

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA  
DOS ALIMENTOS**

***SALMONELLA* E OUTRAS ENTEROBACTÉRIAS NAS  
ETAPAS DE PÓS-COLHEITA E BENEFICIAMENTO  
DO AMENDOIM**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**Angélica Olivier Bernardi**

**Santa Maria, RS, Brasil,**

**2015**

**SALMONELLA E OUTRAS ENTEROBACTÉRIAS NAS ETAPAS DE  
PÓS-COLHEITA E BENEFICIAMENTO DO AMENDOIM**

**Angélica Olivier Bernardi**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Área de Concentração em Qualidade de Alimentos, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.**

**Orientador: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Marina Venturini Copetti**

**Santa Maria, RS, Brasil,**

**2015**

**Universidade Federal De Santa Maria  
Centro De Ciências Rurais  
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Dos Alimentos**

**A Comissão Organizadora, abaixo assinada,  
aprova a Dissertação de Mestrado,**

***SALMONELLA E OUTRAS ENTEROBACTÉRIAS NAS ETAPAS DE  
PÓS-COLHEITA E BENEFICIAMENTO DO AMENDOIM***

elaborada por

**Angélica Olivier Bernardi**

como requisito parcial para obtenção do grau de  
**Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos**

**COMISSÃO EXAMINADORA**

---

Marina Venturini Copetti, Dr.<sup>a</sup> (UFSM)  
(Presidente/Orientadora)

---

Cristiano Ragagnin de Menezes, Dr. (UFSM)

---

Meg da Silva Fernandes, Dr.<sup>a</sup> (UEL)

---

Cláudia Severo da Rosa, Dr.<sup>a</sup> (UFSM)

Santa Maria, 13 de agosto de 2015.

Dedico este trabalho  
aos meus pais,  
meus primeiros orientadores

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus pela vida e por todas as oportunidades a mim concedidas até hoje.

Aos meus pais, José e Patrícia pelo amor e apoio incondicional, obrigada por me colocarem no rumo certo, ao meu irmão Bruno por ser um irmão tão bom e a toda minha família que me apoia sempre, meu carinho e meu amor a todos vocês.

A minha orientadora Professora Marina, não podia ter escolhido um caminho e uma orientadora melhor, agradeço sempre por você ter me dado oportunidades maravilhosas de crescimento profissional e pessoal, obrigada por ter confiado em mim e me feito acreditar bem mais na minha capacidade.

A minha co-orientadora neste trabalho e hoje Professora, Maristela Nascimento, por ter me acolhido tão bem e por ter tido a paciência de me mostrar e ensinar o novo.

Aos estagiários da microbiologia, Dennis, Eduardo e Izabel, sem vocês esse experimento também não seria possível, meu enorme muito obrigada a vocês e ao Instituto de Tecnologia em Alimentos, ITAL, em especial o Laboratório de Microbiologia, por terem me concedido oportunidade de estágio e realização dos experimentos.

Aos meus colegas de Laboratório de Micologia de Alimentos da UFSM, pelas conversas, pelo apoio, pela troca de ensinamentos, com certeza aprendemos mais uns com os outros.

A minha amiga e colega Évelin, por ter dividido desde o meu primeiro meio de cultura até minha maior experiência de vida até hoje, obrigada pelos momentos que juntos dividimos em Campinas, SP. Ao Marcelo, por ter sido tão bom colega e tão bom amigo, Marce, uma parte disso tudo é sua também! Obrigada pela tua amizade e pelo teu carinho em me ajudar sempre.

Ao meu namorado Luzardo, amor, você foi meu maior colaborador no momento em que eu mais precisava, obrigada, te amo!

Aos meus bons e velhos amigos, em especial, Fabrine, Precyla, Lana, Diego, Rafa Seibert, Amanda e Thaís, dedico este trabalho para vocês, que me apoiam, me escutam e muitas vezes não me deixam desistir.

A Fapesp e a CAPES, pelo apoio financeiro.

“O fim depende do início.”  
*O Clube do Imperador*

## RESUMO

Dissertação de Mestrado  
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos  
Universidade Federal de Santa Maria

### **SALMONELLA E OUTRAS ENTEROBACTÉRIAS NAS ETAPAS DE PÓS-COLHEITA E BENEFICIAMENTO DO AMENDOIM**

AUTORA: ANGÉLICA OLIVIER BERNARDI

ORIENTADORA: MARINA VENTURINI COPETTI

Data e Local da Apresentação: Santa Maria, 13 de agosto de 2015.

Em anos recentes, o amendoim tem sido considerado um produto de risco potencial para infecção por *Salmonella* sp. devido aos inúmeros surtos relatados envolvendo produtos à base de amendoim, contudo, ainda são escassas as informações disponíveis na literatura sobre a ocorrência de *Salmonella* sp. nas etapas de pós-colheita e beneficiamento do amendoim. O presente trabalho tem como objetivo determinar a prevalência de enterobactérias, coliformes totais, *Escherichia coli* e *Salmonella* sp. durante as etapas de pós-colheita e beneficiamento do amendoim. Foram analisadas 60 amostras de produtores dos Estados de São Paulo, Minas Gerais e Bahia envolvendo as etapas de arranquio do solo, enleiramento e despencamento da planta e 60 amostras a partir de 4 plantas beneficiadoras do Estado de São Paulo, englobando amostras de etapas de secagem, debulhado, seleção e blanchado. A pesquisa de *Salmonella* foi realizada em 250g de amostra por método de imunoensaio, utilizando o sistema Mini-Vidas. Para a análise de enterobactérias, utilizou-se o meio de cultura Ágar Vermelho Violeta Bile com Glicose (VRBG) e para contagem de coliformes totais e *E. coli*, Petrifilm. Além das análises microbiológicas também foram verificados o pH e a atividade de água (aw) das amostras. Com relação às análises microbiológicas, as amostras apresentaram altas contagens de enterobactérias, 6,62 a 8,46 log UFC/g na etapa de arranquio, 5,18 a 8,36 log UFC/g no enleiramento e 7,31 a 8,82 log UFC/g no despencamento. A etapa de enleiramento apresentou as menores contagens de coliformes totais (3,68 a 6,01 log UFC/g) seguida pelo despencamento (4,32 a 6,33 log UFC/g) e arranquio (5,38 a 6,82 log UFC/g). Duas amostras apresentaram contaminação por *E. coli*, sendo uma amostra da etapa de enleiramento (2 log UFC/g) e uma da etapa de despencamento (4 log UFC/g). Seis amostras apresentaram contaminação por *Salmonella* sp., sendo uma amostra da etapa de arranquio de SP (0,064 NMP/g) e cinco da etapa de despencamento (duas de São Paulo – 0,004 NMP/g e três de Minas Gerais - 0,037 a 0,092 NMP/g). A etapa de beneficiamento que apresentou a menor contagem de enterobactérias foi a de blanchado (1,71-2,81 log UFC/g). As análises de coliformes foram semelhante às de enterobactérias, maiores resultados na etapa anterior a secagem (2,28 a 4,78 log UFC/g) e menores na etapa de blanchado (1 a 1,60 log UFC/g), não houve contaminação por *E. coli* em nenhuma das análises durante as etapas de beneficiamento. Duas amostras na etapa de secagem apresentaram contagem de *Salmonella* sp. (0,004 a 0,004 NMP/g). Os resultados obtidos demonstram que pode haver contaminação do amendoim por *Salmonella* sp. antes do seu beneficiamento, isto reforça a importância do emprego de programas de boas práticas agrícolas e de fabricação para prevenir a presença deste importante patógeno no produto final.

PALAVRAS-CHAVE: *Salmonella*. Amendoim. Segurança alimentar.

## ABSTRACT

Dissertação de Mestrado  
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos  
Universidade Federal de Santa Maria

### **SALMONELLA AND OTHER ENTEROBACTERIA IN POST-HARVEST STAGES AND PEANUT PROCESSING**

AUTORA: ANGÉLICA OLIVIER BERNARDI  
ORIENTADORA: MARINA VENTURINI COPETTI  
Data e Local da Apresentação: Santa Maria, 13 de agosto de 2015.

In recent years, peanut has been considered a potential product for *Salmonella* infection. due to numerous reported outbreaks involving peanut products to the base, however, there is still little information available in the literature on the occurrence of *Salmonella* sp. in post-harvest processing steps and peanuts. This study aims to determine the prevalence of enterobacteria, coliforms, *Escherichia coli* and *Salmonella* sp. during the stages of post-harvest and processing of peanuts. We analyzed 60 samples of producers in the states of São Paulo, Minas Gerais and Bahia involving the steps of pull out, sun drying and picking of the plant and 60 samples from 4 hulling plant in the state of São Paulo, comprising drying steps samples, thrashed, selection and blanchado. The *Salmonella* survey was conducted in 250 g sample by immunoassay method using the Mini-Vidas system. For enterobacteria analysis, we used the means of Violet Red Bile Agar Glucose (VRBG) and for total coliforms and *E. coli* Petrifilm. In addition to the microbiological analyzes were also checked the pH and water activity (aw) of the samples. Regarding the microbiological testing, the samples showed high counts of enterobacteria, 6.62 to 8.46 log CFU/g at pull out stage, from 5.18 to 8.36 log CFU/g in sun drying and from 7.31 to 8, 82 log CFU/g in picking. The sun drying stage had the lowest total coliform counts (from 3.68 to 6.01 log CFU/g) followed by picking (from 4.32 to 6.33 log CFU/g) and pull out (5.38 to 6.82 log CFU/g). Two samples showed contamination by *E. coli* and a sample of the bunching step (2 log CFU/g) and a picking of step (4 log CFU/g). Six samples were contaminated by *Salmonella* sp, and a sample of the pull out stage of SP (0.064 MPN/g) and five from picking of step (Two of São Paulo – 0.004 MPN/g and three of Minas Gerais - 0.037 to 0.092 MPN/g). The processing step that had the lowest enterobacteria count was to the blanchamento (1.71 to 2.81 log CFU/g). The analyzes were similar to those of coliform enterobacteria, results in higher drying previous step (2.28 to 4.78 log CFU/g) and smaller blanchamento in step (1 to 1.60 CFU/g log), there was *E. coli* contamination in any of the analyzes during processing stages. Two samples showed the drying step count of *Salmonella* sp. (0.004 to 0.004 MPN/g). The results show that there may be peanut contamination by *Salmonella* sp. prior to processing, this reinforces the importance of employing good agricultural practices and manufacturing programs to prevent the presence of this important pathogen in the final product.

KEYWORDS: *Salmonella*. Peanuts. Food security.



## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Atividade de água ( <i>A<sub>w</sub></i> ) e pH por Estado produtor das amostras de pós-colheita do amendoim à campo.....	37
Tabela 2: Contagens de enterobactérias, coliformes totais e <i>Escherichia coli</i> por Estado produtor, das amostras das etapas de pós-colheita do amendoim. ....	38
Tabela 3: Resultados da pesquisa de <i>Salmonella</i> sp. por Estado produtor das etapas de pós-colheita do amendoim.....	41
Tabela 4: Atividade de água ( <i>A<sub>w</sub></i> ) e pH das amostras de amendoim por beneficiador coletadas nas etapas de beneficiamento do amendoim.....	44
Tabela 5: Contagens de Enterobactérias, coliformes e <i>Escherichia coli</i> das amostras por beneficiador das etapas de beneficiamento do amendoim.....	45
Tabela 6: Resultados da pesquisa de <i>Salmonella</i> sp. por beneficiador nas etapas de beneficiamento do amendoim.....	46

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Esquema da amostragem para análise de <i>Salmonella</i> sp. em 250 g. ....	34
--	----

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	11
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	14
<b>2.1 Amendoim</b> .....	14
<b>2.2 Sistema de produção</b> .....	16
2.2.1 Arranquio .....	16
2.2.2 Enleiramento .....	16
2.2.3 Despencamento, pré-limpeza e ensacamento.....	17
<b>2.3 Beneficiamento do amendoim</b> .....	17
<b>2.4 Qualidade sanitária do amendoim</b> .....	18
<b>2.5 Segurança de alimentos</b> .....	19
<b>2.6 Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA's)</b> .....	20
<b>2.7 Indicadores microbiológicos de segurança dos alimentos</b> .....	22
2.7.1 Coliformes totais.....	22
2.7.2 Coliformes termotolerantes e <i>Escherichia coli</i> .....	23
<b>2.8 Bactérias patogênicas de origem alimentar</b> .....	23
2.8.1 <i>Escherichia coli</i> .....	24
2.8.2 <i>Salmonella sp.</i> .....	25
<b>2.9 <i>Salmonella</i> em produtos de baixa atividade de água</b> .....	27
<b>2.10 <i>Salmonella</i> em produtos de amendoim</b> .....	29
<b>3 OBJETIVOS</b> .....	32
<b>3.1 Objetivo geral</b> .....	32
<b>3.2 Objetivos específicos</b> .....	32
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	33
<b>4.1 Material</b> .....	33
<b>4.2 Procedimento experimental</b> .....	33
4.2.1 Coleta das amostras .....	33
4.2.2 Análise microbiológica .....	35
4.2.3 Contagem de enterobactérias totais.....	35
4.2.4 Contagem de coliformes totais e <i>Escherichia coli</i> .....	35
4.2.5 <i>Salmonella sp.</i> .....	35
4.2.6 Análise de atividade de água e pH .....	36
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	37
<b>5.1 Amostras de campo</b> .....	37
<b>5.2 Amostras de beneficiamento</b> .....	44
<b>6 CONCLUSÃO</b> .....	49
<b>7 CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	50
<b>8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	51

# 1 INTRODUÇÃO

O amendoim (*Arachis hypogaea L.*) é uma das principais oleaginosas cultivadas no Brasil e no mundo. É considerada uma das mais importantes culturas, juntamente com o feijão e a soja. Possui grande atrativo como alimento e excelentes propriedades nutricionais. Suas sementes possuem valores satisfatórios em vitaminas e minerais, além de serem ricas em óleo (aproximadamente 50%) e proteína (22 a 30%). O principal produto obtido a partir do beneficiamento do amendoim é o óleo, o qual é empregado na alimentação humana, na indústria de conservas e em produtos medicinais. Além do óleo, este cereal é utilizado como matéria-prima para elaboração de vários produtos alimentícios, incluindo manteiga, pasta, doces, confeitos, *snacks* e para alimentação animal (EMBRAPA, 2006).

