaeróbicas do interior da massa constitui um sistema inibidor do seu crescimento e toxigênese.

A presença de *Salmonella* nas amostras de 03 (25%) estabelecimentos indica que estas são consideradas inaceitáveis, pois segundo a Resolução nº 12 da ANVISA (BRASIL, 2001), deve-se ter ausência de *Salmonella* em 25g da amostra de carne maturada. A presença de *Salmonella* na carne-de-sol pode estar relacionada à contaminação da matéria-prima em sua origem, ou seja, animais abatidos em frigoríficos da região, além dos relatos de abates clandestinos na cidade de Cruz das Almas, em virtude da falta de fiscalização sanitária regular. Por outro lado, a contaminação pode ter ocorrido devido à exposição e manuseio inadequado do produto, em decorrência da higiene insatisfatória da maioria dos manipuladores ou equipamentos e utensílios usados. Em todos os estabelecimentos em que a carne-de-sol apresentou *Salmonella* o alimento é comercializado a temperatura ambiente.

Pesquisas no Brasil relatam que a presença de *Salmonella* spp. em produtos cárneos, é bastante variada. Sousa et al., (2000) avaliando a qualidade

microbiológica de 30 amostras de carne bovina moída *in natura* no município de Macapá-AP, não detectaram a presença dessa bactéria. Leite et al., (2000) pesquisando *Salmonella* spp em carnes-de-sol comercializadas à temperatura ambiente e sob refrigeração em comércios varejistas na cidade de Campina Grande-PB encontraram *Salmonella* spp em 40% das amostras comercializadas à temperatura ambiente e em 30% das sob refrigeração. Por sua vez, Menucci (2009) observou a presença de *Salmonella* em 9,1% de um total de 88 amostras de carne-de-sol comercializadas em “casas do Norte” em Diadema-SP.

Com relação ao teste de suscetibilidade aos antimicrobianos para *Salmonella*, os resultados encontrados na presente pesquisa são corroborados com os encontrados por Figueiredo (2008) ao avaliar a resistência plasmidial em bactérias do gênero *Salmonella* em amostras de água de dois ambientes estuarinos, com atividades de carcinicultura. Segundo o autor, os antibióticos gentamicina e imipenem foram aqueles em que as bactérias se mostraram sensíveis, e dessa forma, os antibióticos de maior eficácia contra as salmonelas. O imipenem é um antibiótico betalactâmico sintético, de amplo espectro de ação, que exerce ação bactericida sobre bactérias sensíveis, por inibir a síntese da parede celular dos micro-organismos em crescimento, provocando a lise osmótica. Age sobre cocos e bacilos gram-positivos e gram-negativos, aeróbios e anaeróbios de importância clínica. Esse antimicrobiano é resistente à beta-lactamase, tanto as de origem cromossômica como as de origem plasmidial, produzidas por estafilococos, gonococos, homófilos e bacilos gram-negativos entéricos. Já a amicacina se diferencia dos demais aminoglicosídeos por apresentar resistência à inativação pela maioria das enzimas produzidas pelas enterobactérias (TAVARES, 2009).

Resistência à tetraciclina, ácido nalidíxico, eritromicina e cefalotina em 100% das cepas de *Salmonella* (Tabela 4), se assemelham com os resultados de Ribeiro et al., (2006) ao analisarem a ocorrência de resistência a agentes antimicrobianos em 22 cepas de *Salmonella enterica* subesp. *enterica* e constatarem que todas as cepas apresentaram resistência aos antimicrobianos tetraciclina e ácido nalidíxico.

A elevada frequência de resistência à tetraciclina é um resultado presumível, uma vez que é um dos mais antigos antimicrobianos usados, tanto como

profilático, como para promover o crescimento de animais. Embora no Brasil, esse antibiótico tenha sido banido em 1998 como aditivo alimentar em rações de animais, seu uso ainda se faz utilizado (TAVARES, 2009). Estudos realizados na Holanda mostraram que a prevalência de resistência à tetraciclina em salmonelas isoladas do homem ou de animais aumentou acentuadamente enquanto havia permissão do seu uso como promotor de crescimento, diminuindo após a sua proibição (COSTA, 2006).

A tetraciclina é um antibiótico de segunda classe, de amplo espectro de ação, que foi amplamente utilizada em todos os países, conduzindo ao desenvolvimento da resistência pelos micro-organismos, sobretudo pelo mecanismo de efluxo e modificação do ribossomo (TAVARES, 2009). A resistência às tetraciclina ocorre mais frequentemente pela aquisição de plasmídios ou transposons (ALTERTHUM, 2008), em virtude da ampla variedade de determinantes genéticos (VIEIRA, 2010), ou ainda, de origem cromossômica, resultantes de mutação (TAVARES, 2009). Segundo Alterthum (2008) as proteínas denominadas Tet (Tet A, B, C e D) uma vez formadas, deslocam-se dos ribossomos para a membrana citoplasmática, provocando a saída quase imediata do antibiótico da célula, impedindo sua ação.

O ácido nalidíxico, por sua vez, é uma quinolona de primeira geração, que apresenta ação somente contra bacilos gram-negativos entéricos. A resistência adquirida às quinolonas, tem origem cromossômica, resultante de um processo de mutação (LIMA et al., 2006), tendo emergido como um importante problema de saúde pública, resultante da sua livre utilização nos processos industriais de produção animal (JACOBY, 2005). Além disso, é muito indicada no tratamento de doenças do trato urinário, especialmente em infecções causadas por enterobactérias, bem como na terapêutica de infecções por *Shiguellas*. Entretanto, o uso do ácido nalidíxico tende a desenvolver resistência aos demais antimicrobianos deste grupo (SILVA et al., 2008).

