



Qualidade Microbiológica de Salames tipo Colonial Comercializados na Cidade de Concórdia-SC: análise de *Staphylococcus aureus* e *Toxoplasma gondii*

Catia Silene Klein¹
Thais Regina Zotti²
Aldo Gava³
Márcia Regina Pelisser⁴

Introdução

A contaminação microbiológica de alimentos causa preocupação em muitos países, especialmente devido aos elevados índices de doenças veiculadas por alimentos crus, mal preparados e mal conservados.

O salame é um produto que consiste da mistura de carne crua de suíno ou de suíno e bovino, adicionado de toucinho, sais, agentes de cura e temperos, embutido em envoltórios naturais (tripas) ou artificiais (sintéticas), curado, fermentado, maturado, dessecado e submetido ou não a defumação.

No Brasil, a Instrução Normativa n.º 22, de 31/07/2000 regulamenta quanto aos requisitos técnicos de identidade e qualidade para oito tipos de salames, tendo como características diferenciais a matéria prima (espécie animal), a granulometria da carne e do toucinho, a condimentação e o processamento de defumação ou não. De acordo com os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Salame, os oito tipos designados são: Salaminho, Salame tipo Alemão, Salame tipo Calabrês, Salame tipo Friolano, Salame tipo Napolitano, Salame tipo Hamburguês, Salame tipo Italiano e Salame tipo Milano.

Além destes, a mesma legislação define as características de Identidade e Qualidade de Lingüiça Colonial, popularmente denominada Salame tipo Colonial.

De acordo com a IN n.º 22/2000 o produto é designado de Salame, seguido ou não das expressões que caracterizem sua origem ou processo de obtenção.

O produto salame tem como ingredientes obrigatórios a carne suína (mínimo de 60%, exceto para o salame tipo hamburguês, onde o teor permitido é de no mínimo 50%), toucinho, sal, nitrito e/ou nitrato de sódio e/ou potássio. Como ingredientes opcionais pode possuir carne bovina, leite em pó, açúcares, maltodextrinas, proteínas lácteas, aditivos intencionais, vinho, condimentos, aromas e especiarias e substâncias glaceantes (revestimento externo). Ainda, segundo o Decreto n.º 30.691, de 29/03/1952, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), toda a carne usada para elaboração de salames deverá ter sido submetida aos processos de inspeção prescritos no Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA). Na região oeste de Santa Catarina, devido a tradições culturais, é comum a produção de salame tipo colonial nos domicílios ou

¹ Bióloga, MSc., pesquisadora da Embrapa Suínos e Aves – Caixa Postal 21, CEP 89.700-000 - Concórdia, SC. catia@cnpas.embrapa.br

² Graduanda em Química Industrial de Alimentos, Universidade do Contestado – UnC Campus de Concórdia

³ Méd. Veterinário, D.Sc., Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC, Centro de Ciências Agroveterinárias – CAV, Lages, SC

⁴ Bióloga, MSc., professora da Universidade do Contestado – UnC Campus de Concórdia.

em indústrias familiares, onde o produto muitas vezes, é manipulado manualmente.

O *Staphylococcus aureus* é um patógeno importante, agente de uma ampla gama de infecções e veiculado principalmente por alimentos crus, preparados sem condições higiênicas adequadas. Quando o processo é manual, a bactéria é disseminada pelos manipuladores que espirram ou tosse sobre os alimentos, ou que têm ferimentos na pele.

Durante o cozimento ou pasteurização, a bactéria é destruída, mas as toxinas produzidas e secretadas resistem ao calor, permanecem no alimento e ocasionam gastroenterite estafilocócica nos consumidores.

Nesses casos, a doença é ocasionada pela ingestão da enterotoxina e não pela infecção ocasionada pela presença da bactéria. Os sintomas de vômito, diarreia aquosa e dores abdominais são bastante severos, durante um curto período de tempo, tendo duração aproximada de 2 a 24 horas após a ingestão do alimento contaminado, mas a intoxicação raramente é fatal.