Em 2013, o Brasil produziu 192 mil toneladas de amendoim, o que representou um aumento de 4,9% em relação ao ano anterior (ABICAB, 2014). O Sudeste é a maior região produtora do país, sendo liderado pelo Estado de São Paulo responsável por 80% da produção nacional (EMBRAPA, 2013). A segunda região com maior área de amendoim plantado é a do Nordeste, com cerca de 15% (BRASIL, 2012). A qualidade do amendoim pode comprometer a saúde dos consumidores através da veiculação de patógenos. A contaminação pode ocorrer durante diferentes etapas, desde o plantio até o processamento dos produtos industrializados.

O amendoim tem sido amplamente estudado com relação à contaminação por fungos micotoxigênicos e micotoxinas, em especial aflatoxinas (GONÇALES, et al., 2008; NAKAI et al., 2008; MUTEGLI, et al., 2013; PITT, TANIWAKI & COLE, 2013; SCHWARTZ & BROWN, 2015). Entretanto não foram encontrados relatos na literatura quanto à pesquisa e ocorrência de *Salmonella* sp. nas etapas iniciais de pré-processamento e beneficiamento do produto. Os poucos dados existentes são de amostras coletadas no mercado varejista ou envolvidas em surtos de salmonelose ocorridos no exterior (KIRK et al., 2004).

A *Salmonella* é um importante patógeno de veiculação alimentar que causa diarreia, febre e dor abdominal (CDC, 2012). Ela pode ser encontrada em diferentes tipos de alimentos, sendo que o amendoim encontra-se entre a categoria que corresponde a 13% dos surtos da doença, assim como as nozes e frutas (CDC, 2011). A salmonelose é uma infecção que se manifesta de forma rápida, cerca de 8 a 48 horas a partir da ingestão da *Salmonella*. Além das formas tradicionais de infecção por *Salmonella* a partir de produtos de origem animal,

sobretudo ovos e carne de frango, este patógeno cada vez mais tem sido descrito e investigado em surtos envolvendo produtos de origem vegetal, com destaque a categorias de alimentos que apresentam baixa atividade de água e alto conteúdo de gordura, como o amendoim (SHACHAR & YARON, 2006; GURTLER, et al., 2015).

Os surtos de salmonelose relacionados ao amendoim ocorrem mais frequentemente quando esta oleaginosa é utilizada como ingrediente em produtos como pasta de amendoim, torrões, *snacks* doces e salgados. Ressalta-se ainda que surtos alimentares gerados por ingredientes são um desafio à detecção e podem levar a contaminação generalizada de diversos produtos alimentares (SHACHAR & YARON, 2006).

Diferentes surtos de salmonelose envolvendo produtos de amendoim têm sido reportados na literatura internacional. Em 2006, nos Estados Unidos, 100 pessoas foram contaminadas com *Salmonella* devido ao consumo de amendoim cozido (MARLER, 2011). Entre o final de 2006 e início de 2007, também nos Estados Unidos, 627 pessoas contraíram salmonelose ao ingerirem manteiga de amendoim (CDC, 2007). Já no maior surto ocorrido entre 2008 e 2009, foram relatados 714 casos nos Estados Unidos, com 9 óbitos, envolvendo o mesmo alimento (CDC, 2011). Em 2012, ainda nos Estados Unidos, foram recolhidos vários alimentos à base de amendoim contaminados com *Salmonella* (FDA, 2012). Apesar dos surtos relatados, desconhecem-se os momentos críticos para a entrada da *Salmonella* em alimentos à base de amendoim.

Portanto, este estudo trata-se de um trabalho inédito, que vem atender a carência de informações sobre identificação de possíveis pontos de contaminação por *Salmonella* sp. ao longo da cadeia produtiva do amendoim. Além disso, os resultados obtidos nesse trabalho serão utilizados pelo Comitê de Higiene de Alimentos da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) junto ao *Codex Alimentarius*, como referência científica para embasar a elaboração de um novo código de práticas higiênicas para produtos de baixa atividade de água.

# 1 REVISÃO DE LITERATURA

## 1.1 Amendoim

O amendoim (*Arachis hypogaea* L.) é uma planta herbácea, ramificada, de porte ereto e pequeno, da família *Fabacea*. Originário da América do Sul, o amendoim tem como grupos morfológicos as subespécies *hypogaea* e *fastigiata*, que apresentam hábitos diferentes de florescimento. É uma planta anual e seu ciclo varia de 90 a 120 dias conforme a cultivar. O amendoim da subespécie *hypogaea*, com hábito de crescimento rasteiro, tem o ciclo maior que o da *fastigiata* e é comum nos Estados de São Paulo e Minas Gerais, onde as condições climáticas fornecem mais condições de desenvolvimento para esta subespécie, já a segunda, *fastigiata*, que possui porte ereto, é comum da região da Bahia, onde a disponibilidade hídrica é mais escassa (SANTOS, 2007; KASAI & DEUBER, 2011).

De maneira geral, o amendoim, apresenta raízes com nódulos, devido às bactérias fixadoras de nitrogênio e pode ser cultivado com diversas condições edafoclimáticas, obtendo seu maior rendimento em função da variedade e das relações temperatura/disponibilidade hídrica (SANTOS, 2007). É uma leguminosa com processo especial de frutificação, denominado geocarpia, que consiste na produção de fruto subterrâneo após fecundação da flor aérea (GONÇALVES et al., 2004).

As cultivares comerciais apresentam teores de óleo bruto que variam de 43 a 56% nas sementes, além de ser uma excelente fonte de proteínas (25 a 28%), sendo considerada uma fonte de caloria barata (MILANI et al., 2008; SANTOS et al., 2010; KASAI & DEUBER, 2011). O amendoim é um produto que pode ser consumido como alimento *in natura* ou industrializado, estando associado à cadeia produtiva de doces, salgados e confeitos (KASAI & DEUBER, 2011).

O amendoim é considerado a quarta oleaginosa mais cultivada no mundo, com cerca de 23 milhões de hectares plantados e com uma produção a nível mundial de 36 milhões de toneladas por ano (FAO, 2011). A China ocupa a primeira posição na produção e consumo de amendoim sendo responsável por cerca de 43% do montante produzido no mundo, seguido da

Índia e dos Estados Unidos. Juntos os três países detém 80% da produção mundial de amendoim (USDA, 2010; FAO, 2011).

No Brasil o amendoim tem sido cultivado há décadas, sendo uma cultura muito explorada, tanto para comércio interno quanto para exportação. O país figurou entre os maiores produtores mundiais com 700 mil ha plantados e uma produção de grãos na ordem de 900 toneladas. Porém a partir da década de 70 diversos fatores promoveram o declínio da produção, tais como: a crise mundial do petróleo, o incentivo à produção de soja, a falta de tecnologia para o manejo adequado da cultura, problemas com ocorrência de aflatoxinas nos grãos, etc., ocasionando um crescente custo de produção associado com baixos rendimentos (FREITAS et al., 2005).

O soerguimento da cultura do amendoim no Brasil ocorreu na virada do século XXI, com o aumento da área plantada que atingiu 93,9 mil ha, possibilitado pela oferta de cultivares melhorados, investimentos em tecnologias e melhoria na qualidade dos grãos destinados ao consumo, melhorando a credibilidade do produto brasileiro frente aos mercados nacionais e internacionais (MELO FILHO & SANTOS, 2010; CONAB, 2012). O Brasil é o terceiro maior produtor de amendoim das Américas, ficando atrás dos Estados Unidos e Argentina. O consumo anual médio *per capita* brasileiro é de 0,8 Kg/habitante (ABICAB, 2013).

São Paulo destaca-se como o maior Estado produtor, seguido por Minas Gerais e Paraná. A região sudeste foi a maior produtora de amendoim, no ano de 2012, com 271,3 mil toneladas, 92% da produção nacional, sendo destes, 75,9 mil ha (80,8%) produzidos somente no Estado de São Paulo, segundo os últimos dados disponíveis (CONAB, 2012). O sudeste brasileiro também é o maior consumidor de amendoim produzido por seus estados, 85% na forma de doces e salgados. Parte é exportada *in natura*, com e sem pele, e também na forma de óleo cru (KASAI & DEUBER, 2011). O amendoim produzido na região sudeste utiliza um sistema de produção bem consolidado, com padrões de produção pautados pela inovação, inserção de tecnologias de plantio e colheita, produtividade e qualidade do produto final (BARBOSA et al., 2014).

A região nordeste é o segundo maior polo consumidor de amendoim do Brasil, com uma demanda regional que ultrapassa 50 mil toneladas de vagens/ano (SANTOS et al., 2005). O Estado da Bahia, que é o principal produtor regional com 80% da área cultivada do

Nordeste (IBGE, 2010), é o maior polo consumidor, seguido de Pernambuco (SANTOS et al., 2007).

Para estas regiões onde as adversidades climáticas são expressivas, o amendoim surge como uma alternativa agrícola viável devido ao seu fácil manejo, ciclo curto e mercado receptivo. O cultivo de amendoim no Nordeste é praticado basicamente por pequenos produtores, cujas atividades de manejo são desenvolvidas pela própria família, que procedem ao cultivo de forma solteira ou consorciada com o milho, no período das águas (SANTOS et al., 2005).

## **1.2 Sistema de produção**

A cadeia produtiva do amendoim abrange três grandes etapas: produção agrícola, beneficiamento e industrialização. Os processos de colheita e pós-colheita compreendem as operações de arranquio, enleiramento, secagem, despencamento das vagens, pré-limpeza e ensacamento.

### **1.2.1 Arranquio**

A primeira etapa da colheita é denominada arranquio, que é caracterizada pela passagem de equipamento arrancador/invertedor, que arranca e inverte as plantas, no caso dos Estados de São Paulo e Minas Gerais, e feito de forma manual no Estado da Bahia. Esta etapa é feita no momento em que a maioria das vagens atingiu a maturidade fisiológica, quando pelo menos 70% das vagens adquirem coloração característica (BARBOSA et al., 2014).

### **1.2.2 Enleiramento**

Nesta etapa as plantas então arrancadas e invertidas formam leiras, as quais ficam com as vagens expostas ao sol por período médio de 4 dias para redução da umidade das vagens e grãos (BARBOSA et al., 2014). O enleiramento é uma das principais fases descrita em manuais de boas práticas agrícolas para cultivo de amendoim para se reduzir a contaminação



por aflatoxinas (EMBRAPA, 2008), porém não existem em manuais, práticas para evitar a contaminação do amendoim por bactérias patogênicas como no caso da *Salmonella*.

### 1.2.3 Despencamento, pré-limpeza e ensacamento

Nesta etapa realiza-se a colheita propriamente dita, caracterizada pelo recolhimento das leiras por máquina recolhedora no caso do Sudeste ou de forma manual como no Nordeste. As vagens são trilhadas, separadas, limpas e armazenadas no tanque graneleiro, as quais serão transferidas para caminhões, antes ou depois de serem ensacadas no próprio campo e transportadas até a indústria beneficiadora (BARBOSA et al., 2014). De acordo com a legislação brasileira vigente, o limite de umidade do amendoim cru descascado deve ser  $\leq 8\%$ , enquanto que para o amendoim cru com casca o índice aceito é de  $\leq 11\%$  (BRASIL, 2003).

## 1.3 Beneficiamento do amendoim

Nas indústrias beneficiadoras o amendoim com casca pode ser comercializado após as etapas de pré-limpeza e secagem artificial. Para a comercialização dos grãos são realizadas as operações de descascamento, seleção/classificação, blanchamento, torração, nova seleção e envase. O amendoim descascado pode ser comercializado cru, torrado e/ou blanchado, sendo destinado ao comércio varejista, à extração de óleo ou à indústria processadora.

A torração é responsável pelo desenvolvimento de flavour característico do produto e pela redução da carga microbiana. O binômio tempo-temperatura utilizado varia de acordo com as características finais desejadas e o tipo de técnica empregada. A torração à seco em estufas ou fornos emprega temperaturas ao redor de 160 °C por 25 a 60 min, já a torração por imersão em óleo utiliza temperatura entre 138 e 140 °C por 3 a 10 min (WOODROOF, 1983). O blanchamento, etapa de retirada da película que recobre o grão, pode ser realizado em associação a torração ou em etapa posterior por processo à seco (utilizando jatos de ar ou rotação em tambor) ou eventualmente por processo úmido (EPA, 1995).

No mercado brasileiro há diversos produtos industrializados à base de amendoim, dentre eles: manteiga, pasta, doces (doce de amendoim, paçoca, pé-de-moleque, torrone), confeitos doces e salgados tipo snack. Os processos empregados pela indústria variam de acordo com o produto final a ser obtido, podendo incluir as etapas de mistura, moagem em um ou dois estágios, pasteurização, com temperatura entre 71 e 77 °C/20min, resfriamento, envase e desaeração (MA et al., 2009).

#### **1.4 Qualidade sanitária do amendoim**

A deficiência de qualidade sanitária do amendoim pode comprometer a saúde dos consumidores, através da veiculação de patógenos e toxinas. A ação dos agentes microbiológicos pode ocorrer, praticamente, em todas as etapas da cadeia produtiva do amendoim. Durante a pré-colheita, fatores como a contaminação do solo, o uso de esterco ou composto não curtido de forma adequada e o uso de água contaminada na irrigação são algumas fontes potenciais para contaminação da cultura (ICMSF, 2011).

Durante a pós-colheita, a presença de animais e vetores, a higiene inadequada durante a manipulação do produto, dos equipamentos e utensílios seriam fontes adicionais para veiculação da contaminação com o patógeno. Já no beneficiamento, devido à baixa atividade de água do produto, o processo térmico ao qual o amendoim é submetido pode não ser suficiente para eliminar ou reduzir a níveis seguros uma eventual contaminação ocorrida nas etapas anteriores. Durante a industrialização, as possíveis fontes de contaminação dos produtos são matéria-prima, ingredientes, ambiente de processo e manipuladores (PODOLAK et al., 2010). A possibilidade de contaminação cruzada resultante de falhas em programas de controle de qualidade, entretanto, não é desprezível, e micro-organismos podem ser veiculados pelo ar, poeira, água, equipamentos e trânsito de pessoal (CHEN et al., 2009; BEUCHAT et al., 2013; CHANG et al., 2013).

Na literatura científica ainda não existem dados referentes a presença de *Salmonella* sp. em amostras coletadas à campo e de etapas iniciais de beneficiamento de amendoim, os dados existentes são apenas relacionados com amostras coletadas em mercados. Os resultados destes levantamentos apontaram baixa incidência e baixo nível de contaminação. Bansal et al. (2010) observaram *Salmonella* sp. em 0,97% das amostras de amendoim analisadas, com nível de contaminação entre 1,2 e 15,5 NMP/100g. Little et al. (2010) isolaram *Salmonella* sp. em

0,95% de amostras de uma mistura de castanhas com amendoim, o nível de contaminação encontrado foi  $<1$  NMP/100g. A análise de amostras de amendoim com casca provenientes de um recolhimento do produto do mercado varejista norte-americano apontou contaminação de 38% das amostras, com nível de contaminação variando de  $<0,03$  a 2 NMP/g (KIRK et al., 2004).