De acordo com Tavares (2009) a cefalotina é um antibiótico que pertence ao grupo das cefalosporinas de primeira geração e a resistência dos micro-organismos à essa droga ocorre cruzada entre os antibióticos do grupo. Segundo Nicodemo et al., (2004) a pressão seletiva dos micro-organismos resistentes aos antimicrobianos é conseqüente, não só ao uso terapêutico ou

profilático destas drogas na medicina e odontologia em humanos, como também no seu emprego na medicina veterinária, na conservação dos alimentos, no combate a elementos biológicos daninhos aos seres humanos e na engorda de animais destinados à alimentação. Exemplo desta última assertiva é referido pelos Centros de Controle de Doenças (CDC) nos Estados Unidos, que verificaram o aumento da resistência de *Salmonella* a vários antimicrobianos de 16% em 1979 para 32% em 1989, relacionado ao emprego de antimicrobianos em alimentos para animais. Em bovinos de corte criados em sistema extensivo, o uso de antibióticos é realizado com baixo índice de controle, ocorrendo geralmente, a partir de problemas com bezerras, como em diarreias e pneumonias, ou mesmo em animais que apresentam febre ou lesões específicas. Assim, o controle da necessidade do uso específico e o monitoramento com relação à resistência bacteriana aos produtos usados são realizados em uma escala menor (TAVARES, 2009).

Alguns autores destacam três possíveis causas em que o uso dos antibióticos na alimentação animal pode por em risco a saúde humana. Em primeiro lugar, as bactérias antibiótico-resistentes a humanos que são selecionadas e contaminam o alimento durante o abate e/ou preparo. Desta forma, quando o alimento é ingerido, a bactéria causa infecção que requer um tratamento antibioticoterápico, comprometendo o tratamento. Como segunda causa, seriam as bactérias antibiótico-resistentes não patogênicas a humanos que seriam selecionadas no animal e quando o alimento contaminado fosse ingerido, a bactéria por sua vez transfere a resistência para outras bactérias no intestino humano e como terceira causa, tem-se que os antibióticos permanecendo como resíduos nos alimentos possibilita a seleção de bactérias antibiótico-resistentes quando consumidos (PIDDOCK 1996; FRANCO, et al., 2006).

Quando levado em consideração as estirpes resistentes e de resistência intermediária, todos os sorovares testados se apresentaram resistentes, pois o uso de antimicrobianos com sensibilidade intermediária e classificados como sensíveis, somente faz seleção de cepas resistentes (CARVALHO et al., 2009).

A resistência das cepas de *Salmonella* a uma combinação de agentes antimicrobianos, incluindo a tetraciclina, eritromicina, ácido nalidíxico e cefalotina,

sugere que a utilização de determinados agentes antimicrobianos, principalmente de amplo espectro de ação, contribui para o aparecimento da resistência (VIEIRA et al., 2010).

Das quatro estirpes de *Salmonella* submetidas ao processo de cura, apenas uma apresentou resistência plasmidial ao antibiótico eritromicina, enquanto as demais apresentaram um perfil de resistência associada a genes cromossômicos, uma vez que essa característica não foi perdida após este procedimento. De maneira semelhante Figueiredo (2008) ao realizar o teste de cura em quatro cepas de *Salmonella* Enteritidis observou que apenas uma apresentava resistência plasmidial.

A resistência cromossômica desenvolve-se por mutação do material genético cromossomal e depende de mutação espontânea, um evento raro; no entanto, ela é dirigida quase sempre a uma só droga e os genes são transferidos com frequência relativamente baixa. Esse tipo de resistência só é transmitida para organismos da mesma espécie, através do processo de divisão celular, não sendo transmitida para organismos de espécies diferentes. Por isso, seu impacto clínico é menor que o da resistência plasmidial (FIGUEIREDO, 2008). Por outro lado a resistência transferível pode ser proveniente da importação de genes causadores do fenômeno. Neste caso, esta resistência faz-se por meio de mecanismos de transdução, transformação e conjugação e, freqüentemente, envolve genes situados em plasmídios e transposons, sendo que a resistência em bacilos Gram-negativos entéricos é mediada principalmente por plasmídios (TAVARES, 2000; TENOVER, 2001; SANTOS, 2002).

Entretanto, nesse estudo constatou-se que a resistência cromossômica observada era dirigida a duas ou mais drogas. Para Alterthum (2008) bactérias sensíveis podem receber genes cromossômicos mutantes de bactérias já resistentes, por meio de processos de transformação, conjugação e transdução.

Experimentos feitos com cepas resistentes de isolados de *Salmonella* em frango de corte demonstraram que os determinantes de resistência residem na conjugação de plasmídeos ou transposons e que os determinantes de resistência eram rapidamente transferidos entre espécies diferentes e mesmo entre gêneros diferentes (ANDREOTI, 2004; NÓGRÁDY et al., 2005; COSTA, 2006).

Os resultados da suscetibilidade aos agentes antimicrobianos para as cepas de *E. coli* são corroborados com os achados de Campos et al., (2006) ao analisarem o perfil de resistência a antimicrobianos de *E. coli* isoladas das mãos de manipuladores em um laticínio de Goiás. Esses autores também verificaram resistência de 12,5% para a cefalotina e tetraciclina, enquanto Costa et al., (2006) estudando cepas de *E. coli* isoladas de criatórios suínos no sul do Brasil, observaram resistência à tetraciclina em 88,6% das cepas estudadas.

De acordo com a literatura, há um crescente aumento da multirresistência em cepas de *E. coli* isoladas de vários ecossistemas (VIEIRA, 2010). O gênero *Escherichia* geralmente é sensível a gentamicina, amicacina, trimetoprim, sulfazotrim e ceftiofur, e resistente a tetraciclina, estreptomicina, sulfonamidas, ampicilina e kanamicina. Embora a maioria das infecções por *E. coli* diarreiogênica sejam autolimitantes, o tratamento normalmente se restringe à reidratação e balanço eletrolítico quando necessário e a antibioticoterapia não é efetiva nem desejável, sendo indicada apenas quando a infecção é ocasionada por cepas EPEC aderentes e indutoras de diarreia persistente, por colocar a vida em risco e por serem severamente patogênicas ao intestino delgado (HIRSH, 1999; VARGAS, 2006).