A toxoplasmose, transmitida pelo protozoário *Toxoplasma gondii*, é de distribuição mundial, infecta a maioria dos animais de sangue quente, tem como hospedeiro definitivo os felídeos e como hospedeiros intermediários as demais espécies, mas apresenta elevada frequência em humanos. O gato doméstico é considerada a espécie animal chave na transmissão e sobrevivência do *T. gondii*, isto porque no gato ocorre o único ciclo sexual do parasita e oocistos resistentes são excretados pelas fezes que, quando enterradas pelo animal, prolongam a sobrevivência do parasita.

A infecção de animais e seres humanos ocorre através da transmissão transplacentária, carnivorismo e ingestão de água e alimentos mal cozidos ou crus

contaminados, como carnes, frutas e vegetais. O congelamento de -12 a -20°C durante 3 dias e o cozimento da carne em temperatura superior a 66°C inativa os cistos de *T. gondii*.

Entretanto, salienta-se que a contaminação de humanos pelo *T. gondii* pode ocorrer de outras maneiras, como pelo solo, areia de lazer e terra de jardinagem contaminados com oocistos viáveis.

A prevalência de infecção por *T. gondii* em suínos é variável, mas geralmente é superior a 10 ou 20% em muitos países. As modernas criações comerciais de suínos, em instalações fechadas, livres do acesso de gatos e ratos tem reduzido a ocorrência de toxoplasmose em humanos. Porém, suínos mais velhos, com maior tempo de exposição ao *T. gondii* e elevada prevalência em criações domésticas, sem uso de Boas Práticas de Produção (BPPs) e de descarte comercial, ainda são usados na fabricação de salames, lingüiças e embutidos crus que podem servir de fonte dessa infecção.

Geralmente, nos humanos, a toxoplasmose não apresenta sinais clínicos, mas na forma congênita, ocasiona malformação, caracterizada por microcefalia, macrocefalia, calcificação cerebral precoce, hidrocefalia e corioretinite, levando a debilidade mental. A doença pode ainda causar cegueira, aborto e morte perinatal. Em algumas regiões do mundo, 40 a 70% das pessoas adultas apresentam a infecção na ausência da doença. Em todo mundo, cerca de 2 bilhões ou mais de pessoas estão cronicamente infectadas.

Este trabalho teve como objetivo a avaliação da qualidade microbiológica para *S. aureus* e *T. gondii* em amostras de salames tipo colonial comercializadas na cidade de Concórdia-SC.

Materiais e Métodos

Amostras

Seis amostras de salame tipo colonial, sendo uma de cada marca comercial, foram colhidas a cada 15 dias, por 3 vezes, totalizando 18 amostras. As amostras foram colhidas em estabelecimentos comerciais na cidade de Concórdia, SC.

O período de coleta foi de fevereiro a abril de 2006. Durante a coleta das amostras foi observado o prazo de validade e o número de lote dos produtos, afim de evitar repetições. Cinco marcas dos produtos analisados eram fiscalizadas pelo Sistema de Inspeção Estadual (SIE) e uma pelo Sistema de Inspeção Municipal (SIM), sendo denominadas A, B, C, D, E (SIE) e F (SIM).

As amostras foram submetidas a análises para quantificação de *S. aureus* e para detecção de cistos teciduais/bradizoítos e taquizoítos de *T. gondii*.

Análises laboratoriais

As análises para quantificação de *S. aureus* e digestão enzimática para liberação de cistos teciduais/bradizoítos e taquizoítos de *T. gondii*, se presentes nas amostras de salame, foram realizadas nos Laboratórios de Microbiologia da Universidade do Contestado e no Laboratório de Sanidade Animal da Embrapa Suínos e Aves, ambos em Concórdia-SC. O método de detecção de *S. aureus* foi o isolamento bacteriológico segundo Silva et al. (1997).

O exame microscópico para análise de lesões e pesquisa de taquizoítos de *T. gondii*, dos órgãos dos camundongos, foi efetuado no laboratório de Patologia do CAV/UDESC em Lages-SC. Para isso, as amostras de salame foram submetidas ao método de digestão enzimática para liberação de cistos teciduais/bradizoítos e taquizoítos segundo Dubey (1998).