Os baixos níveis de contaminação encontrados não excluem, contudo, o perigo de ocorrência de surtos de salmonelose, prova disto são os vários relatos de salmonelose envolvendo produtos a base de amendoim. Na maioria dos casos, os surtos foram epidêmicos, disseminados geograficamente e atingiram um grande número de pessoas, principalmente crianças.

## **1.5 Segurança de alimentos**

A busca dos humanos por alimentos seguros vem desde a antiguidade, ainda em suas atividades de caça e coleta de alimentos. Após deixarem de serem nômades e fixarem seus povoados, houve o início das lavouras, das colheitas e assim a necessidade de aprender a armazenar e conservar os alimentos para consumo por períodos maiores. Primeiramente surgiu a necessidade de armazenagem de grãos e cereais, que eram as culturas mais promissoras da época. A produção de cevada teve início no Vale do Nilo há mais de 18 mil anos e gerou a necessidade de preservar os grãos secos para evitar a deterioração por fungos e a prevenção da deterioração de alimentos mais perecíveis, por meio de secagem, pode ter sido desenvolvida concomitante a isso. Além disso, a conservação por mel, azeite de oliva e sal também são outras formas muito antigas de conservação de alimentos (FORSYTHE, 2013).

O primeiro método científico de conservação de alimentos por meio de calor data de 1795, após a realização de um concurso do governo francês que oferecia uma generosa quantia para quem desenvolvesse um novo método de conservação de alimentos. O prêmio foi dado ao parisiense Nicholas Appert, que era confeitiro. O método por ele desenvolvido, denominado apertização, consistia num vidro de boca grande, que era vedado com uma tampa e colocado sob fervura por cerca de seis horas, esse método é ainda muito comum de ser utilizado, principalmente em produções artesanais, em produtos que mantêm a característica colonial, como geleias, compotas e conservas (HARTMANN, 1997; FORSYTHE, 2013).

Apesar dos pesquisadores e estudos anteriores, foi Louis Pasteur quem iniciou a ciência da microbiologia. Ele comprovou por seus estudos entre 1854 e 1864 que as bactérias eram os agentes da deterioração em alimentos e causadoras de doenças, a consequência disso foi a adoção pela indústria francesa da prática de aquecer o vinho para matar os organismos deteriorantes que podiam estar presentes, antes da inoculação das leveduras desejáveis para o processo de fermentação. Na sequência o processo de pasteurização foi aplicado também a outros alimentos, como o leite visando a eliminação de micro-organismos patogênicos. O início da ciência da microbiologia também está relacionada com o alemão Robert Koch, que foi o pioneiro no desenvolvimento de método para multiplicação para culturas puras de micro-organismos e também em 1884, foi o primeiro pesquisador a isolar a bactéria *Vibrio cholerae*, e esses estudos até hoje tem sido uma atividade importante para os microbiologistas (HARTMANN, 2007).

A partir desses primeiros passos, a microbiologia e os métodos de garantia de segurança de alimentos, assim como os programas de garantia de qualidade foram amplamente desenvolvidos. Os programas de Boas Práticas de Fabricação (BPF), programa de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) são alguns exemplos mais conhecidos das maneiras de garantir a segurança durante a produção de alimentos. Na área de conservação o uso novas tecnologias e tecnologias limpas para aumento da vida útil dos produtos, como ultrassom, micro-ondas, entre outras, são tecnologias emergentes que vem somando para melhorar o consumo seguro de alimentos no Brasil e no mundo.

## **1.6 Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA's)**

As doenças transmitidas por alimentos são um dos maiores e mais frequentes problemas de saúde pública no mundo contemporâneo. São causadas por agentes etiológicos, principalmente micro-organismos que penetram no organismo humano através da ingestão de água e alimentos contaminados (NOTERMANS & HOOGENBOOM-VERDEGAAL, 1992; AMSON et al., 2006). Estes agentes podem ser químicos, como pesticidas e metais tóxicos ou biológicos, como micro-organismos patogênicos. Doenças causadas pela ingestão de plantas tóxicas e micotoxinas são também consideradas DTA's. Alimentos contaminados por agentes biológicos são, entretanto, a maior causa das enfermidades.

As doenças alimentares microbianas são originadas por uma variedade de micro-organismos com diferentes períodos de incubação, duração e sintomas. Bactérias como a *Salmonella* e a *Escherichia coli* O157:H7 são bastante conhecidas pelo público em geral, contudo existem vírus e toxinas fúngicas que foram relativamente pouco estudados e, no futuro, poderão ter sua contribuição melhorada e mais reconhecida no estudo das doenças alimentares (NOTERMANS & HOOGENBOOM, 1992; FORSYTHE, 2013).

As classes menos favorecidas da população geralmente são as mais afetadas pela contaminação alimentar, devido aos hábitos culturais da alimentação e à necessidade de optar por produtos com menor preço, geralmente de pior qualidade e mais contaminados (BALBANI & BUTUGAN, 2001). As regiões Norte e Nordeste do Brasil são as que apresentam as maiores taxas de incidência de casos de DTA internados, comparadas com as outras regiões. De acordo com o Sistema de Informação sobre Mortalidade (SIM), de 1999 a 2002, ocorreram 25.281 óbitos por DTA no Brasil, com uma média de 6.320 óbitos por ano. De 1999 a 2004, foi uma média de cerca de 570 mil casos por ano, com cerca de 3.400.000 internações (CARMO et al., 2005; WELKER et al., 2010).

O impacto econômico negativo através das DTA's alcança níveis cada vez mais preocupantes, acarretando grandes perdas para as indústrias, o turismo e a sociedade (NASCIMENTO, 2000). No Brasil, os custos com os casos internados por DTA, de 1999 a 2004, foram estimados em 280 milhões de reais, com média de 46 milhões de reais por ano (CARMO et al. 2005). Porém, a maioria dos casos de DTA não é notificada, visto que muitos micro-organismos patogênicos presentes nos alimentos causam sintomas brandos, fazendo com que a vítima não busque auxílio médico (COSTALUNGA & TONDO 2002; FORSYTHE 2002). Os sintomas mais comuns incluem dor de estômago, náusea, vômitos, diarreia e febre (FORSYTHE 2002, RODRIGUES et al., 2004; CARMO et al., 2005; MÜRMAN et al., 2008). Entre as causas mais frequentes de contaminação dos alimentos, destacam-se a manipulação e a conservação inadequadas dos mesmos, além da contaminação cruzada entre produtos crus e processados (COSTALUNGA & TONDO 2002; SANTOS et al., 2002; NADVORNY et al., 2004; CARMO et al., 2005; MÜRMAN et al., 2008).

## 1.7 Indicadores microbiológicos de segurança dos alimentos

Para refletir a qualidade microbiológica de alguns alimentos em relação à vida útil ou a segurança biológica, no último caso devido à presença de patógenos indesejados, são usados os chamados micro-organismos indicadores, esse termo pode ser aplicado a qualquer grupo taxonômico, fisiológico ou ecológico de organismos cuja presença ou não, permitem uma evidência indireta referente a uma característica específica da história da amostra (FORSYTHE, 2013). Os micro-organismos indicadores podem ser usados para fins diferentes: indicar a qualidade de produtos, principalmente para prever a vida de prateleira e como indicadores de segurança de alimentos, que visam confirmar a sanidade e qualidade dos alimentos (JAY, 2005). Geralmente, os indicadores utilizados são os de origem intestinal, contudo outros grupos podem ser utilizados em diversas situações (FORSYTHE, 2013). Neste trabalho serão destacados os indicadores de segurança de alimentos, visando identificar micro-organismos patogênicos, como no caso, *Salmonella* sp.

Um bom indicador microbiológico deve apresentar uma série de características importantes: ser fácil e rapidamente detectável; ser facilmente distinguido dos outros membros da microbiota do alimento; ter um histórico de frequência associada com o do patógeno em questão; sempre estar presente quando o patógeno buscado estiver; ter seu número relacionado com as contagens do patógeno de interesse; necessidades e taxa de crescimento semelhante ao patógeno; taxa de sobrevivência paralela à taxa de morte do patógeno e de preferência sobreviver por mais tempo que o mesmo; estar ausente em alimentos livre do patógeno, exceto quando este estiver presente em pequenas concentrações; devem ocorrer apenas em ambientes intestinais, ocorrendo em alto número nas fezes e encontradas em altas diluições e por fim devem ser de fácil e rápida detecção, mesmo quando presentes em baixas quantidades. Todos os critérios apresentados podem ser utilizados a muitos alimentos que podem ser veículos de agentes patogênicos que tem origem alimentar (JAY, 2005).

### 1.7.1 Coliformes totais

Os coliformes são bastonetes Gram-negativos, não esporulados, que fermentam a lactose no período de 48 horas em temperaturas de 35-37° C com produção de ácido e gás

(FRANCO & LANDGRAF, 1996; HITCHINS et al., 1998; JAY, 2005; FORSYTHE, 2013). Este grupo é composto pelas bactérias da família *Enterobacteriaceae*, desse grupo fazem parte predominantemente às bactérias que pertencem aos gêneros *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter* e *Klebsiella*. Destes apenas a *Escherichia coli* tem como habitat primário o trato gastrointestinal do homem e de animais, os demais podem ser encontrados também em outros ambientes, como vegetais e solo, onde estes conseguem resistir por um tempo maior que algumas bactérias patogênicas como *Salmonella* e *Shigella*. Por consequência disso, a presença de coliformes totais não indica necessariamente a presença de enteropatógenos de origem alimentar (FRANCO & LANDGRAF, 1996; JAY, 2005).

### 1.7.2 Coliformes termotolerantes e *Escherichia coli*

Os micro-organismos pertencentes a esse grupo correspondem aos coliformes totais que tem a capacidade de continuar a fermentar a lactose mesmo em temperaturas superiores (44-45,5° C). A pesquisa de coliformes termotolerantes e *E. coli* nos alimentos permitem avaliar com maior segurança as condições higiênico-sanitárias as quais o produto foi submetido e presença de provável patógeno de origem alimentar (FRANCO & LANDGRAF, 1996).

Como regra, em alimentos e vegetais frescos o único indicador considerado válido para contaminação fecal é a *E. coli*, pelo fato de que os demais indicadores são encontrados naturalmente nesse tipo de alimento. Em alimentos frescos de origem animal, a ocorrência elevada de enterobactérias pode indicar falta de cuidados com as boas práticas de fabricação (FRANCO & LANDGRAF, 1996).

## 1.8 Bactérias patogênicas de origem alimentar

As doenças de origem alimentar são originadas por alimentos que em geral não possuem odores ou sabores anormais, tornando-se difícil a percepção pelo consumidor levando facilmente a surtos epidêmicos. Por passarem despercebidos esses alimentos acabam sendo difíceis de rastrear, uma vez que o consumidor dificilmente se lembra de quais alimentos poderiam estar inadequados no momento da sua última refeição. Essas doenças são

causadas por vários micro-organismos, e o período de incubação e de duração da doença varia de modo considerável conforme o agente causador (FORSYTHE, 2013).

### 1.8.1 *Escherichia coli*

Na tentativa de isolar o agente etiológico da cólera em 1885, Escherich isolou e estudou um micro-organismo que hoje é chamado de *Escherichia coli*, uma bactéria Gram-negativa, não formadora de esporos e anaeróbia facultativa. Inicialmente este foi chamado de *Bacterium coli commune* devido a sua presença em diarreias de todos os pacientes examinados (JAY, 2005; FORSYTHE, 2013). As linhagens de *E. coli*, causadoras de doenças são divididas em 5 ou 6 grupos com base nos fatores de virulência e patogenicidade: EPEC (*E. coli* enteropatogênica clássica); EIEC (*E. coli* enteroinvasiva); ETEC (*E. coli* enterotoxigênica); EHEC (*E. coli* enterohemorrágica) e EAaggEC (*E. coli* enteroagregativa) (FORSYTHE, 2013).

O principal reservatório de amostras de *E. coli* produtoras de toxina Shiga é o trato gastrointestinal de bovinos, a ocorrência de infecção por este patógeno em animais jovens pode levar ao desenvolvimento de quadros diarreicos com conseqüente colonização intestinal assintomática. Embora os surtos envolvendo *E. coli* produtoras de toxina Shiga estejam amplamente relacionados ao consumo de carnes mal-passadas, tem-se destacado sua presença em alimentos de origem vegetal (NATARO & KAPER, 1998; QUESADA et al., 2003).

Um surto com repercussão mundial recente envolvendo *E. coli* chamou atenção para essa bactéria no ano de 2011, que acabou ficando conhecida de *E. coli* “alemã”, embora se suspeitasse que a contaminação havia partido de pepinos de origem espanhola. Posteriormente confirmou-se que o surto teve origem a partir da contaminação de brotos pela *E. coli* O104:H4, essa estirpe também é capaz de produzir a toxina shiga-like, que pode levar ao desenvolvimento da síndrome urêmico-hemolítica que nos casos mais graves causa diarreias com sangue, insuficiência renal e eventualmente a morte. A Alemanha foi o país mais afetado pelo surto com inúmeros casos confirmados e cerca de 48 mortes (CDC, 2011).

Embora tenha chamado a atenção no ano de 2011, muitos surtos de *E. coli* com desenvolvimento de síndrome urêmico-hemolítica já haviam sido relatados anteriormente em produtos de origem vegetal. No ano de 2006 um surto envolvendo espinafre fresco foi



relatado nos Estados Unidos, onde 199 pessoas foram infectadas e 3 morreram a partir da infecção pela estirpe de *E. coli* O157:H7 (CDC, 2006). No ano de 2009, vinte e três pessoas foram infectadas com *E. coli* O157:H7 em 9 Estados e a fonte foi a carne distribuída pela empresa “JBS Swift Beef”, em 2010 um surto envolvendo queijos afetou 38 pessoas, com um caso de síndrome urêmica-hemolítica, sem nenhuma morte (CDC, 2009; 2010). Em 2013 foram 33 pessoas afetadas num surto envolvendo *E. coli* O157:H7 que contaminou saladas prontas para consumo, os dois últimos surtos relatados são do ano de 2014, onde a *E. coli* O157:H7 afetou 12 pessoas após o consumo de carne moída e a *E. coli* O121 afetou 19 pessoas e o surto foi relacionado à brotos de alfafa (CDC, 2013, 2014).