Estudos relatam que um fator agravante na resistência das enterobactérias foi a emergência de micro-organismos capazes de produzir beta-lactamases de espectro estendido (ESBL) tornando-as resistentes às cefalosporinas da terceira e quarta geração, às penicilinas e os monobetalactâmicos. A ocorrência desses mutantes tem sido relacionada ao maior emprego dessas drogas na terapia humana, bem como ao uso destas drogas na terapêutica e profilaxia de infecções em animais (TAVARES, 2009).

Segundo Tavares (2009) o imipenem se mostra resistente à quase totalidade das beta-lactamases produzidas por bacilos gram-negativos entéricos e, a emergência das cepas de *E. coli* resistentes a ampicilina, impede o êxito terapêutico dessa droga. A resistência a ampicilina ocorreu de maneira constante e ascendente em todo o mundo, em consequência do seu uso difundido e maciço. Nos bacilos gram-negativos, o mecanismo bioquímico principal de manifestação da resistência é a produção de beta-lactamases, que inativam o antibiótico ao romper seu anel beta-lactâmico.

A resistência às quinolonas, como o ácido nalidíxico, não tem sido associada à transferência gênica, mas à expressão de uma capacidade intrínseca da *E. coli* em desenvolver resistência quando exposta a um ambiente com pressão seletiva. Essa pressão pode ser exercida por qualquer uma das quinolonas ou fluoroquinolonas, resultando na resistência a todo o grupo (SILVA, 2008; VIEIRA, 2010). Para Jacoby (2005) a resistência às quinolonas tem emergido como um importante problema de saúde pública, resultante da sua livre utilização nos processos industriais de produção animal.

A elevada percentagem de cepas de *E. coli* apresentando resistência associada a dois ou mais dos oito antimicrobianos testados pode estar ligado a fenômenos de pressão seletiva, que atuam favorecendo a instalação, manutenção e propagação de características de resistência entre as populações bacterianas (VIEIRA, 2010). A presença de linhagens de *E. coli* resistentes a antimicrobianos é preocupante por dificultar o tratamento de doenças em animais e humanos, agravando os quadros clínicos curáveis (MEDEIROS, et al., 2009)

Assim, a resistência antimicrobiana é um problema com graves implicações clínicas, pois novos agentes antimicrobianos devem ser desenvolvidos e são sempre mais caros e muitas vezes mais tóxicos que os utilizados anteriormente nos tratamentos de infecções, o que reforça a necessidade de adoção de medidas que controlem a disseminação de genes de resistência, visando à redução na sua circulação.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Entre os estabelecimentos estudados, os supermercados foram os que apresentaram os melhores resultados nas análises microbiológicas, seguido dos minimercados. Os açougues e boxes no mercado municipal apresentaram baixos índices microbiológicos, devido o alimento ser comercializada a temperatura ambiente e excessivamente manipulado, quer pelos manipuladores ou pelos próprios consumidores.

A análise dos resultados para o conjunto de todos os micro-organismos estudados, mostrou que apenas uma amostra foi satisfatória, ou seja, cujos resultados analíticos se mostraram abaixo dos limites M estabelecidos para os micro-organismos indicadores: coliformes a 45°C, ausência de *Salmonella* spp., ausência de *Escherichia coli* e *Staphylococcus* coagulase positiva. Nos demais estabelecimentos se observou padrões microbiológicos insatisfatórios para a carne-de-sol, indicando produtos em condições higiênico-sanitárias precárias ou inaceitáveis.

A presença das bactérias *Salmonella* foi detectada em 25% das amostras estudadas (G, M e I) e *Escherichia coli* em 83,3% .

A elevada contagem de micro-organismos mesófilos aeróbios e de coliformes termotolerantes na maioria das amostras analisadas sugere falhas em uma ou mais etapas do processo produtivo da carne-de-sol, seja na obtenção da matéria-prima, na elaboração do produto ou na comercialização.

As variações observadas nos teores de umidade e cloreto de sódio (NaCl) demonstra a necessidade de um maior empenho dos órgãos competentes, no sentido de estabelecer parâmetros que padronizem o processamento da carne-de-sol, pois o teor de sal encontrado nas amostras analisadas é insuficiente para reduzir a atividade de água e umidade do produto e, conseqüentemente, não exerce uma ação inibidora significativa no crescimento microbiano.

Todas as cepas de *Salmonella* apresentaram perfil de multirresistência. Das 16 cepas de *Escherichia coli* isoladas 87,5% eram resistentes a pelo menos dois dos antibióticos testados. Esses resultados sugerem a necessidade do uso

responsável dos agentes antimicrobianos na produção animal, uma vez que os micro-organismos multiresistentes representam uma ameaça à saúde pública.

Assim, em função da elevada carga microbiana encontrada nas amostras de carne-de-sol analisadas, pode-se afirmar que o processo de comercialização desse produto em Cruz das Almas-BA necessita de ações voltadas à capacitação dos manipuladores, principalmente com relação à educação sanitária, a fim de oferecer um alimento de qualidade à população local.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, C. O.; LEDO, A. R. **Um Caso Mais que Perverso das elasticidades. Informe.** GEPEC. Paraná, v. 8, n.2, jul./dez., 2004.

ALTHERTUM, F. Mecanismo de ação dos antibacterianos e mecanismo de resistência. In: TRABULSI, L.R.; ALTHERTUM, F. (Org.). **Microbiologia.** São Paulo: Atheneu, 2008. v.1.,p.67-84.

ALVARENGA, A. L. B. **Princípios das boas práticas de fabricação: requisitos para implementação de agroindústria de agricultores familiares.** In: Recomendações básicas para a aplicação das boas práticas agropecuárias e de fabricação na agricultura familiar. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2006. 243p. (Série Programa de Agroindustrialização Familiar).