Bioensaio

O bioensaio para detecção de lesões (cistos e taquizoítos), em camundongos, foi segundo Santos et al. (2005). De cada amostra de salame foi realizada inoculação intraperitoneal em 3 camundongos, totalizando 54, com idade entre 3 e 4 semanas, indiferente de sexo.

Os camundongos foram observados diariamente e, após 3-4 semanas, um de cada amostra foi sacrificado para coleta de órgãos (coração, rim, fígado, intestino e cérebro). Destes órgãos foram efetuadas lâminas de esfregaço com coloração de Giemsa e também foram fixados em formalina 10% para coloração de Hematoxilina e Eosina. As lâminas foram visualizadas em microscopia para exame histológico de cistos e taquizoítos de *T. gondii* nos órgãos.

Resultados e Discussão

Contaminação por *S. aureus*

Das 18 amostras analisadas, 15 delas (83,33%) apresentaram contagem bacteriana para *S. aureus* coagulase positiva (Tabela 1). Destas, 9 amostras (50%) estavam acima do limite estabelecido, estando em desacordo com a Resolução RDC No. 12 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), de 02 de janeiro de 2001, que permite até 5×10^3 UFC/g em produtos cárneos maturados, indicando que a produção de salames, das marcas analisadas, é feita sob condições precárias de higiene durante a manipulação/fabricação.

Outros estudos microbiológicos em salames, na mesma região pesquisada, já indicavam a elevada contaminação estafilocócica e alertavam sobre a necessidade de maior rigor na fiscalização pelos órgãos competentes e, principalmente, nas práticas. O principal transmissor deste tipo de contaminação é o homem, uma vez que esta bactéria está

presente nas fossas nasais e feridas na pele dos manipuladores.

Uma pesquisa, em Santa Maria-RS, detectou a presença de um ou mais dos microrganismos pesquisados em 85% das amostras de salames coloniais comercializadas, sendo 45% com contaminação por *S. aureus*. Nos Estados Unidos, anualmente, entre 1 e 2 milhões de pessoas são acometidas por gastroenterite estafilocócica, sobretudo pelo consumo de produtos de origem animal.

Contaminação por *T. gondii*

Todas as 18 amostras de salame, analisadas neste estudo, apresentaram resultados negativos para a presença de lesões (cistos e taquizoítos) de *T. gondii* no bioensaio em camundongos.

A ausência de *T. gondii* nas amostras analisadas indica que os suínos que deram origem à matéria prima, usada na fabricação dos salames, foram produzidos de forma adequada, impedindo a contaminação pelo protozoário. Outro fator pode ser a presença de sais de cura e o processo de defumação que diminuem a viabilidade dos cistos, o que pode explicar o resultado obtido pelo fato que as amostras eram de salames curados e defumados, e não frescal.

Em Londrina-PR, a análise da massa de salame frescal, coletada até 30 minutos após o preparo, demonstrou que em apenas 01 (de 149) amostra houve isolamento do parasita viável. Outras 13 amostras apresentaram sorologia positiva no bioensaio em camundongos. Em outro estudo desenvolvido em Botucatu-SP, com 70 amostras de salame frescal, foi detectado o DNA de *T. gondii* em 33 amostras, mas as mesmas foram negativas no bioensaio, indicando a dificuldade de obtenção de resultados positivos a partir desta técnica.

É importante ressaltar que resultados positivos de sorologia no bioensaio podem não representar infecção, mas resposta imune do

camundongo ao parasita inviável (morto). Do mesmo modo, a detecção de DNA do parasita em amostras de salame não representa a viabilidade do agente, uma vez que o DNA é detectado mesmo o parasita estando inviável. Portanto, o teste mais adequado para análise de risco de infecção, por ingestão de alimentos, é o de isolamento do agente e/ou de análise de lesões da doença no bioensaio.