No Brasil, os dados fornecidos pelo Ministério da Saúde sobre surtos de origem alimentar são limitados. Há informações referentes aos anos entre 2000 e 2014, porém são dados não detalhados de investigação, não sendo informado o alimento envolvido ou sua origem (vegetal/animal). Os surtos envolvendo *E. coli* que mais apresentaram pessoas infectadas pela bactéria foram no ano de 2005, com 65 casos, 2012 e 2011 com 57 e 50 pessoas infectadas, respectivamente e o último relato é de 2014 com 14 pessoas infectadas por *E. coli* (BRASIL, 2014). Embora não tenha relato diretamente na literatura envolvendo *E. coli* em surtos a partir de amendoins, pela sua prevalência em produtos de origem vegetal, não se descarta a possibilidade de que possam ocorrer.

### 1.8.2 *Salmonella* sp.

A *Salmonella* é um importante agente etiológico de doenças de origem alimentar conhecida mundialmente, sendo uma causa significativa de morbidade, mortalidade e perdas econômicas. Este patógeno é considerado uma ameaça importante e inaceitável para a saúde pública tanto em países desenvolvidos quanto em subdesenvolvidos (European Food Safety Authority (EFSA) (EFSA, 2010; FORYSTHE, 2013). A *Salmonella* é uma bactéria Gram-negativa, anaeróbia facultativa, não formadora de endósporos e tem a forma de bastonetes curtos (1 a 2  $\mu\text{m}$ ). A maioria das espécies é móvel e se locomovem através de flagelos peritríquos. É uma bactéria capaz de fermentar a glicose produzindo ácido e gás, porém não é capaz de metabolizar a lactose e sacarose, sua temperatura ótima para multiplicação é de cerca de 35-37° C, a mínima fica por volta de 5° C e a máxima de 47° C, o pH ótimo para multiplicação das salmonelas fica próximo de 7,0 sendo que, valores superiores a 9,0 e inferiores à 4,0 são bactericidas. Em relação a atividade de água, a inibição do crescimento de

*Salmonella* ocorre em valores abaixo de 0,94 (FRANCO & LANDGRAF, 1996; JAY, 2005; FORSYTHE, 2013).

Há apenas duas espécies de salmonelas, *Salmonella enterica* e *Salmonella bongori*, que são divididas em 8 grupos (BOYD, et al., 1996), porém essa classificação é pouco útil para as investigações epidemiológicas e, portanto, necessita de uma caracterização mais detalhada. Felizmente, existem mais de 2.400 sorotipos (ou sorovares) e eles agora são utilizados como base para nomenclatura de *Salmonella*. Como exemplo, temos *S. enterica* sorovar Typhimurium que antes era conhecida como *Salmonella typhimurium*, parecendo que “*typhimurium*” era uma espécie, e não o sorovar da *S. enterica*, que é o correto (FORYSTHE, 2013).

Os sorovares de *Salmonella* são diferenciáveis por seus antígenos O (antígeno somático), H (flagelares) e Vi (capsulares), por meio do esquema de Kaufmann-White (BRENNER, 1984; EWING, 1986; FRANCO & LANDGRAF, 1996; LE MINOR, 1988) e esses sorovares são subdivididos em sorogrupos de acordo com os fatores antigênicos comuns (FORYSTHE, 2013). O antígeno O se localiza na fração de lipopolissacarídeos (LPS) na membrana externa. Essa fração é constituída de um lipídeo, denominado lipídeo A e é responsável pelo efeito tóxico que o LPS apresenta (endotoxina). A porção polissacarídica do cerne, que a porção intermediária, é a mesma em todas as *Salmonella*, mas as cadeias laterais são bastante específicas para diferentes sorovares, determinando o antígeno O de cada sorovaresde *Salmonella*. Alguns sorovares não possuem o antígeno O, não podendo ser sorotipadas, recebendo a denominação “não-tipáveis” (FRANCO & LANDGRAF, 1996).

Os antígenos H são de natureza proteica, são termolábeis e também não são espécies-específicos. Os antígenos O e Vi são termorresistentes, não sendo destruídos pelo aquecimento a 100° C por duas horas. Para determinação do sorotipo de uma *Salmonella*, os antígenos H que recobrem a célula precisam ser eliminados pelo aquecimento (FRANCO & LANDGRAF, 1996).

A salmonelose representa uma importante doença de origem alimentar e continua sendo uma ameaça para a saúde pública. A infecção por *Salmonella* é variável e vai depender dos fatores envolvidos como: estilo de vida e comportamento humano; mudanças na indústria; novas tecnologias; importações e exportações e viagens (FOLEY, LYNNE & NAYAK, 2008). Os sorotipos de *Salmonella* são muito comuns na natureza e podem ser encontrados no

trato gastrointestinal de todas as espécies animais, o que resulta em grandes fontes de contaminação por *Salmonella* sp. (ALLERBERGER et al., 2002; CARRASCO, et al., 2012).

Em geral a salmonelose acontece quando células de *Salmonella* são introduzidas nas áreas de preparação de alimentos. Vários fatores contribuem para a disseminação da *Salmonella* em alimentos, como temperaturas de estocagem inadequadas, cozimento insuficiente e contaminação cruzada, levando a surtos de salmonelose (RYAN, WALL & GILBERT, 1996; TODD, 1997).

Na União Europeia sorovares de *Salmonella* Enteritidis e Typhimurium são relatados como os maiores agentes etiológicos de salmoneloses que se adaptaram aos humanos. Nos Estados Unidos, *S. Enteritidis* e *S. Typhimurium* representam os agentes mais reportados pelo Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC) (CDC, 2006). Na Austrália a disseminação de *Salmonella* varia geograficamente, enquanto que *S. Typhimurium* era o sorotipo mais relatado em 2008, *S. Enteritidis* era a maior causa de doenças, apesar de não ser endêmica na Austrália (YATES, 2011). Enquanto *S. Enteritidis* está ligada ao consumo de frango e ovos, *S. Typhimurium* está mais ligada a uma série de animais como, aves, suínos, bovinos e ovinos. *S. Enteritidis* era um sorovar raro até meados da década de 80, quando foi ligada a causa de salmoneloses em países da Europa e de todo o mundo (COGAN & HUMPHREY, 2003; POPPE, 1999), na década seguinte acabou substituindo a *S. Typhimurium* como o sorotipo mais comum de salmonelose (COGAN & HUMPHREY, 2003; TSCHAPE et al., 1999; ANGULO & SWERDLOW, 1999;). Austrália e Nova Zelândia têm, no entanto, um número de salmoneloses a partir de *S. Typhimurium* relativamente maior em comparação com Canadá, Estados Unidos e os países da União Europeia (DALTON et al., 2004). O grande movimento contínuo de pessoas pelo mundo facilita a disseminação desse agente permitindo a introdução de sorotipos *Salmonella* de em países importadores (CARRASCO et al., 2012).

### **1.9 *Salmonella* em produtos de baixa atividade de água**

Acredita-se que espécies de *Salmonella* estejam presentes em qualquer tipo de produto, pois esse patógeno é amplamente difundido na natureza. Diversas espécies são capazes de sobreviver durante semanas em água e por anos no solo, se as condições

ambientais como temperatura, umidade e pH (TODAR, 2008) forem favoráveis ao seu desenvolvimento.

Nozes e sementes podem ser naturalmente contaminadas com *Salmonella*, devido ao seu cultivo e/ou processos de colheita. Um grande número desses produtos alimentícios têm sido recolhidos por contaminação com *Salmonella* (PODOLAK et al., 2010). Contaminação cruzada e recontaminação também podem contribuir para contaminação de produtos de amendoim por *Salmonella*. Adicionalmente, se os ingredientes não são armazenados, tratados e/ou armazenados contaminados, sem análise prévia, podem ser agentes de contaminação de produtos processados. Durante o processo de investigação de um surto nos Estados Unidos, a FDA declarou que o armazenamento impróprio do amendoim e as oportunidades de contaminação cruzada seriam as causas plausíveis do surto (FDA, 2009).

A baixa atividade de água representa uma barreira para a multiplicação de muitos micro-organismos, incluindo *Salmonella* (BETTS, 2007). Alimentos como, leite em pó, chocolate, manteiga de amendoim e alguns alimentos infantis desidratados são produtos característicos de baixa atividade de água que não deveriam estar comumente relacionados a surtos de salmonelose, pelo fato do micro-organismo ter necessidades de disponibilidade de água de em média 0,94. Investigações epidemiológicas e de dados ambientais indicaram que a contaminação cruzada desempenha um papel importante na contaminação desses produtos (SMITH et al., 2004) e a bactéria após essa contaminação tem a capacidade de sobreviver em alimentos secos por longos períodos (JUVEN et al., 1984; HIRAMATSU et al., 2005; JANNING, in VELD, NOTERMANS & KRAMER, 1994).

Além disso, tem sido relatada que a combinação de baixa atividade de água e alto teor de gorduras, como nos amendoins, pode ter um efeito sinérgico na sobrevivência da *Salmonella* no amendoim e produtos derivados (SHACHAR & YARON, 2006). Alguns autores revisaram diversas fontes e fatores de risco para contaminações por *Salmonella*, analisaram a sobrevivência, persistência e resistência da bactéria ao calor em produtos de baixa atividade de água e a conclusão foi que práticas pobres de saneamento, instalações precárias, falta de design dos equipamentos e manutenção inadequada, continuam a ser a causa de contaminação pós processamento por *Salmonella* em alimentos de baixa atividade de água (PODOLAK et al, 2010).

O controle de *Salmonella* em alimentos de baixa atividade de água e teores elevados de gordura ainda representa vários desafios para os fabricantes desses produtos. Nos Estados Unidos a “Associação dos Supermercados” publicou um documento que orienta os fabricantes e os distribuidores estabelecendo sete elementos de controle de contaminação por *Salmonella*: 1) impedir formas de entrada de *Salmonella* em instalações de processamento; 2) aumentar o rigor com as práticas de higiene; 3) Aplicação de controle higiênico durante os projetos de planejamento de uso de equipamentos e instalações; 4) prevenir e reduzir o crescimento de *Salmonella* nas instalações distribuidoras; 5) estabelecer programa de controle de ingredientes; e 7) estabelecer procedimentos para verificação e análise de *Salmonella* assim como se necessário planejar ações corretivas (CARRASCO et al., 2012).

### **1.10 *Salmonella* em produtos de amendoim**

Embora historicamente não estejam associados com doenças de origem alimentar, os surtos que vem ocorrendo nos últimos anos colocam o amendoim no centro das atenções no que diz respeito à salmoneloses (CHANG, et al., 2013). Amendoins são consumidos em todo o mundo na forma de óleo, manteiga, amendoim assado, torrado e como ingrediente. É uma fonte boa e barata de energia, que provoca saciedade e aumento do gasto energético que faz com que seu consumo não contribua significativamente para aumento de peso corporal e por isso, tendo em vista seu benefício para consumidor, é importante que estes tenham o direito de desfrutar de um produto microbiologicamente seguro (MATTES, KRIS-ETHERTON & FOSTER, 2008).

O primeiro surto com manteiga de amendoim ocorreu em 1996 na Austrália causado por *Salmonella* Mbandaka (SCHEIL et al., 1998). Dez anos mais tarde, o primeiro surto de manteiga de amendoim ocorreu nos Estados Unidos, o surto multiestado causado por *S. Tennessee* foi atribuído a umidade provocada por um vazamento em uma usina de processamento de Sylvester, GA. No total, 628 pessoas foram infectadas em 47 Estados. O fabricante foi notificado e medidas de controle foram implantadas. Um surto complexo em vários Estados dos Estados Unidos em 2009 foi causado por *Salmonella* Tiphymurium associado com manteiga de amendoim e produtos de amendoim produzidos por um fabricante de amendoins da Geórgia (CDC, 2009). O primeiro produto suspeito foi uma marca de manteiga de amendoim produzida na Geórgia, essa manteiga foi usada como ingrediente em vários produtos à base de amendoim. No total mais de 3900 produtos foram recolhidos entre

mais de 200 empresas. O surto envolveu 714 pessoas em 46 Estados e 1 no Canadá, 171 internações e 1 óbito (CDC, 2009).

Em um surto internacional ocorrido em 2001 com 109 casos registrados na Austrália, Canadá e Reino Unido a fonte de contaminação foi identificada como amendoim torrado (KIRK et al., 2004). Os surtos mais recentes que foram relacionados à manteiga de amendoim ocorreram nos Estados Unidos. A manteiga apresenta umidade de 1% e atividade de água inferior a 0,30 (PARK et al., 2008). No surto ocorrido entre 2006 e 2007 foram reportados 425 casos, sem notificação de óbito. Neste surto, *Salmonella* Tennessee foi isolada do produto final e das instalações da indústria processadora (CDC, 2007). O último surto relatado ocorreu em 2012 e acometeu 42 pessoas em 20 Estados. Durante a inspeção pós-surto, as autoridades de saúde encontraram *Salmonella* sp. em quatro amostras de produto acabado e uma amostra de amendoim cru sem casca. Além disso, o patógeno foi isolado de diferentes pontos da linha de processamento (CDC, 2013).

No Brasil, dados de ocorrência de surtos são bastante limitados. Entre os anos de 2010 a 2014, foram notificados 128 casos de infecção por *Salmonella* sp. conforme os dados do Ministério da Saúde (BRASIL, 2014) porém não são especificados as fontes de origem do patógeno.

O amendoim como ingrediente pode e deve ser considerado também um perigo devido aos últimos surtos mundiais, sabendo que surtos com ingredientes contaminados são mais difíceis de serem identificados. Um surto associado a um “snack” a base de amendoim importado em 1994, teve 27 casos reportados, dos quais 26 eram crianças da Inglaterra e País de Gales. Nessa mesma época um surto com a mesma espécie (*Salmonella* Agona) estava ocorrendo também em Israel. As amostras positivas variavam de 2-45 UFC/pacote (KILLALEA et al., 1996).

O maior surto envolvendo amendoim como ingrediente foi relacionado a um fabricante de amendoim nos Estados Unidos em 2009. Além de manteiga, a fábrica produzia amendoins torrados que eram utilizados em cookies, biscoitos, cereais, doces, entre outros produtos. No período o FDA investigou a planta processadora e verificou que as boas práticas de fabricação eram falhas, os equipamentos sujos, havia falta de cuidados no armazenamento do amendoim processado e presença de goteiras no teto que caíam sobre o produto. Todos os produtos que estavam estocados próximos a rachaduras nas paredes e no piso estavam

contaminados com *Salmonella*. Foram notificados 714 casos, com 9 óbitos em 46 Estados (CDC, 2009).