AMSON G. V.; HARACEMIV S. M. C.; MASSON M. L. **Levantamento de dados epidemiológicos relativos à ocorrências/ surtos de doenças transmitidas por alimentos (dtas) no estado do paraná – brasil, no período de 1978 a 2000.** http://www.editora.ufla.br/revista/30_6/art16.pdf. Acessado em: 26 de Agosto de 2010.

ANDREOLI, P. A. **Perfil bacteriológico e determinação da atividade água de salame tipo italiano em três formas de comercialização no município de NiteróiRJ.** Disponível http://www.uff.br/higiene_veterinaria/teses/priscila_andreoli.pdf. Acesso em: 07 de Julho de 2010.

ANUALPEC. **Anuário da Pecuária Bovina Brasileira.** São Paulo: FNP Consultoria & Comércio, 2001. 359p.

APHA. AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. Vanderzant, C.; Splittstoesser, D. F. (Ed). **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 3 ed. Washington, 2002. 1087 p.

AZEVEDO, P.R.A, MORAIS, M.V.T. A tecnologia da produção da carne-de-sol e suas implicações nos aspectos higiênico-sanitários. **Revista Nacional da Carne**. São Paulo n. 98, p. 12-13, 2005.

BRACKETT, R.E. **Microbiological spoilage and pathogens in minimally processed refrigerated fruits and vegetables**. In: WILEY, R.C. Minimally processed refrigerated fruits and vegetables. New York: Chapman & Hall, cap 1, p. 269-312, 1994.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC 12, de 02 de janeiro de 2001 – Regulamento Técnico Sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. In: **Diário Oficial da União**, seção 1. Brasília, 10 jan. 2001.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Portaria nº304 de 22/04/1996. Introduz modificações e progressivas para que se alcancem avanços em termos higiênicos, sanitários e tecnológicos na distribuição e comercialização da carne bovina, bubalina e suína, visando principalmente à saúde do consumidor. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 1996. p.60.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Portaria nº368, de 04/09/1997. Regulamento técnico sobre as condições higiênico-sanitárias e de boas práticas de elaboração para estabelecimentos elaboradores/industrializadores de alimentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 1997. p.60.

BRASIL, Ministério da Agricultura. Portaria n.º 451 de 19 de setembro de 1997, Dispõe sobre as normas e padrões de controle microbiológico para alimentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 19 set. 1997.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 216 de 15 de setembro de 2004. Dispõe sobre: **Regulamento técnico de boas práticas de fabricação para serviços de alimentação**. Disponível em: <[http:// www.anvisa.gov.br](http://www.anvisa.gov.br)>. Acesso em 08 de setembro de 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº. 326, de 30 de julho de 1997. Estabelece os requisitos gerais de higiene e de boas práticas de fabricação para alimentos produzidos/ fabricados para o consumo humano. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, F, n. 146, p. 16560, 1 ago. 1997. Seção 1. p. 16560.

BRASIL Ministério do Trabalho. Portaria nº 8 de 8 de maio de 1996 NR 07. Altera Norma Regulamentadora NR-7. Programa de Controle Médico de Saúde Ocupacional. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, v. 134, nº 91, p. 8202, 13 de maio de 1996.

CAMPOS, M. R. H. et al. Caracterização fenotípica pelo antibiograma de cepas de *Escherichia coli* isoladas de manipuladores, de leite cru e de queijo “Minas Frescal” em um laticínio de Goiás, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.36, n.4, p.1221-1227, jul-ago, 2.

CARMO, L. S., DIAS, R. S., LINARDI, V. R., SENA, M. J.; SANTOS, D. A. An Outbreak of Staphylococcal Food Poisoning in the Municipality of Passos, Mg, Brazil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**. v. 46, 2003, p. 581-586.

CARNEIRO, D.O.; FIGUEIREDO, H.C.P.; PEREIRA JÚNIOR, D.J. et al. Perfil de sensibilidade a antimicrobianos bactérias isoladas em diferentes sistemas de cultivo de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootécnica**, v.59, p.869-896, 2007.

CARNEIRO, M. R. P., OLIVEIRA, S. S., RODRIGUES, D. P. ARAGÃO, A. C. C., SILVEIRA, B. D. S., CÂNDIDO, A. L. Isolamento e identificação de *Salmonella*

enteritidis em surto de doença gastroentérica na cidade de Aracaju, SE, Brasil. **Higiene Alimentar**, v. 17, n. 104/105, p. 34-35; 2003.

CARVALHO, F.C. de; BARRETO, N.S.E; REIS, C.M. F; HOFER, E.; VEIREIRA, R.H.S dos.F. Susceptibilidade antimicrobiana de *Salmonella* spp. isoladas de fazendas de carciniculturas no Estado do Ceará. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 40, n. 4, p. x-y, out-dez, 2009

CARVALHO, J. B. C. **Estudo da evolução das carnes bovinas salgadas no Brasil e desenvolvimento de um produto semelhante à carne-de-sol.** I Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Carnes, Campinas, p.251-268, 2002.

CASE, C.L.; FUNKE, B. R.; TORTORA, G.J. **Microbiologia**. 6ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2000. p.75-76, 235.

CERQUEIRA, D. A.; HORTA; S. M. C. de. **Coliformes fecais não existem.** Anais do 20º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental. Rio de Janeiro, 1999. CD-Room.

CHAPMAN, P.A. Verocytotoxin – producing *Escherichia coli* O157 infections. Reviewing the background, epidemiology, methods of detection and prospects for control. **British Food Journal**, v.97, n.10, 1995.

CHITARRA, M.I.F. **Processamento Mínimo de Frutos e Hortaliças.** Viçosa: UFV, 1998. 88p.