Em Erechim-RS, município próximo a Concórdia-SC, 184 de 1.042 (17%) humanos adultos pesquisados apresentaram lesões oculares, provavelmente, causadas por *T. gondii*. Na região, a prevalência em humanos é 30 vezes maior do que as demais regiões nas mesmas condições.

Considerações Finais

Todas as marcas de salame tipo coloniais analisadas apresentaram pelo menos uma amostra com valor de contaminação por *S. aureus* acima do permitido pela legislação vigente.

Os resultados de contaminação por *S. aureus* indicam que há problemas higiênicos na produção do salame tipo colonial e, por isso, recomenda-se maior rigor na fiscalização pelos órgãos competentes, uma vez que o produto é muito consumido *in natura*, representando uma importante via de transmissão de patógenos e toxinfecções alimentares.

O consumo de salames tipo colonial curados e defumados não representou uma fonte de transmissão do *T. gondii*. Entretanto, novos estudos para detecção do parasita viável devem ser realizados, levando-se em conta uma metodologia mais sensível, específica, de fácil execução e interpretação.

Por outro lado, os processadores de produtos de origem animal devem buscar aperfeiçoamento e orientação higiênica e sanitária na produção de alimentos destinados ao consumo humano, reduzindo assim os riscos à saúde da população.

Para reduzir as possibilidades de contaminação durante o processo de fabricação de salames tipo colonial, recomenda-se a observância de Boas Práticas de Produção (BPPs), de

Fabricação (BPFs) e atender às exigências dos órgãos fiscalizadores como os Serviços de Inspeção Federal (SIF), SIE, SIM, MAPA/RIISPOA e ANVISA.

Tabela 1. Contagens e percentual de confirmação de colônias de *Staphylococcus aureus* em amostras de salame tipo colonial

Marcas	Coletas	Colônias Confirmadas (UFC/g)	Confirmação (%)	RDC no. 12 (ANVISA)
A	1 ^a coleta	3,6 x 10 ⁵	100	Não aceito
	2 ^a coleta	<10	0	Aceito
	3 ^a coleta	8 x 10 ²	100	Aceito
B	1 ^a coleta	3,7 x 10 ⁴	100	Não aceito
	2 ^a coleta	7 x 10 ²	100	Aceito
	3 ^a coleta	1,5 x 10 ³	100	Aceito
C	1 ^a coleta	1,3 x 10 ⁵	40	Não aceito
	2 ^a coleta	6 x 10 ²	100	Aceito
	3 ^a coleta	<10	0	Aceito
D	1 ^a coleta	4,2 x 10 ⁴	100	Não aceito
	2 ^a coleta	4 x 10 ²	80	Aceito
	3 ^a coleta	<10	0	Aceito
E	1 ^a coleta	1 x 10 ³	20	Aceito
	2 ^a coleta	9,6 x 10 ⁵	80	Não aceito
	3 ^a coleta	1,1 x 10 ⁵	100	Não aceito
F	1 ^a coleta	5,6 x 10 ⁴	80	Não aceito
	2 ^a coleta	1,8 x 10 ⁶	100	Não aceito
	3 ^a coleta	1,5 x 10 ⁵	100	Não aceito

5. Referências Bibliográficas

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, de 10 de janeiro de 2001. Disponível em: <<http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/>>. Acesso em: 20 set. 2006.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA. Instrução normativa n. 22, de 31 de julho de 2000. Regulamentos técnicos de identidade e qualidade de salame tipo italiano. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, de 03 de agosto de 2000. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do>>. Acesso em 18 dez. 2006.

DIAS, R. A. F.; NAVARRO, I. T.; RUFFOLO, B. B.; BUGNI, F. M. CASTRO, M. V.; FREIRE, R. L. *Toxoplasma gondii* in fresh pork sausage and seroprevalence in butchers from factories in Londrina, Paraná state, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v.47, n.4, p.185-189, 2005.

DUBEY, J. P. Toxoplasmosis. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.189, n.2, p.166-170, 1986.

DUBEY, J. P. Refinement of pepsin digestion method for isolation of *Toxoplasma gondii* from infected tissues. **Veterinary Parasitology**, v.74, p.75-77, 1998.