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo geral

Determinar a ocorrência de *Salmonella* sp. e enterobactérias ao longo da cadeia produtiva do amendoim nos Estados de São Paulo, Minas Gerais e Bahia, desde a colheita à campo até o final do beneficiamento industrial.

### 2.2 Objetivos específicos

- Isolar *Salmonella* e avaliar a presença enterobactérias e *E. coli* nas etapas de cultivo e beneficiamento do amendoim;
- Verificar se as enterobactérias e *E. coli* presentes nas etapas de cultivo e beneficiamento do amendoim podem ser consideradas bons indicadores para a presença de *Salmonella* sp. na cadeia produtiva do amendoim;
- Avaliar se há influência dos tipos de cultivo do amendoim nos diferentes Estados avaliados, sobre a presença de *Salmonella* sp. e demais enterobactérias;



## 3 MATERIAL E MÉTODOS

### 3.1 Material

O estudo investigou a presença de *Salmonella* sp., *Escherichia coli*, coliformes e enterobactérias totais em 120 amostras coletadas em diferentes fases ao longo da cadeia produtiva do amendoim. Na primeira etapa foram analisadas 60 amostras, sendo 40 da subespécie *hypogaea* coletadas durante as etapas de pós-colheita nos Estados de São Paulo e Minas Gerais e 20 da subespécie *fastigiata* coletadas no Estado da Bahia. Na segunda foram avaliadas 60 amostras, ambas da subespécie *hypogaea*, provenientes do beneficiamento do amendoim a partir de plantas beneficiadoras do Estado de São Paulo.

### 3.2 Procedimento experimental

#### 3.2.1 Coleta das amostras

Na primeira fase, as amostras de amendoim foram oriundas de quatro produtores rurais, sendo um do Estado da Bahia (D), um de Minas Gerais (C) e dois de São Paulo (A e B). A partir de cada propriedade foram analisadas amostras de amendoim com casca proveniente de cada uma das etapas de pós-colheita: arranquio (20), enleiramento (20) e despencamento (20) das vagens.

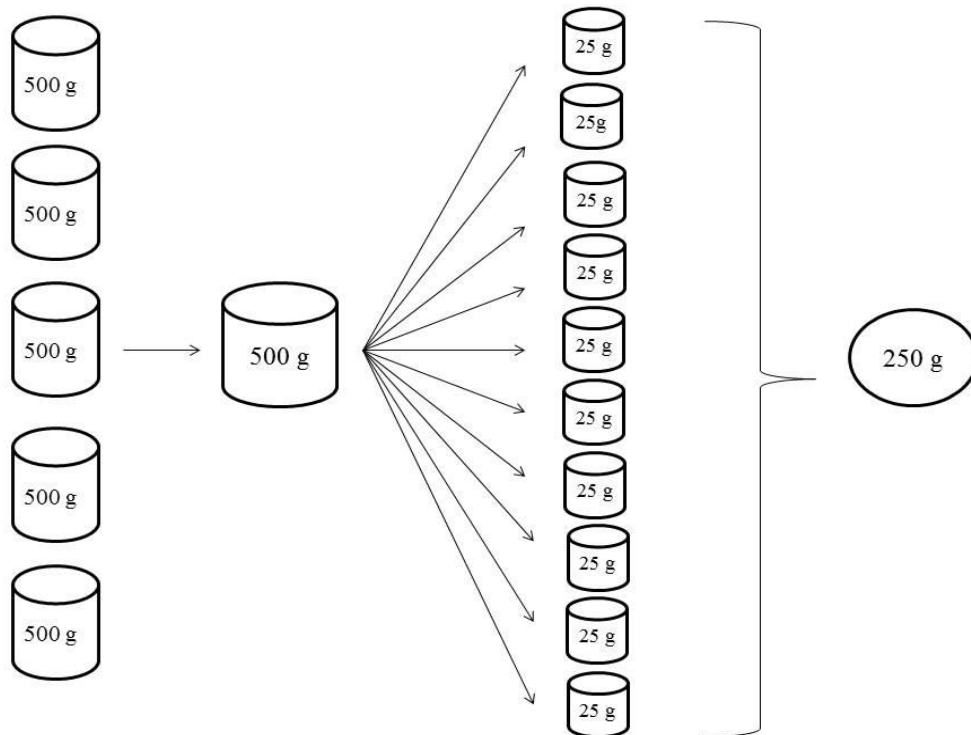
Na segunda fase, as amostras analisadas foram de duas plantas beneficiadoras localizadas no Estado de São Paulo e nestas foram analisadas amostras que envolvem as etapas de beneficiamento do amendoim essas etapas geralmente envolvem: secagem (20), debulhamento (15), seleção/classificação (20), blanchamento (5), além da etapa de torração que não foi pesquisada devido o beneficiador não utilizar este processo.

No caso das indústrias beneficiadoras utilizadas neste trabalho, algumas não possuíam todas as etapas para serem amostradas. Nos beneficiadores A e C, além da própria plantação, a indústria recebe amostras oriundas de outros produtores e ambos (A e C) não realizam etapa de blanchamento, visto que depois da seleção os amendoins geralmente são vendidos à indústria de doces e confeitos. A etapa de blanchamento também não era adotada pelo

produtor D. Somente o produtor B tem produção de doces, salgados e confeitos a base de amendoim, sendo o único a apresentar a etapa de blanchamento, que é muito importante principalmente na produção de pé-de-moleque. Nenhum dos beneficiadores analisados possuía a etapa de torração. No total 60 amostras de campo e 60 amostras de beneficiamento foram coletadas, sendo a amostragem feita em quintuplicada de 500 g.

Para a análise de *Salmonella*, a amostragem foi realizada de acordo com as recomendações da ICMSF (2011). Foram coletadas 5 amostras de 500 g de cada etapa que posteriormente foram pesadas e divididas em 10 unidades analíticas de 25g, totalizando 250g de produto analisado/amostra (Figura 1). Os demais ensaios microbiológicos foram realizados a partir de unidade analítica única de 25g oriunda da amostra inicial.

Figura 1: Esquema da amostragem para análise de *Salmonella* sp. em 250 g



Fonte: o autor.

### 3.2.2 Análise microbiológica

Os procedimentos experimentais foram realizados no Laboratório de Microbiologia do Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL) localizado na cidade de Campinas, São Paulo, Brasil.

### 3.2.3 Contagem de enterobactérias totais

Para determinação de enterobactérias totais utilizou-se o método de contagem em placa, usando ágar Vermelho Violeta Bile com Glicose (VRBG) com sobrecamada e incubação à 35°C por 24h. O resultado foi expresso em logaritmos de unidades formadoras de colônias por grama (log UFC/g) (KORNACKI & JOHNSON, 2001).

### 3.2.4 Contagem de coliformes totais e *Escherichia coli*

A contagem de coliformes totais e *E. coli* foi conduzida em Petrifilm™ 6404 (3M), com incubação a 35°C por até 48h. As colônias vermelhas ou azuis com produção de gás foram consideradas coliformes totais e apenas as colônias azuis com produção gás foram contabilizadas como *E. coli*. O resultado foi expresso em logaritmos de unidades formadoras de colônias por grama (log UFC/g) (AOAC, 2009).

### 3.2.5 *Salmonella* sp.

A determinação de *Salmonella* sp. foi feita através do método imunológico no sistema Mini-Vidas (BioMérieux®, França). Dez porções de aproximadamente 25 g foram homogeneizadas em água peptonada tamponada (BPW), na diluição 1: 10 (25 g em 225 mL), em seguida adicionou-se a cada amostra 1 mL do suplemento para *Salmonella* sp. do kit comercial (BioMérieux®, França) às amostras. Após uma nova homogeneização, as amostras foram incubadas à 41,5 °C por 18-24h conforme indicação do fabricante. Após a incubação, foi realizada a compostagem das 10 porções de cada amostra realizada por meio da transferência de 1 mL de cada porção para um tubo estéril com posterior homogeneização em Vórtex. Em seguida, transferiu-se 500 µL de cada compostagem para barretes do kit Vidas UP

*Salmonella* (SPT) (BioMérieux®, França), os quais foram previamente aquecidos em chapa de aquecimento por 5 min a 131 °C e resfriados à temperatura ambiente por 10 min e após inseridos no equipamento Mini-Vidas (BioMérieux®, França). O equipamento expressa o resultado como presença ou ausência de *Salmonella* sp. por unidade analítica, sendo o limite utilizado para análise de 0,004 NMP/g.

A confirmação das amostras positivas foi feita de acordo com o método da Food and Drug Administration (FDA) pela técnica do Número Mais Provável (NMP). O pré-enriquecimento foi realizado em BPW, com incubação a 37 °C/ por 22-24h. Em seguida, realizado enriquecimento em caldos Rappaport-Vassiliadis e Tetracionato. Após incubação por 24h a 37 °C, foi executado o plaqueamento em ágar Entérico de Hecktoen (HE) e ágar Xilose Lisina Desoxicolato (XLD). A confirmação bioquímica foi realizada primeiramente em ágar Tríplice Açúcar Ferro inclinado (TSI) e ágar Lisina Ferro inclinado (LIA). As colônias que apresentarem reações típicas em um ou ambos os testes, foram então submetidas à confirmação sorológica e a provas bioquímicas complementares (teste de urease, Vogues-Proskauer, indol e  $\beta$ -galactosidase). O resultado foi expresso como NMP/g (ANDREWS & HAMMACK, 2007).

### 3.2.6 Análise de atividade de água e pH

Para a verificação do pH, amostras de 10 g foram maceradas e homogeneizadas com 100 mL de água deionizada em *shaker* por 20 min e leitura feita com o auxílio de um potenciômetro devidamente calibrado (IAL, 2008).

A atividade de água foi determinada em duplicata diretamente em um medidor de atividade de água (Aqualab, Decagon Device, EUA).

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Amostras de campo

Os resultados da determinação da atividade de água e pH das amostras analisadas são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1: Atividade de água (Aw) e pH por Estado produtor das amostras de pós-colheita do amendoim à campo

Estado	N	Etapa	Aw	pH
A	5	Arranquio	0,994 ± 0,01	6,33 ± 0,20
	5	Enleiramento	0,966 ± 0,02	6,31 ± 0,15
	5	Despencado	0,840 ± 0,03	6,84 ± 0,09
B	5	Arranquio	0,997 ± 0,00	6,44 ± 0,17
	5	Enleiramento	0,983 ± 0,00	6,58 ± 0,24
	5	Despencado	0,664 ± 0,04	7,02 ± 0,04
C	5	Arranquio	0,999 ± 0,00	6,31 ± 0,15
	5	Enleiramento	0,985 ± 0,01	6,11 ± 0,19
	5	Despencado	0,812 ± 0,03	6,73 ± 0,18
D	5	Arranquio	0,991 ± 0,00	6,00 ± 0,13
	5	Enleiramento	0,981 ± 0,01	6,33 ± 0,34
	5	Despencado	0,991 ± 0,00	6,16 ± 0,12

A e B= São Paulo, C= Minas Gerais, D= Bahia

Nos Estados analisados, a atividade de água inicial foi de 0,99 em todas as amostras e, em média, no enleiramento de 0,90, valores estes que permitem a multiplicação de micro-organismos patogênicos. Este fator junto com a disponibilidade de nutrientes que o amendoim fornece, predispõe à permanência/sobrevivência de *Salmonella* por longos períodos no solo mesmo após a colheita. Alguns estudos demonstram que diversas espécies de *Salmonella* são capazes de sobreviver durante semanas em água e por anos no solo, se as condições ambientais como temperatura, umidade e pH forem favoráveis ao seu desenvolvimento (TODAR, 2008).

Conforme Embrapa (2006), para as Boas Práticas Agrícolas para amendoim, recomenda-se que depois do enleiramento haja a redução da umidade inicial das vagens de 35-40% para aproximadamente 10% (EMBRAPA, 2006), essa informação leva em consideração a prevenção da possível contaminação por aflatoxinas. Porém essa redução da atividade de água também pode ser utilizada para restringir a multiplicação de bactérias patogênicas. Assim a redução rápida da atividade de água torna-se um fator importante de controle para diminuir a população inicial por *Salmonella* no amendoim.

O pH das amostras analisadas variou entre 6,00 e 7,02 (Tabela 1) não sendo limitante ao desenvolvimento de *Salmonella*, já que essa bactéria prefere pH próximo a neutralidade (FRANCO & LANDGRAF, 1996; JAY, 2005), havendo também de desenvolvimento de *Salmonella* em pH variável, desde em torno de 3,99 até 9,85 (LI et al, 2013).

A Tabela 2 apresenta os resultados obtidos nas análises microbiológicas de enterobactérias, coliformes totais e *E. coli* das amostras de amendoim coletadas em diferentes etapas de pós-colheita nos Estados de São Paulo, Minas Gerais e Bahia.

Tabela 2: Contagens de enterobactérias, coliformes totais e *Escherichia coli* por Estado produtor, das amostras das etapas de pós-colheita do amendoim.

Estado	N	Etapa	Enterobactérias (log UFC/g)	Coliformes (log UFC/g)	<i>E. coli</i> (log UFC/g)
A	5	Arranquio	5,38 a 7,68*	4,49 a 7,51*	<1*
	5	Enleiramento	6,20 a 7,21	3,52 a 5,00	<1
	5	Despencado	7,11 a 7,91	2,00 a 6,73	<1
B	5	Arranquio	6,81 a 7,98	5,40 a 6,71	<1
	5	Enleiramento	4,61 a 6,61	1,70 a 6,51	<1
	5	Despencado	3,18 a 4,76	2,90 a 3,53	<1
C	5	Arranquio	6,46 a 9,18	3,71 a 8,51	<1
	5	Enleiramento	6,03 a 8,96	3,18 a 7,71	<1
	5	Despencado	6,45 a 7,83	5,48 a 6,41	<1 a 4
D	5	Arranquio	5,79 a 9,34	5,10 a 8,91	<1
	5	Enleiramento	8,07 a 8,89	4,95 a 8,08	<1 a 2
	5	Despencado	5,38 a 9,53	4,83 a 7,95	<1

A e B= São Paulo, C= Minas Gerais, D= Bahia

\*LOD: 1 log UFC/g

As amostras apresentaram altas contagens de enterobactérias, sobretudo nas amostras oriundas da Bahia (D) (5,79 a 9,53 log UFC/g), seguidas pelas amostras de Minas Gerais (C) (6,03 a 9,18 log UFC/g) e São Paulo (A e B) (3,18 a 7,11 log UFC/g). O mesmo foi observado para coliformes totais que apresentaram contagens entre 4,83 e 8,91 log UFC/g para as amostras da Bahia, entre 3,18 e 8,45 log UFC/g em Minas Gerais e entre 1,70 e 7,95 log UFC/g em São Paulo. Somente uma amostra da etapa de despencamento coletada em Minas Gerais apresentou *E. coli* (4,00 log UFC/g). A legislação brasileira permite contagens máximas de  $10^3$  (3 ciclos logarítmicos) para coliformes a 45 °C em amendoins crus, inteiros ou descascados (BRASIL, 2001).