CLEMENTE, E S. **Controle higiênico-sanitário em supermercados.** 5º Congresso Nacional de Higienistas de Alimentos 1999. Foz do Iguaçu, 17 a 21 de abril.

CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. **Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: fifteenth informational**

supplement. CLSI document M100-S15. Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2005. Disponível em: < <http://enews.nccls.org/clsi/issue/2006-12-01/2.html>>. Acesso em: 20 nov. 2009.

CORREIA, L. M. M. **Multiplicação de microbiota autóctone e de *Staphylococcus aureus* inoculado em lingüiças frescas produzidas com diferentes concentrações de sais de cura.** Curitiba, 2008. 85f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

CORREIA, R.T.P.; BISCONTINI, T.M.B. Influência da dessalga e cozimento sobre a composição química e perfil de ácidos graxos em charque e jerked beef. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 23, n. 1, p. 38-42, jan/abr. 2003.

COSTA, E. L.; SILVA, J. A. Qualidade Sanitária de Carne de Sol Comercializada em Açougues e Supermercados de João Pessoa-PB. **B.CEPPA**, Curitiba, v. 17, n. 2, p. 137-144, jul./dez.1999.

COSTA, E. L.; SILVA, A.J. Avaliação microbiológica da carne-de-sol elaborada com baixos teores de cloreto de sódio. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.21, n.2, p.149- 135, 2001.

COSTA, M. da; SILVA, M.S.; SPRICIGO, D. A.; MITT, N. M.; MARCHIORO, S. B.; VARGAS, A. P. Caracterização epidemiológica, molecular e perfil de resistência aos antimicrobianos de *Escherichia coli* isoladas de criatórios suínos do sul do Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. 26(1):5-8, jan./mar. 2006.

FEITOSA, T. **Contaminação, Conservação e Alteração da Carne.** Fortaleza: EMBRAPA –CNTAP, v. 34, 1999.

FELÍCIO, P.E. **Carne-de-sol.** Campinas. Disponível em: www.fea.unicamp.br. Acesso em 10 de novembro de 2007.

FELICIO, P. E. **Sistemas de qualidade assegurada na cadeia da carne bovina: a experiência brasileira.** I Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Carnes, 2001, São Pedro. Anais. Campinas: Instituto de Tecnologia de Alimentos/Centro de Tecnologia de Carnes, 2001. p.342-355.

FERREIRA, D. F. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. **Revista Symposium (Lavras)**, v. 6, p. 36-41, 2008.

FIGUEIREDO, F.V. **Susceptibilidade a antimicrobianos e resistência plasmidial de cepas de salmonella spp isoladas de dois estuários do estado do Ceará- Brasil.** Jaboticabal, 2008. 68f. Tese (Doutorado em Aqüicultura) Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho, Jaboticabal, 2008.

FORSYTHE,S.J. **Microbiologia da Segurança Alimentar.** São Paulo: Artmed, 2005.

FRANCO, R.M.; OLIVEIRA,L.A.T; CARVALHO, J.C.A.P. 2006. Probióticos- Revisão. **Revista Higiêne Alimentar** 20:22-33.

FRANCO, R. M.; MANTILA, S. P. S.; OLIVEIRA, R. G. Resistência antimicrobiana de *Escherichia coli* isoladas de carne e dejetos suínos. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.4, n.1, p.31-36, 2010.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos.** São Paulo: Atheneu, 2005, 196 p.

GERMANO,P.M.L.; GERMANO,M.I.S. Agentes bacterianos de toxinfecções. In: **Higiene e Vigilância Sanitária de Alimentos.** São Paulo. Manole, p. 277-346, 2008.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. **Higiene e vigilância sanitária de alimentos.** São Paulo: Varela, 2003.

GRIFFITHS, A. J. F. **Introdução à Genética**. 7ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2000. p. 194-197, 344-345.

GUIA de verificação do sistema APPCC. 2.ed. Brasília, DF, SENAI/DN, 2000. 61p. Série Qualidade e Segurança Alimentar. Projeto APPCC Indústria.

HIRSH, D.C.; ZEE, Y.C. 2003. **Microbiologia Veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 446p.

IARIA, S; FURLANETTO, S; CAMPOS. M. Pesquisa de *Staphylococcus aureus* enterotoxigênico nas fossas nasais de manipuladores de alimentos em hospitais, São Paulo, 1976. **Revista de Saúde Pública**. v.14, 1980, p. 93-100.

IARIA, S. *Staphylococcus aureus* enterotoxigênico em doces cremosos vendidos em padarias e confeitarias do município de São Paulo, Brasil. **Revista de Saúde Pública**. v.15, 1981. p. 321-327.

ICMSF- International Commission on Microbiological Specifications for Foods. **APPCC na Qualidade e Segurança Microbiológica dos Alimentos**. São Paulo, Livraria Varela, 1997.

ICMSF – International Commission on Microbiological Specifications for Foods. **Ecología microbiana de los alimentos – Factores que afectan la supervivencia de los microorganismos en los alimentos**. Zaragoza, Acribia, 1980, 332p. v. 1.

ICMSF International Commission on Microbiological Specifications for Foods. **Ecología Microbiana de los Alimentos. II**. Productos Alimenticios. Zaragoza: Acribia, 1985. p. 143-152.

ICMSF. International Commission on Microbiological Specifications for Foods. **Microorganismos de los alimentos: características de los patógenos microbianos**. Zaragoza: Acribia, 1996. p. 349-386.

ICMSF International Commission on Microbiological Specifications for Foods. Use of epidemiologic data to measure the impact of food safety control programs. **Food Control**, n. 17, p. 825-37, 2006.

INSA- **Instituto Nacional de Saúde**. Disponível em: <http://www.insa.pt/sites/INSA/Portugues/AreasCientificas/DoencasInfecciosas/AreasTrabalho/ResistencAnti/Paginas/inicial.aspx>. Acesso em: 03 de Julho de 2020.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. Sidra. Agricultura(<http://www.sidra.ibge.gov.br>, 28 de abril de 2009).