DUBEY, J. P.; URBAN, J. F.; DAVES, S. W. Protective immunity to toxoplasmosis in pigs vaccinated with a nonpersistent strain of *Toxoplasma gondii*. **American Journal of Veterinary Research**, v.52, p.1316-1319, 1991.

DUBEY, J. P. Sources of *Toxoplasma gondii* infections in pregnancy. Until rates of congenital toxoplasmosis fall, control measures are essential. **British Medical Journal**, v.321, p.127-128, 2000.

FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1999. 182p.

GILBERT, R.; COOK, A.; DUNN, D. Sources of *Toxoplasma* infection in pregnant women: a European multicenter case-control study. **British Medical Journal**, v.312, p. 142-147, 2000.

GLASNER, P. D.; SILVEIRA, C.; KRUSZON-MORAN, D.; MARTINS, M. C.; BURNIER JUNIOR, M.; SILVEIRA, S.; CAMARGO, M.E.; NUSSENBLATT, R.B.; KASLOW, R.A.; BELFORT JUNIOR, R. An unusually high prevalence of ocular toxoplasmosis in southern Brazil. **American Journal of Ophthalmology**, v.114, p.136-144, 1992.

HAZELWOOD, D.; McLEAN, A. C. **Manual de higiene para manipuladores de alimentos**. São Paulo: Varela, 1998. 140p.

JAY, J. M. **Microbiologia de alimentos**. 6 ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 712p.

KAWAZOE, U. *Toxoplasma gondii*. In: NEVES, D. P.; MELO, A. L.; GENARO, O.; LINARDI, P.M. **Parasitologia humana**. 9. ed. São Paulo: Atheneu, 1998. p.174-187.

LOBO, M. V.; UGALDE, M. G.; FRIES, L. L. M.; KUBOTA, E. H. Avaliação microbiológica de salames coloniais comercializados no município de Santa Maria-RS. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v.88, n.15, p.57-61, 2001.

MAGRO, G. R. **Avaliação microbiológica dos salames coloniais comercializados no município de Concórdia/SC**. 2004, 41p. Monografia - Universidade do Contestado, Concórdia, SC.

SANTOS, C. B. A.; CARVALHO, A. C. F. B.; RAGOZO, A. M. A.; SOARES, R. M.; AMAKU, M.; YAI, L. E. O.; DUBEY, J. P.; GENNARI, S. M. First isolation and molecular characterization of *Toxoplasma gondii* from finishing pigs from São Paulo, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.131, p.207-211, 2005.

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

SILVEIRA, C. A. M. **Toxoplasmose: dúvidas e controvérsias**. Erechim: EdiFAPES, 2002. 152p.

TERRA, A.; FRIES, L. L.; TERRA, N. **Particularidades na fabricação de salame**. São Paulo: Livraria Varela, 2004. 152p.

VIOTT, A.; STOLBERG J.; PELISSER, M. R. Qualidade microbiológica e físico-química de salames tipo coloniais da região do Alto Uruguai Catarinense. **Higiene Alimentar**, v.20, n.138, p.78-82, 2006.

Comunicado Técnico, 446

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento



Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:
Embrapa Suínos e Aves
Endereço: Br 153, Km 110,
Distrito de Tamanduá,
Caixa postal 21,
89700-000, Concórdia, SC
Fone: 49 3441 0400
Fax: 49 3442 8559
E-mail: sac@cnpsa.embrapa.br

1ª edição
1ª impressão (2006): tiragem: 100

Comitê de Publicações

Presidente: Cláudio Bellaver
Membros: Teresinha M. Bertol, Cícero J. Monticelli, Gerson N. Scheuermann, Airtton Kunz, Valéria M. N. Abreu
Suplente: Arlei Coldebella

Revisores Técnicos

Cícero J. Monticelli, Irene Z.P. Camera, Teresinha M. Bertol, Nelson Morés

Expediente

Supervisão editorial: Tânia M. B. Celant
Editoração eletrônica: Kênia Cristiane Wollinger
Foto: Catia Silene Klein