Os produtores avaliados nesse estudo de São Paulo e Minas Gerais não faziam uso de adubação orgânica, porém, em um ponto de coleta da Bahia o produtor utilizava desse recurso durante a produção primária do amendoim. Durante a adubação orgânica, fatores como a contaminação do solo, o uso de esterco de animais e de composto não curtido de forma adequada para adubação e/ou aplicação de água contaminada na irrigação são consideradas fontes importantes de contaminação fecal (ICMSF, 2011), o que poderia justificar a alta contagem de coliformes totais. Além disso, a presença de animais e vetores próximos ao local do cultivo, a higiene inadequada de manipuladores e/ou dos equipamentos e utensílios utilizados durante o processamento podem ser consideradas fontes adicionais para veiculação de patógenos bacterianos.

A presença de *E. coli* nos produtores C e D pode ser considerada um fator de risco quando o amendoim é comercializado cru, *in natura* como acontece comumente no Estado da Bahia (D). Na Bahia os ambulantes vendem amendoins grosseiramente higienizados, expondo os consumidores a riscos de adquirirem uma doença de origem alimentar.

*E. coli* está amplamente ligada à surtos com alimentos frescos de origem vegetal que não sofrem tratamentos adequados de sanitização. Desde 2011 *E. coli* tem sido um problema frequentemente relacionados a morangos nos Estados Unidos. Foi demonstrado que o micro-organismo foi capaz de sobreviver no solo por longo período de tempo, recuperando-se 4,27 log UFC/g e nos morangos 3,37 log UFC/g após contaminação inicial (STONE, 2011). Considerando-se que o nível de contaminação foi similar ao observado neste estudo, ressalta-se a importância de um adequado controle de enterobactérias e *E. coli* em amendoins *in natura* como forma de prevenir a exposição do consumidor a este patógeno.

A água de irrigação contaminada podem ser um dos vetores mais comum de transmissão de *E. coli* O157: H7 em produtos dentro do campo ( BEUCHAT, 1996; ACKERS et al., 1998; CARMICHAEL et al., 1999; BRANDL, 2006; BUCK et al., 2003; ARUSCAVAGE et al., 2006; LYNCH et al., 2009).

O solo é outro vetor comum associado como fonte de transmissão de contaminações de produtos de origem vegetal (SOLOMON et al., 2002). A persistência de *E. coli* O157: H7 no solo ocorre devido ao íntimo contato com a planta, sobretudo em períodos de chuva, irrigação aérea ou poeiras transportadas pelo vento. Gagliardi e Karns (2000) relataram que poros do solo podem ser obstruídos devido à chuva, e *E. coli* O157: H7 pode descer abaixo da camada superior no solo para o sistema radicular mais de 2 meses após a aplicação inicial. Estes resultados suportam a hipótese de que se em solo de um produtor há contaminação por *E. coli*, números viáveis do patógeno provavelmente persistirão durante todo o período de crescimento, aumentando o risco de contaminação nas as plantas (SHAW et al., 2015).

Embora o número de surtos associando *E. coli* com bagas de vegetais seja relativamente baixo, acredita-se que haja uma lacuna no nosso conhecimento (CDC, 2011). São limitadas as informações no que se refere à capacidade da *E. coli* sobreviver durante as fases de crescimento de plantas, sendo ainda mais restritas se for considerada a quantidade limitada de estratégias de pós-colheita e de intervenção para eliminar *E. coli* em bagas, junto com a escassez de publicações sobre a sobrevivência do patógeno em bagas e frutos. Desse modo uma melhor compreensão de seu comportamento e sobrevivência pré-colheita é fundamental para o desenvolvimento de estratégias para prevenir futuros surtos de origem alimentar (SHAW et al., 2015).

A Tabela 3 demonstra que em seis das 60 amostras analisadas apresentaram contaminação por *Salmonella* sp., sendo uma amostra da etapa de arranquio de São Paulo (0,064 NMP/g) e cinco da etapa de despencamento (uma de São Paulo – 0,004 NMP/g e três de Minas Gerais - 0,037 a 0,092 NMP/g). Não foi detectada *Salmonella* sp. nas amostras oriundas da Bahia, onde houve altas contagens de enterobactérias, portanto, estas neste caso, não atuaram como bons indicadores microbiológicos para contaminação por *Salmonella* no amendoim (Tabela 3).

São escassos os dados na literatura determinando a contaminação por *Salmonella* sp. em amendoim. Este é o primeiro estudo e, como consequência, os primeiros dados gerados



sobre a ocorrência de *Salmonella* durante as etapas de obtenção do amendoim (colheita). Os baixos níveis de contaminação por *Salmonella* obtidos no presente trabalho se assemelham aos relatos de baixos valores de contaminação pelo patógeno em surtos descritos tendo o amendoim como alimento envolvido. Bansal et al. (2010) observaram presença de *Salmonella* sp. em apenas 0,97% das amostras de amendoim descascados analisadas, com nível de contaminação entre 0,012 e 0,155 NMP/g. A análise de amostras de amendoim com casca provenientes de um recolhimento do produto do mercado varejista norte-americano apontou contaminação acima da encontrada no presente estudo, 38% de positividade, com nível de contaminação variando de <0,03 a 2 NMP/g (KIRK et al., 2004).

Tabela 3: Resultados da pesquisa de *Salmonella* sp. por Estado produtor das etapas de pós-colheita do amendoim

Estado	Etapa	N	<i>Salmonella</i>	
			Amostras positivas (250g)	Contagem (NMP/g)
A	Arranquio	10	0	<0,004*
	Enleiramento	10	0	<0,004
	Despencamento	10	1	<0,004 a 0,004
B	Arranquio	10	1	<0,004 a 0,064
	Enleiramento	10	0	<0,004
	Despencamento	10	1	<0,004 a 0,004
C	Arranquio	10	0	<0,004
	Enleiramento	10	0	<0,004
	Despencamento	10	3	0,037 a 0,092
D	Arranquio	10	0	<0,004
	Enleiramento	10	0	<0,004
	Despencamento	10	0	<0,004

A e B= São Paulo, C= Minas Gerais, D= Bahia

\*LOD: 0,004 NMP/g

Embora o maior número de amostras contaminadas tenha ocorrido após o despencamento das vagens, o patógeno também foi detectado em uma amostra de arranquio,

sugerindo que a *Salmonella* sp. já pode entrar na cadeia produtiva do amendoim em etapas precoces da produção.

A capacidade de sobrevivência de *Salmonella* sp. por longos períodos em produtos de baixa atividade de água já foi relatada em vários trabalhos (TAMMINGA et al., 1976; KOMITOPOULOU & PEÑALOZA, 2009; MANN & BEUCHAT 2011; BEUCHAT et al., 2013) e seria um dos fatores contribuintes para a ocorrência de surtos neste tipo de produto. Uesugi et al. (2006) não observaram redução significativa no inóculo de *Salmonella* sp. após 550 dias de estocagem de amêndoas a - 20 e 4 °C. Após o mesmo período a 23 °C obtiveram taxa de redução de 0,30 log UFC/g/mês. Em um estudo realizado com manteiga de amendoim, Burnett et al. (2000), partindo de um inóculo inicial de *Salmonella* de 5,68 log UFC/g, obtiveram contagens de 1 e 2 log UFC/g após 24 semanas de estocagem a 21 e 4 °C, respectivamente. Park et al. (2008) detectaram *Salmonella* Tennessee artificialmente inoculada em manteiga de amendoim até 2 semanas de estocagem a 22 °C.

O levantamento epidemiológico de surtos de salmonelose envolvendo produtos de baixa atividade de água como castanhas, amendoim e chocolate confirma que a dose infectante é extremamente baixa, chegando a 0,04 NMP/g (LEHMACHER et al., 1995; WEBER et al., 2005). Esta dose está associada à alta porcentagem de gordura, a qual confere proteção contra o ácido gástrico, permitindo a colonização do intestino e a produção de sinais clínicos (D'AOUST, 1977). A contaminação das amostras de amendoim no surto no ano de 2001 que ocorreu na Austrália, no Canadá e no Reino Unido foi de <0,03 a 2 UFC/g (KIRK et al., 2004), portanto sendo importante evitar a contaminação dessa oleaginosa já no campo.

Mesmo que a presença deste patógeno seja muitas vezes relacionada à presença de um manipulador portador, no presente estudo a *Salmonella* só foi detectada nas amostras despencadas mecanicamente, indicando o importante papel da higienização dos equipamentos para prevenção da contaminação.

Em algumas regiões produtivas de amendoim, além da escassez de sementes melhoradas, o aumento do uso de equipamentos e máquinas agrícolas adaptadas ao cultivo do amendoim por pequenos produtores para operações de colheita e pós-colheita contribuiriam para o aumento da produtividade da cultura (FAGUNDES, 2002). Essa prática mecanizada de colheita do amendoim é utilizada nos Estados A, B e C, onde no processo são utilizadas máquinas de arranquio e despencamento, principalmente. Nota-se que nessas etapas foi onde observou-se a presença de *Salmonella*, ao contrário do Estado D onde a colheita como um todo é feita de forma manual e não houve contaminações em nenhuma das etapas analisadas, até mesmo quando era utilizado adubo orgânico no solo. Salienta-se assim, que ao investir em

mecanização agrícola, devem-se seguir quesitos de boas práticas de manutenção e higienização de máquinas e equipamentos, além dos caminhões utilizados no transporte do amendoim do campo para a indústria beneficiadora que também devem passar por esse processo, garantindo assim a higiene da matéria-prima.

A ICMSF (2000; 2011) considera essencial a verificação rotineira da presença de *Salmonella* sp. na matéria-prima, no ambiente de processo e no produto final. Apesar da *Salmonella* sp. ser o principal alvo bacteriano em uma investigação analítica, a presença de outros enteropatógenos como *Escherichia coli* deve ser monitorada. Análises de *Enterobacteriaceae* totais e coliformes são consideradas ferramentas adicionais para fornecer informação sobre as condições higiênico-sanitárias de produtos e processos. Esses micro-organismos são amplamente utilizados na indústria de alimentos como indicadores de higiene e podem ser monitorados em paralelo para verificar as condições gerais de eficácia de processo. Entretanto, não podem substituir o monitoramento direto de *Salmonella* sp., uma vez que baixos níveis de *Enterobacteriaceae* totais ou coliformes não asseguram a ausência deste patógeno (CORDIER, 2008).

Beuchat et al. (2013) afirmam que há a necessidade de conhecimento detalhado das possíveis fontes e rotas de contaminação de *Salmonella* sp. em produtos de baixa atividade de água. Só assim poderão ser estabelecidas medidas de controle suficientemente robustas para gerenciar riscos incomuns e inesperados. Segundo Doyle e Buchanan (2013) não há dados publicados sobre avaliação de risco para as práticas de cultivos, colheita e secagem de castanhas, nozes e amendoim. Os dados existentes são escassos e predominantemente relacionados à investigação de surtos.

## 4.2 Amostras de beneficiamento

Os resultados das análises de atividade de água e pH são mostrados na Tabela 4.

Tabela 4: Atividade de água (Aw) e pH das amostras de amendoim por beneficiador coletadas nas etapas de beneficiamento do amendoim

Beneficiador	Etapa	N	Aw	pH
A	Secagem	5	0,558 ± 0,04	6,55 ± 0,34
	Debulhado	5	0,604 ± 0,04	6,27 ± 0,04
	Seleção	5	0,604 ± 0,01	6,75 ± 0,24
	Blancheado	-	-	-
B	Secagem	5	0,483 ± 0,01	6,35 ± 0,25
	Debulhado	-	-	-
	Seleção	5	0,491 ± 0,01	6,77 ± 0,15
	Blancheado	5	0,442 ± 0,02	6,93 ± 0,05
C	Secagem	5	0,546 ± 0,01	6,75 ± 0,20
	Debulhado	5	0,632 ± 0,06	6,59 ± 0,24
	Seleção	5	0,568 ± 0,01	6,45 ± 0,18
	Blancheado	-	-	-
D	Secagem	5	0,500 ± 0,00	6,22 ± 0,03
	Debulhado	5	0,494 ± 0,01	6,15 ± 0,15
	Seleção	5	0,473 ± 0,01	6,48 ± 0,23
	Blancheado	-	-	-

A Tabela 5 apresenta os valores obtidos de contagens de enterobactérias, coliformes e *E. coli* nas etapas de beneficiamento das indústrias do Estado de São Paulo. Os resultados das análises de enterobactérias variaram entre 1,30 a 7,98 log UFC/g e coliformes de <1 a 7,32 log UFC/g. Não houve amostras com presença de *E. coli*.

Tabela 5: Contagens de Enterobactérias, coliformes e *Escherichia coli* das amostras por beneficiador das etapas de beneficiamento do amendoim

Beneficiador	Etapa	N	Enterobactérias (log UFC/g)	Coliformes (log UFC/g)	<i>E. coli</i> (log UFC/g)
A	Secagem	5	4,11 a 7,84*	3,08 a 7,32*	<1*
	Debulhado	5	2,58 a 4,75	1,00 a 1,70	<1
	Seleção	5	1,30 a 2,86	<1 a 2,26	<1
	Blancheado	-	-	-	-
B	Secagem	5	5,23 a 7,37	2,63 a 5,49	<1
	Debulhado	-	-	-	-
	Seleção	5	3,57 a 4,62	<1 a 3,78	<1
	Blancheado	5	1,71 a 2,81	1,00 a 1,60	<1
C	Secagem	5	1,90 a 4,03	1,00 a 2,85	<1
	Debulhado	5	2,85 a 4,85	2,26 a 3,49	<1
	Seleção	5	2,23 a 4,06	<1 a 2,20	<1
	Blancheado	-	-	-	-
D	Secagem	5	4,72 a 5,29	2,11 a 2,52	<1
	Debulhado	5	1,30 a 2,94	<1 a 2,23	<1
	Seleção	5	1,30 a 3,09	<1 a 2,15	<1
	Blancheado	-	-	-	-

\*LOD: 1 log UFC/g

As altas contagens de enterobactérias e coliformes, principalmente de produtor B, se referem a etapa de secagem. Esses resultados podem ser oriundos de práticas inadequadas durante a manipulação da matéria-prima recebida do produtor, assim como a falta de manutenção e controle de temperatura de secagem dos fornos, podendo essas etapas ser consideradas como críticas para o controle durante as etapas de beneficiamento do amendoim, podendo indicar presença de possível patógeno.