JACOBY, G.A. Mechanisms of resistance to quinolons. **Clinical Infection Diseases**, v.41,p.S120-S126, 2005. Supplement 2.

JAY, J. **Microbiologia de Alimentos**. Porto Alegre: Artmed, 2005. p. 52-55, 471-485.

LABACVET 2007-II. **Enterobactérias (*Salmonella* spp)**. Disponível em: <http://www.ufrgs.br/labacvet/pdf/entero.pdf>. Acesso em 25 de Agosto de 2010.

LEITÃO, M. F. F. Microbiologia de Alimentos: In ROITMAN, I., TRAVASSOS, L. R., AZEVEDO, J. L. **Tratado de microbiologia**. São Paulo: Manole, p. 3-80, 1988.

LEITE JR, A.F.S.L. et al. Avaliação da qualidade microbiológica da carne-de-sol, comercializada à temperatura ambiente ou sob refrigeração, em Campina Grande, Paraíba. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 14, n. 68/69, p. 87-92, 2000.

LIMA, A. W. O.; SOUSA, C. P. Infecções e intoxicações alimentares. In: **Aspectos da ciência e tecnologia de alimentos**. 1 ed. João Pessoa, PB: Nova Idéia, 2002, v. 1, p.175-199. In: ARÁMBULO III P; ALMEIDA, CR; CUELAR JS; BELOTTO, AJ. Street food vending in Latin America. Bull PAHO. 1994; 28(4):344-54.

LIMA, R. M. S. et al. Resistência a antimicrobianos de bactérias oriundas de ambiente de criação de filés de tilápias. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 30, n. 01, p. 126-132, 2006.

LIMA, S.; ANTONACCIO, K. Condições higienico-sanitárias dos alimentos no comércio ambulante em Manaus. **II Congresso de Pesquisa e Inovação da Rede Norte Nordeste de Educação Tecnológica**. João Pessoa - PB - 2007

LIRA, G. M., SHIMOKOMAKI, M. Parâmetros de qualidade da carne-de-sol e dos charques. **Higiene Alimentar**, v. 12, n. 58, p. 33-35, 1998.

LOPEZ, M.; SANZ, J. C.; USERA, M. A.; REINA, J. ; CARDENOSO, L. ; VASALLO, F. **Gastroenteritis bacterianas, víricas, parasitarias y toxoinfecciones alimentarias: procedimientos en microbiología clínica**. Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, 1994. Disponível em: <<http://www.seimc.org.br>>. Acesso em: 16 de junh. 2010.

MACEDO, N.R. et al. **Detecção de cepas patogênicas pela PCR multiplex e avaliação da sensibilidade a antimicrobianos de *Escherichia coli* isoladas de leitões diarreicos**. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. vol.59 no.5 Belo Horizonte Oct. 2007.

MAPA -. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Instrução Normativa nº 06, de 15 de fevereiro de 2001. Aprova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de paleta cozida, de produtos cárneos salgados, de empanados, de presunto tipo Serrano e de prato elaborado pronto ou semipronto contendo produtos de origem animal. Diário **Oficial da União, Brasília**, DF, 19 de fev. 2001a, Seção 1, p. 60.

MARTH, E. H. **Extended shelf refrigerated foods microbiological quality and safety**. Food technology, Chicago, v.52, n.2. p.57-62, 1998.

MATSUBARA, E. N. **Condição higiênico-sanitária de meias carcaças de suínos após o abate e depois do resfriamento e análise de Lista de Verificação para avaliar boas práticas no abate de suínos.** São Paulo, 2005. 152f. Dissertação (Mestrado em epidemiologia aplicada às zoonoses). Universidade São Paulo, São Paulo, 2005.

MEDEIROS, P.T., PADILHA, M.T.S., PADILHA, J.C.F., ESPÍNOLA F; MAGGIONI R. 2009. **Efeito de promotores de crescimento alternativos no desempenho e no custo de produção de frangos de corte.** 2009. Disponível em: <http://www.biotemas.ufsc.br/volumes/pdf/volume223/157a163.pdf>. Acesso em: 02 de Junho de 2010.

MELLO, S. **Micróbio na comida: quem se preocupa com isso?** APROESP. **Associação de Professores e Servidores públicos do Magistério oficial do Estado de São Paulo.** 2006. Disponível em: < <http://www.aproespcoop.com.br>>. Acesso em: 25 de Mai. de 2008.

MENDES, A.C.R. et al. Condições de comercialização de cortes cárneos em supermercados da cidade de Salvador, BA. Aspectos higiênicos-sanitários e de conservação. **Revista Higiene Alimentar** 2001;15 (83):58/62.

MENDONÇA, C. R. et. al Coliformes em açougues de pelotas. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.5, no 1, 75-76, jan.-abril,1999. 76.

MENUCCI, T. A. **Avaliação das condições higiênico-sanitárias da carne-de-sol no município de Diadema-SP.** São Paulo, 2009. 121f. Dissertação (Mestrado em saúde pública). Universidade São Paulo, São Paulo, 2009.

MENNUCCI, T. A.; SOUZA, T. A. M.; CHAABAN, H. M. A. Prevenção de doenças transmitidas por alimentos em cozinhas residenciais: uma abordagem educativa da vigilância sanitária de Diadema. **Revista Higiene Alimentar**, v. 21, n. 150, p. 372, 2007.

MOLINA-AJA, A.; GARCÍA-GASCA, A.; ABREU-GROBOIS, A.; BOLÁN-MEJÍA, C.; ROQUE, A.; GOMEZ-GIL, B. **Plasmid profiling and antibiotic resistance of *Vibrio* strains isolated from cultured penaeid shrimp**. FEMS Microbiology Letters, Amsterdam, v. 213, n. 1, p. 7-12, 2002.

MORELLI, A. M. de F. ***Escherichia coli* O157:H7 ocorrência em ambiente de produção de leite na microrregião de Viçosa, adesão em diferentes superfícies e resistência a sanitizantes**. 2008. 192p. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

NÓBREGA, D.M. **Contribuição ao estudo da carne-de-sol visando melhorar sua conservação**. 1982. 81 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos e Agrícola, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

NÓBREGA, D.M.; SCHNEIDER, I.S. Contribuição ao estudo da carne-de-sol visando melhorar sua conservação. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v.2, n.3, p.150-54, set.1983.

OLIVEIRA, de S.; SILVA, J. A. da; MACIEL, J.F.; AQUINO, J. de S. **Avaliação das condições higiênico-sanitárias de carne bovina comercializada em supermercados de João Pessoa**. v.19, n.1, p. 61-66, jan./mar. 2008.

OLIVEIRA, L.A.T. Análise microbiológica de sal empregado na elaboração do charque. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v.1, n.2, p. 104-110, ago.1982.

OLIVEIRA, L. F. de; SRUR, A. U. O. S.; VACARI, F. Aproveitamento do chuchu (*Sechium edule*, Swartz) pelo processo de saturação com açúcar – uma alternativa alimentar. **Revista Universidade Rural**, Série Ciências da Vida, Rio de Janeiro, v.22, p.09-14, suplemento, 2003.

OLIVEIRA, N. M. S.; NASCIMENTO, L. C.; FIORINI, J. E. Isolamento e identificação de bactérias facultativas mesófilas em carnes frescas bovinas e suínas. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v.16, n. 94, p.68-74, 2002.

PARDI, M.C.; SANTOS, I.F.dos; SOUZA, E.R. de; PARDI, H.S. **Ciência e higiene da carne, tecnologia da sua obtenção e transformação**. Goiânia: Ed. Universidade Federal de Goiás, 1993. v. 1, p.31.

PARDI, M.C.; SANTOS, I.F.; SOUZA, E.R.; PARDI, H.S. **Ciência, higiene e tecnologia da carne: Riscos microbiológicos da carne**. Goiânia: UFG, 1995. v.1, p.294-308.

PIDDOCK, L.J.V. Multidrug-resistance efflux pumps-not just resistance. **Nat. Rev. Microbiol.**,v.4, p.629-635, 2006.

PONTES, A.; Programa de Controle de *Salmonella* spp. Em Abatedouros de Aves. Santos. FACTA. **Anais da Conferência APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas**, p. 268. 2004

QUINN, P.J.; MARKEY, B.K.; CARTER, M.E., DONNELLY, W.J.; LEONARD, F.C. 2005. **Microbiologia Veterinária e Doenças Infecciosas**. Porto Alegre: Artemed, 512p.

REZENDE, C.S.M. et al. Sorovares de *Salmonella* isolados de carcaças de frangos de corte abatidos no Estado de Goiás, Brasil, e perfil de resistência a antimicrobianos. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**. 2005. Disponível em: http://www.fmv.utl.pt/spcv/PDF/pdf6_2005/100_199-203.pdf. Acesso em: 18 de Set.de 2010.

RIBEIRO, A.R. et al. Resistencia antimicrobiana em salmonella entérica subesp. Entérica sorovar hadar isoladas de carcaças de frango. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.73, n.3, p.357-360, jul./set., 2006.

ROSSI, A. A. **Biossegurança em frangos de corte e saúde pública: limitações, alternativas e subsídios na prevenção de salmoneloses**. 2005.

111 f. Dissertação (Mestrado em Agroecossistemas) - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2005.

SANTOS, U. R. C. A importância de prática educativa em vigilância sanitária no Estado do Pará. **Revista Brasileira de Vigilância Sanitária**, v. 2, n. 1, p. 11-16, 2006.

SANTOS, T. B. A. dos. **Qualidade microbiológica de frutas e hortaliças minimamente processadas comercializadas na cidade de Campinas- SP**. 2007. 110f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) Faculdade de Engenharia de Alimentos da, Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2007.

SALYERS, A.A.; AMABILEE-CUEVAS, C.F. 1997. **Why are antibiotic resistance genes so resistant to elimination?** Antimicrob Agents Ch. 41:2321-2325.

SES-SP- Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo. *Escherichia coli* O157:H7 - enterohemorrágica (EHEC). **Manual das doenças transmitidas por alimentos e água**. Disponível em: <http://www.cve.saude.sp.gov.br/html/hidrica/Ecolinet.htm>. Acesso em: 25 ago. 2010.

SIC – **Serviço de Informação da Carne**. Desenvolvido pelo Comitê Técnico do SIC. São Paulo. Disponível em: <http://www.sic.org.br/charque.asp>. Acesso em 10 Junho de 2010.

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

SILVA, N. **E. coli O157:H7 em alimentos**. Campinas, 2004. Dissertação. 105f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A.; TANIWAKI, M.H.; SANTOS, R.F.S.; GOMES, R. **Manual de Métodos de análise microbiológica de alimentos**. Editora Varela, 2007, no prelo.

SILVA, S. R. P. da. **Avaliação bacteriológica e parasitológica em hortaliças minimamente processadas comercializadas em Porto Alegre, RS**, 2006. 87f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola e do Meio Ambiente) Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2006.

SILVA, E. A. da. **Comentários sobre a utilização de máscaras em serviços de alimentação e nutrição**. Disponível em: <http://www.proalimento.com.br/dica.php?id=160>. Acesso em: 03 de Setembro de 2010.

SILVA, F.F.P. ; SANTOS, M.A.A.; SCHMIDT,D. Resistencia a antimicrobianos de Escherichia coli isolada de dejetos suínos em esterqueiras. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.60,n.3, p.762-765, 2008.

SILVA, J. A. **Tópicos da Tecnologia dos Alimentos**, 2^o edição – São Paulo: Livraria Varela, 2000.

SILVA, J A. As novas perspectivas para o controle sanitário de alimentos. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v.16, n. 94, p.19-25,1999.