Na Tabela 6 são apresentados os resultados da ocorrência de *Salmonella* em etapas de beneficiamento do amendoim.

Tabela 6: Resultados da pesquisa de *Salmonella* sp. por beneficiador nas etapas de beneficiamento do amendoim.

Beneficiador	Etapa	N	<i>Salmonella</i>	
			Amostras positivas (250g)	Contagem (NMP/g)
A	Secagem	10	0	<0,004
	Debulhado	10	0	<0,004
	Seleção	10	0	<0,004
	Blancheado	-	-	-
B	Secagem	10	2	0,004 a 0,004
	Debulhado	-	-	-
	Seleção	10	0	<0,004
	Blancheado	10	0	<0,004
C	Secagem	10	0	<0,004
	Debulhado	10	0	<0,004
	Seleção	10	0	<0,004
	Blancheado	-	-	-
D	Secagem	10	0	<0,004
	Debulhado	10	0	<0,004
	Seleção	10	0	<0,004
	Blancheado	-	-	-

\*LOD: 0,004 NMP/g

De uma maneira geral os amendoins que são beneficiados não são considerados fonte de risco para doenças de origem alimentar e surtos de salmoneloses, principalmente por sofrerem tratamentos que reduzem a atividade de água para valores próximos a 0,28, se tornando uma barreira para multiplicação de patógenos, se as condições sanitárias adequadas forem mantidas (WOOFDROOF, 1983). Porém, existem relatos de alguns surtos e estes estão relacionados com amendoins beneficiados e ocorreram devido às boas práticas de fabricação precárias e tratamentos térmicos inadequados (CHANG et al., 2013).

Os resultados deste trabalho evidenciaram a presença de *Salmonella* ainda que em baixas concentrações, apenas em amostras de secagem (Tabela 6). Woodroof (1983) considera a etapa de secagem ao forno em torno de 130 °C um ponto crítico devido à possível

sobrevivência de micro-organismos patogênicos em alimentos secos e de baixa umidade, além da capacidade de algumas bactérias patogênicas como a *Salmonella* resistirem a essa barreira de controle principalmente em amendoins devido ao seu alto teor de gordura (SHACHAR & YARON, 2006; PODOLAK et al., 2010; ICMSF, 2011).

De acordo com Mazzotta (2001) seria necessário um tratamento térmico de 71 °C/3seg para redução de 5 log UFC/g deste micro-organismo em suco de laranja. Contudo, em noz pecan o tratamento a 120 °C por 20min reduziu apenas 1 ciclo logarítmico da população de *Salmonella* sp. (BEUCHAT & MANN, 2011). Estudos realizados nos Estados Unidos evidenciam o risco de permanência do patógeno mesmo após tratamento térmico elevado (>80 °C). Shachar e Yaron (2006) verificaram redução de *Salmonella* sp. de 3,2 log UFC/g após aquecimento de manteiga de amendoim a 90 °C por 50min. Ma et al. (2009) detectaram a presença do micro-organismo em manteiga de amendoim mesmo após tratamento térmico a 90 °C por 30min.

Sirsat et al. (2011) considera que o emprego de uma etapa de processo térmico subletal ao invés de reduzir a população inicial de *Salmonella* sp. poderia induzir a mecanismos de resposta ao estresse aumentando assim a resistência do patógeno. O Food and Drug Administration (FDA) recomenda a validação de processo térmico em indústrias que utilizam amendoim ou derivados como ingredientes, estabelecendo como critério a capacidade de redução de *Salmonella* sp. em 5 ciclos logarítmicos (FDA, 2009).

Nota-se que a *Salmonella* apenas estava presente em uma amostra oriunda da etapa anterior a secagem, levando ao pressuposto que se nas etapas seguintes a *Salmonella* seja eliminada. Alguns autores têm estudado a existência de contaminação cruzada e recontaminação apontando esses fatores como as principais causas de surtos de doenças de origem alimentar (CARRASCO et al., 2012). Os surtos que estão relacionados aos produtos de amendoim, principalmente com manteiga e pasta de amendoim, reforçam a hipótese dos autores sobre recontaminação e contaminação cruzada pós-processamento principalmente por manutenção inadequada de amendoins blanchados ou torrados que serão utilizados como ingredientes na fabricação desses produtos.

A contaminação cruzada é o termo geral que se refere a “transferência direta ou indireta de bactérias ou vírus de um produto contaminado para um produto contaminado” e a recontaminação é definida como a “contaminação de alimentos depois que o mesmo foi submetido a um processo de inativação de micro-organismos” (PERZ-RODRÍGUEZ, et al., 2008).

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS) (1992), 25% dos surtos estão relacionados com a contaminação cruzada e eventos que envolvem práticas de higiene deficientes, equipamentos contaminados, contaminação por manipuladores de alimento, processamento e armazenamento inadequados. Quando a sobrevivência de *Salmonella* é permitida pela contaminação cruzada e recontaminação, vários fatores como a temperatura inadequada durante a preparação de alimentos, bem como a sobrevivência devido ao mau cozimento ou cenários de manipulação críticos estão envolvidos (CARRASCO et al., 2012).

Os pesquisadores estão cada vez mais estudando sobre a sobrevivência de *Salmonella* em produtos de baixa atividade de água e estudos sobre a possibilidade dessa bactéria colonizar diferentes superfícies inertes que ficam em contato com alimentos formando biofilmes e atuando como uma forma contínua de contaminação e causa de surtos principalmente pelos produtos já acabados, assim como esses estudos também irão suprir as lacunas do nosso conhecimento sobre a sobrevivência de patógenos alimentares em bagas e produtos de origem vegetal fundamentando o desenvolvimento de estratégias de prevenção (CARRASCO et al., 2012; SHAW et al., 2015).

Embora a *Salmonella* seja um dos patógenos alimentares mais estudados, ainda há muitas questões a serem elucidadas, principalmente em produtos de baixa atividade de água, sobretudo de origem vegetal.



## 5 CONCLUSÃO

Durante o estudo foi encontrada *Salmonella* tanto nas amostras de campo quanto nas de beneficiamento do amendoim. Nas amostras de campo houve presença do patógeno em amostras de despencamento das vagens nos Estados de São Paulo e Minas Gerais, e em ambos a etapa era feita de forma mecanizada, sendo importante adoção de medidas para prevenção da contaminação do alimento já em etapas precoces de obtenção.

As altas contagens de enterobactérias e *E. coli*, principalmente nas etapas de campo, sugerem condições sanitárias de manipulação não eficientes, porém não foram parâmetros decisivos para apontar a presença de *Salmonella*, sendo que por vezes houve altas contagens e o patógeno não foi identificado na amostra, assim como o tipo de cultivo do amendoim, rasteiro ou ereto, que não influenciou diretamente nas contagens de enterobactérias e de *Salmonella*, pois em ambos os Estados analisados houve contagens elevadas sobretudo nas etapas de pós-colheita em ambas cultivares.

Nas etapas de beneficiamento analisadas foi encontrada *Salmonella* apenas na etapa de secagem, isto sugere que devido à existência de surtos relacionados aos produtos acabados de amendoim, a contaminação cruzada e re-contaminação possuem papel fundamental, ressaltando-se a importância de maiores estudos para se definir as etapas críticas para o retorno do patógeno na cadeia de processamento de produtos à base de amendoim.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo fornece dados novos à literatura sobre a prevalência de *Salmonella* na cadeia produtiva do amendoim e serve como alicerce para mais estudos com produtos de origem vegetal e principalmente em produtos de baixa atividade de água. Mais estudos relacionados com a sobrevivência do patógeno e sobre sua presença nos produtos acabados a base de amendoim se tornam necessários a fim de elucidar a rota de contaminação completa da *Salmonella* e fornecer dados mais precisos sobre questões de re-contaminação e contaminação cruzada por esse micro-organismo.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABICAB - Associação Brasileira da Indústria de Chocolate, Cacau, Amendoim, Balas e Derivados Amendoim, 2013. Disponível em <<http://www.abicab.org.br/associados-3/>>. Acesso em: março de 2015.

ABICAB - Associação Brasileira da Indústria de Chocolate, Cacau, Amendoim, Balas e Derivados Amendoim, 2014. Disponível em <<http://www.abicab.org.br/associados-3/>>. Acesso em: março de 2015.

ACKERS, M.L.; MAHON, B. A; LEAHY, E.; COODE, B.; DAMROW, T.; HAYES, P. S.; BIBBI, W. F.; RICE, D. H.; BARRETT, T. J.; HUTWAGNER, L.; GRIFFIN, P. M.; SLUSTKER, L. An outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections associated with leaf lettuce consumption. **Journal Infectious Diseases**, v.177, p. 1588-1593, 1998.

ALLERBERGER, F.; LIESEGANG, A.; GRIF, K.; PRAGER, R.; DANZL, J.; HÖCK, F. Occurrence of *Salmonella* Enterica serovar Dublin in Austria. **Euro Surveillance**, v. 7, p. 325, 2002.

AMSON, G. V.; HARACEMIV, S. M. V.; MASSON, M. L. Levantamento de dados epidemiológicos relativos a ocorrência de surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTAs) no Estado do Paraná-Brasil, no período de 1978 a 2000. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 30(6), p. 1139-1145, 2006.

ANDREWS, W.H.; HAMMACK, T.S. *Salmonella* In **Food and Drug Administration, Bacteriological Analytical Manual Online**, 2011. Disponível em <<http://www.cfsan.fda.gov/ebam/bam-5.html>>. Acesso em 06/09/2014.

ANGULO, F. J.; SWERDLOW, D. L. Epidemiology of human *Salmonella enterica* serovar Enteritidis infections in the United States. In A. Saeed (Ed.), **Salmonella enterica serovar enteritidis in humans and animals** (pp. 33–41). (1st Edition). Ames, Iowa: Iowa State University Press, 1999.

ARUSCAVAGE, D.; LEE, K.; MILLER, S.; LEJEUNE, J. T. Interactions affecting the proliferation and control of human pathogens on edible plants. **Journal Food Science**, v.71, p. 89-99, 2006.

BALBANI, A. P. S.; BUTUGAN, O. Contaminação biológica de alimentos. **Pediatria**, v. 23 (4), p. 320-328, 2001.

BANSAL, A. T. M.; JONES, T. M.; ABD, S. J.; DANYLUK, M. D.; HARRIS, L. J. Most-Probable-Number determination of *Salmonella* levels in naturally contaminated raw almonds using two samples preparation methods. **Journal of Food Protection**, 73, 1986-1992, 2010.

BARBOSA, R.M; HOMEM, B.F.M.; TARSITANO, M.A.A. Custo de produção e lucratividade da cultura de amendoim no município de Jaboticabal, São Paulo. **Revista Ceres**, Viçosa, v.61, n.4, p. 475-481, 2014.

BETTS, R. Water, water, everywhere nor any drop to drink—The problem of Salmonella in low-moisture foods. IAFP Special Interest Session on *Salmonella* growth, persistence and survival in low-moisture foods and their environment—Strategies for control. **94th IAFP Annual Meeting**. Buena Vista, Florida. 2007.

BEUCHAT, L.R. Pathogenic microorganisms associated with fresh produce. **Journal Food Protection**, v. 59, p. 204-216, 1996.

BEUCHAT, L.R.; KOMITOPOULOU, E.; BECKERS, R.; BETT, R. P.; BORDICHON, F.; FANNING, S.; JOOSTEN, H. M.; TER KUILE, B. H. Low-water activity foods: increased concern as vehicles of foodborne pathogens. **Journal of Food Protection**, v. 76, p. 150-172, 2013.

BRANDL, M.T. Fitness of human enteric pathogens on plants and implications for food safety. **Annual Revist Phytopathology**, v. 44, p. 367-392, 2006.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 12. Regulamento técnico de boas práticas de fabricação para estabelecimentos industrializadores de amendoins processados e derivados e a lista de verificação das boas práticas de fabricação para estabelecimentos industrializadores de amendoins processados e derivados. **Diário Oficial da União**, Brasília, 07 de julho de 2003.

BRASIL. Ministério Da Saúde. Secretaria De Vigilância Em Saúde. Departamento De Vigilância Epidemiológica. Coordenação Geral De Doenças Transmissíveis. Vigilância Epidemiológica das Doenças Transmitidas por Alimentos, São Paulo, 07 de agosto de 2014. Disponível em: <[http://www.anrbrasil.org.br/new/pdfs/2014/3\\_PAINEL\\_1\\_ApresentacaoRejaneAlvesVigilancApresentacaoReja-VE-DTA-Agosto\\_2014\\_PDF.pdf](http://www.anrbrasil.org.br/new/pdfs/2014/3_PAINEL_1_ApresentacaoRejaneAlvesVigilancApresentacaoReja-VE-DTA-Agosto_2014_PDF.pdf)>. Acesso em: maio de 2015.

BUCK, J.W.; WALCOTT, R.R.; BEUCHAT, L.R. Recent trends in microbiological safety of fruits and vegetables. Online. **Plant Health Program.**, 2003. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1094/PHP-2003-0121-01-RV>>. Acesso em: maio de 2015.

BURNETT S.L; GEHM, E. R.; WEISSINGER,W. .; BEUCHAT, L. R. Survival of Salmonella in peanut butter and peanut butter spread. **Journal of Applied Microbiology**, v. 89, p. 472-477, 2000.

CARMICHAEL, I.; HARPER, I. S.; COVENTRY, M. J.; TAYLOR, P. W. J.; WAN, J.; HICKEY, M. W. Bacterial colonization and biofilm development on minimally processed vegetables. **Journal Applied Microbiology**, v. 85, p. 45S-51S, 1999.

CARMO, G. M. I.; OLIVEIRA, A. A.; DIMECH, C. P.; SANTOS, D. A.; ALMEIDA, M. G.; BERTO, L. H.; ALVES, R. M. S.; CARMO, E. H. Vigilância epidemiológica das doenças transmitidas por alimentos no Brasil de 1999-2004. **Boletim Eletrônico Epidemiológico**, v. 6, p. 1-7, 2005.