SILVA JR., E.A. **Manual de Controle Higiênico-Sanitário em Alimentos**. Editora Varela, 5^a edição, São Paulo, 2002.

SIRVETA - SISTEMA DE VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA DE ENFERMIDADES TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS. **Sistema de información regional para la vigilancia epidemiológica de las enfermedades transmitidas por alimentos**. Módulo dinâmico de acceso a la información. Disponível em: <<http://www.panalimentos.org/sirveta/e/index>>. Acesso em: 15 de fevereiro de 2009.

SIQUEIRA, R.S. **Manual de microbiologia de alimentos**. Brasília: EMBRAPA, 1995. 159 p.

SCHMIDT, V.; CARDOSO, M. R. I. Sobrevivência e perfil de resistência a antimicrobianos de *Salmonella* sp. isoladas em sistema de tratamento de dejetos de suínos. **Ciência Rural**, v. 33, n. 05, p. 881-888, 2003.

SOTO, F. R. M. et al. Aplicação experimental de um modelo de conduta de inspeção sanitária no comércio varejista de alimentos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.29 n.2 Campinas Apr./June 2009.

SOUSA, C. L.; JOELLE, M. R. S. P.; Avaliação da qualidade microbiológica e físico-química de carne bovina moída em açougues do município de Macapá – AP. **Revista Higiene Alimentar**, v. 14, n. 72, p. 60-65; 2000.

SOUZA, J.M; MOURA, M.F.V; CRUZ, A.M.F; SILVA, H.F.O; EMERENCIANO, D.P; CARVALHO, G.C; BRITO, G.Q; VIEIRA, M.F.P. Determinação dos teores de umidade e proteína em carne charque. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUÍMICA, 48., 2006, Rio de Janeiro. **Anais eletrônicos...** Rio de Janeiro. CBQ, 2006. Disponível em: <http://www.abq.org.br/cbq/2008/trabalhos/10/10-322-4596.htm>. Acesso em: 18 de Set. de 2010.

SOUSA, J. S.; BARRETO, L. C.; FERNANDES, M. V. M.; LEITE, A. B.; BURGHGRAVE, V. S.; RAMOS, J. C. Avaliação da qualidade higiênico-sanitária de frangos comercializados na cidade de Salvador-Bahia. **Higiene Alimentar**, v.21, n.150, p.76-77, abril, 2006.

SOUSA, S. de; OLIVEIRA, M. R. de; SILVA, G. D. N. F. da; SANTOS, J. G. dos; ISHIHARA, Y M. **Análise Microbiológica de Carne-de-sol Comercializada no Município de Solânea PB**. 2006. Disponível em: http://www.seminagro.com.br/trabalhos_publicados/1jornada/02_ciencia_e_tecnologia_de_alimentos/03cta.pdf. Acesso em: 05 de Jun. de 2010.

TAVARES, W. Bactérias gram-positivas problemas: resistência do estafilococo, do enterococo e do pneumococo aos antimicrobianos. **Revista Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, vol.33 n.3 Uberaba May/June 2000.

THYSSEN, P.J. et al. O Papel de insetos (Blattodea, Diptera e KOPANIC, R.J. et al. Cockroaches as vector of Salmonella:Hymenoptera) como possíveis vetores mecânicos de helmintos, v.57, em ambiente domiciliar e peridomiciliar. **Cadernos de Saúde Pública**, v.20, n.4, p.1096-1102, 2004.

TRIGO, VC. **Manual prático de higiene e sanidade das unidades de alimentação e nutrição**. São Paulo: Livraria Varela; 1999.

TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. 5. ed. São Paulo: Atheneu, 2008. 760 p.

TORRES, S. A.M. **Locais de preparação e comércio de cachorro-quente: avaliação higiênico –sanitária e o ponto de vista do consumidor**. 2008 79f. Dissertação (Pós- Graduação em Economia Doméstica) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

VALENTE, D. **Avaliação higiênico-sanitária e físico-estrutural dos supermercados de Ribeirão Preto- SP**. 2001 150f. Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas)-Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

VASCONCELLOS, M. A. A. et al. **Qualidade higiênico sanitário e Manipuladores de algumas industrias de alimentos do município de João Pessoa**. Disponível em: www.prac.ufpb.br/anais/IXEnex/iniciacao/.../7CTDTQAMT02.pdf. Acesso em 15 de Junho de 2010.

VAZ, E. K. Resistência antimicrobiana: como surge e o que representa para a suinocultura. **Acta Scientiae Veterinariae**. 37(Supl 1): s147-s150, 2009.

VENTURINE, S. K.; SARCINELLI, F. M.; SILVA, S. Processamento da carne bovina. Disponível em: http://www.agais.com/telomc/b02007_processamento_bovinocorte.pdf. Acesso em: 20 de Julho de 2010.

VIEIRA, R.H.S.F; VASCONCELOS, F.R; REBOUÇAS R.H.; EVANGELISTA-BARRETO, N.S; SOUZA de O.V. Perfil de resistência antimicrobiana de *Escherichia coli* isoladas do açude Santo Anastácio, Ceará, Brasil. **Arquivo do Instituto Biológico**, São Paulo, v77, n3, p.-405-410, julh./set., 2010.

VIDAL- MARTINS, A.M.C.; ROSSI, O.D.; REZENDE, N.C.L. Microrganismos heterotróficos mesófilos e bactérias do grupo do *Bacillus cereus* em leite integral submetido a ultra alta temperatura. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.57, n.3, p.396-400, 2005.

WASHINGTON, J.R. et al., **Diagnóstico microbiológico: texto colorido**. Rio de Janeiro: Guanabara koogan, 2008.

ZANDONADI, R.P. et al. Atitudes de risco do consumidor em restaurantes de auto-serviço. **Revista de Nutrição**, v.20 n.1 Campinas Jan./Fev. 2007.