CARRASCO, E.; MORALES-RUEDA, A.; GARCÍA-GIMENO, R. M. Cross-contamination and recontamination by Salmonella in foods: A review. **Food Research International**, v. 45, p. 545-556, 2012.

CDC – (CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION). Multistate outbreak of Salmonella serotype tennessee infections associated with peanut butter. United States, 2006-2007. **Morbidity and Mortality Weekly Report**, v. 56, p. 521-524, 2007.

CDC – (CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION). Multistate outbreak of Salmonella infections associated with peanut butter and peanut butter-containing products. United States, 2008-2009. **Morbidity and Mortality Weekly Report**, v. 58, p. 85-90, 2009.

CDC – (CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION). Outbreak of Salmonellosis associated with beef jerky. New Mexico, 1995. **Morbidity and Mortality Weekly Report**, v. 44, p. 785–804, 1995.

CDC – (CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION). Outbreak of *Salmonella* serotype Enteritidis infection associated with raw almonds. United States and Canada, 2003–2004. **Morbidity and Mortality Weekly Report**, v. 53, p. 484–487, 2004.

CDC – (CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION). Multistate outbreak of *Salmonella* Typhimurium infections associated with eating ground beef—United States, 2004. **Morbidity and Mortality Weekly Report**, v. 50, p. 180–182, 2006.

CHALMERS, R.M.; AIRD, H.; BOLTON, F.J. Waterborne Escherichia coli O157. **Journal Applied Microbiology**, v. 88, p. 124S-132S, 2000.

CHANG, A.S.; SREEDHARAN, A.; SCNEIDER, K.R. Peanut and peanut products: a food safety perspective. **Food Control**, v. 32, p. 296-303, 2013.

CHEN, Y. H.; SCOTT, V. N.; FREIER, T. A.; KUEHM, J.; MOORMAN, M.; MEYER, J.; MORILLE-HINDS, T.; POST, L.; SMOOT, L.; HOOD, S.; SHEBUSKI, J.; BANKS, J. Control of *Salmonella* in low-moisture foods. III: process validation and environmental monitoring. **Food Protection Trends**, v. 29, p. 493-508, 2009.

COGAN, T. A.; HUMPHREY, T. J. The rise and fall of *Salmonella* Enteritidis in the UK. **Journal of Applied Microbiology**, v.94, p. 114S–119S, 2003.

CONAB - (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO) (2012) **Acompanhamento de safra brasileira: grãos, oitavo levantamento**. Brasília. Disponível em:

<[http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/12\\_05\\_10\\_08\\_49\\_52\\_boletim\\_mai\\_2012.pdf](http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/12_05_10_08_49_52_boletim_mai_2012.pdf)> . Acesso em: março de 2015.

CORDIER, J. L. Production of powdered infant formula and microbiological control measures, p. 145-185. In: J.M. Faber, S. Forsythe (eds.). *Enterobacter sakazakii*. **ASM Press**. Washington, DC, 2008.

COSTALUNGA, S.; TONDO, E. C. Salmonellosis in Rio Grande do Sul, Brazil. **Brazilian Journal of Food Microbiology**, v. 33, p. 342-346, 2002.

D'AOUST, J.Y. *Salmonella* and the chocolate industry. A review. **Journal of Food Protection**, v. 40, p. 718-727, 1977.

DALTON, C. B.; GREGORY, J.; KIRK, M. D.; STAFFORD, R. J.; GIVNEY, R.; KRAA, E. Foodborne disease outbreaks in Australia, 1995 to 2000. **Communicable Diseases Intelligence**, v.28, p.211–224, 2004.

DOYLE, M.P.; BUCHANAN, R.L. **Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers**. Ed. 4, ASM Press Washington, 2013.

EMBRAPA- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Cultivo do amendoim**. 2013. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Amendoim/CultivodoAmendoim/>>. Acesso em: março de 2015.

EMBRAPA- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Cultivo do amendoim**. 2008. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Amendoim/CultivodoAmendoim/>>. Acesso em: março de 2015.

EMBRAPA- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Cultivo do amendoim**. 2006. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Amendoim/CultivodoAmendoim/>>. Acesso em: maio de 2015.

EPA - UNITED STATE ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **Confectionary products: peanut processing**. 1995. Chapter 9: Food and Agricultural Industries. AP 42, 5th Ed, Vol 1. Disponível em: <<http://www.epa.gov/ttnchie1/ap42/ch09/>>. Acesso em: março de 2015.

EFSA - EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY. The Community Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in the European Union in 2008. **EFSA Journal**, v.8,p.1496,2010.

FOLEY, S. L.; LYNNE, A. M.; NAYAK, R. Salmonella challenges: Prevalence in swine and poultry and potential pathogenicity of such isolates. **Journal of Animal Science**, v.86, p. 149–162, 2008.

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da segurança alimentar**. Porto Alegre: Atmed. 424 p, 2013.

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da segurança alimentar**. Porto Alegre: Atmed. 420 p, 2007.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Ed. Atheneu, 1996.

FREITAS, S.M.; MARTINS, S.S.; NOMI, A.K.; CAMPOS, A.F. Evolução do mercado brasileiro de amendoim. In: SANTOS, R.C. O agronegócio do amendoim no Brasil. Campina Grande: Embrapa Algodão; Brasília: **Embrapa Informação Tecnológica**, p.15-44, 2005.

GAGLIARDI, J.V.; KARNS, J.S. Leaching of Escherichia coli O157:H7 in diverse soils under various agricultural management practices. **Applied Environmental Microbiology**, v. 66, p.877-883, 2000.

GONÇALES, E.; NOGUEIRA, J. H. C.; FONSECA, H.; FELICIO, J. D.; PINO, F. A.; CORRÊA, B. Mycobiota and mycotoxins in Brazilian peanut kernels from sawing to harvest. **International Journal of Food Microbiology**, v. 123, p. 184-190, 2008.

GONÇALVES, J.A.; PEIXOTO, C.P.; LEDO, C.A.S. Componentes de produção de amendoim em diferentes arranjos espaciais no Recôncavo Baiano. **Revista Brasileira de Oleaginosas e Fibrosas**, Campina Grande, v.8, n. 2/3, p. 801-812, 2004.

GURTLER, J. B; HINTON, A. J.; BAILEY, R. B; CRAY, W. C. J.; MAINERSMANN, R. J.; BALL, T. A.; JIN, T. Z. Salmonella isolated from ready-to-eat pasteurized egg products: Thermal resistance, biochemical profile, and fatty acid analysis. **International Journal of Food Microbiology**, v. 206, p. 109-117, 2015.

HIRAMATSU, R.; MATSUMOTO, M.; SAKAE, K.; MIYASAKI, Y. Ability of Shiga toxinproducing Escherichia coli and Salmonella spp. to survive in a desiccation model system and in dry foods. **Applied and Environmental Microbiology**, v.71, p.6657–6663, 2005.

IAL – INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análises de alimentos**, 2008. Disponível em: <[http://www.crq4.org.br/sms/files/file/analisedealimentosial\\_2008.pdf](http://www.crq4.org.br/sms/files/file/analisedealimentosial_2008.pdf)>. Acesso em: 21/09/2014.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Produção agrícola**. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/estadosat/temas.php?sigla=al&tema=pamclo2007>> Acesso em: março de 2015.

ISLAM, M.; DOYLE, M. P.; PHATAK, S. C.; MILLNER, P.; JIANG, X. P. Persistence of enterohemorrhagic Escherichia coli O157:H7 in soil and on leaf lettuce and parsley grown in fields treated with contaminated manure composts or irrigation water. **Journal of Food Protection**, v. 67, p. 1365-1370, 2004.

JAY, J. M. **Microbiologia de alimentos**. 6. ed. Porto Alegre, RS. Ed. Artmed, 711 p, 2005.

JANNING, B., in VELD, P. H., NOTERMANS, S.; KRAMER, J. Resistance of bacterial strains to dry conditions: Use of anhydrous silica gel in a desiccation model system. **Journal of Applied Bacteriology**, v.77, p. 319–324, 1994.

JUVEN, B. J.; COX, N. A.; BAILEY, J. S.; THOMSON, J. E.; CHARLES, O. W.; SHUTZE J. V. Survival of Salmonella in dry food and feed. **Journal of Food Protection**, v.47, p.445–448, 1984.



KASAI, F.S.; DEUBER, R. Manejo de plantas daninhas na cultura do amendoim. Série Tecnologia APTA. **Boletim técnico IAC**, p. 23 Instituto Agronômico, Campinas, 2011.

KILLALEA, D.; WARD, L. R.; ROBERTS, D.; DE LOUVOIS, J.; SUFI, F.; STUART, J. M. International epidemiological and microbiological study of outbreak of *Salmonella agona* infection from a ready to eat savoury snack: England and Wales and the United States. **British Medical Journal**, v.313, p.1105-1107, 1996.

KIRK, M. D.; LITTLE, C. L.; LEM, M.; FYFE, M.; GENOBILE, D.; TAN, A.; An outbreak due to peanuts in their shell caused by *Salmonella enterica* serotypes Stanley and Newport – Sharing molecular information to solve international outbreak. **Epidemiology and Infection**, ed. 132, p. 571-577, 2004.

KOMITOPOULOU, E.; PEÑALOZA W. Fate of *Salmonella* in dry confectionery raw materials. **Journal of Applied Microbiology**, v.106, p. 1892-1900, 2009.

KORNACKI, J.L.; JOHNSON, J.L. *Enterobacteriaceae*, coliforms and *Escherichia coli* quality and safety indicators. In: Downes, F.P. and Ito, K. (eds). **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**, 4 th ed. American Public Health Association, Washington, DC, 2001, p.69-82.

LEHMACHER, A., J.; BOCKEMÜHL; S. ALEKSIL. Nationwide outbreak of human salmonellosis in Germany due to contaminated Paprika and Paprika-powdered potato chips. **Epidemiology and Infection**, ed. 115, p. 501-511, 1995.

LITTLE, C. L.; RAWAL, N.; PINNA, E. D.; McLACHLIN, J. Survey of *Salmonella* contamination of edible nut kernels on retail sale in the UK. **Food Microbiology**, ed. 27, p. 171-174, 2010.

LYNCH, M.F.; TAUXE, R.V.; HEDBERG, C.W. The growing burden of foodborne outbreaks due to contaminated fresh produce: risks and opportunities. **Epidemiology and Infection**. v.137, p.307-315, 2009.

MA, L.; ZHANG, G.; GERNER-SMIDT, P.; MANTRIPRAGADA, V.; EZEIKE, I.; DOYLE, M. P. Thermal inactivation of *Salmonella* in peanut butter. **Journal of Food Protection**, v. 72, p. 1596-1601, 2009.

MANN, D.A.; BEUCHAT, L.R.; Inactivation of *Salmonella* on pecan nutmeats by hot air treatment and oil roasting. **Journal of Food Protection**, v,74, p.1441-1450, 2011.

MATTES, R. D.; KRIS-ETHERTON, P. M.; FOSTER, G. D. Impact of peanuts and tree nuts on body weight and health weight loss in adults. **The Journal of Nutrition**, v.138, p.1741S-1745S, 2008.

MAZZOTTA, A.S. Thermal Inactivation of Stationary-phase and acid-adapted *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* and *Listeria monocytogenes* in fruit juices. **Journal of Food Protection**, ed. 64, p. 315-320, 2001.

MILANI, J.S.L; BISOL, M. V.; ZIMMER, F. C.; VASCONCELOS, J. R.; BARIN, J. S.; FLORES, E. M. M.; GIACOMELLI, S. R. Qualificação de oleaginosas para produção de biodiesel na região do Médio Alto Uruguai/RS. **Anais de XVI Encontro de Química da Região Sul**, Blumenau, SC, 2008.

MÜRMANN, L.; SANTOS, M. C.; LONGARAY, S. M.; BOTH, J. M. C.; CARDOSO, M. Quantification and molecular characterization of *Salmonella* isolated from food samples involved in salmonellosis outbreaks in Rio Grande do Sul, Brazil. **Brazilian Journal of Food Microbiology**, v. 39, p. 529-534, 2008.

NADVORNY, A.; FIGUEREDO, D. M. S.; SCHIMIDT, V. Ocorrência de *Salmonella* sp. em surtos de doenças transmitidas por alimentos no Rio Grande do Sul em 2000. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 32, p. 47-51, 2004.

NAKAI, V. K.; ROCHA, L. O.; GONÇALES, E.; FONSECA, H.; ORTEGA, M. M.; CORRÊA, B. Distribution of fungi and aflatoxins in stored peanut variety. **Food Chemistry**, v. 106, p. 285-290, 2008.

NASCIMENTO, F. C. A. Aspectos sócio-econômicos das doenças veiculadas pelos alimentos. **Nutrição em Pauta**, v. 40, p. 22-26, 2000.

NOTERAMANS, S.; HOOGENBOOM-VERGEGAAL, A. H. Existing and emerging foodborne diseases. **International Journal of Food Microbiology**, v. 15(3-4), p. 197-205, 1992.

PARK, E. J.; OH, S.W.; KANG, D. H. Fate of *Salmonella* tennessee in peanut butter at 4 and 22 °C. **Journal of Food Science**, v.73, p. 82- 86, 2008.

PÉREZ-RODRÍGUEZ, F.; VALERO, A; CARRASCO, E.; GARCÍA-GIMENO, R. M.; ZURERA, G. Understanding and modeling bacterial transfer to foods: A review. **Trends in Food Science and Technology**, v.19, p.131–144, 2008.

PITT, J. I.; TANIWAKI, M. A.; COLE, M. B. Mycotoxin production in major crops as a influenced by growing harvesting storage and processing with emphasis on the achievement of Food Safety objectives. **Food Control**, v. 32, p. 205-215, 2013.

PODOLAK, R.; ENACHE, E.; STONE, W.; BLACK, D. G; ELLIOT, P. H. Sources and Risk Factors for Contamination, Survival, Persistence, and Heat Resistance of *Salmonella* in Low – Moisture Foods. **Journal of Food Protection**, v. 73, p. 1919-1936, 2010.

POPPE, C. Epidemiology of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis. In A. M. Saeed, R. K. Gast, M. E. Potter, & P. G. Wall (Eds.), ***Salmonella enterica* serovar Enteritidis in humans and animals**. Ames: Iowa State University Press, p.3-18 1999.

RODRIGUES, K. L.; MOREIRA, A. N.; ALMEIDA, A. T. S.; CHIOCHETTA, D.; RODRIGUES, M. J.; BROD, C. S.; CARVALHAL, J. B.; ALEIXO, J. A. G. Intoxicação estafilocócica em restaurante institucional. **Ciência Rural**, v. 34, p. 297-299, 2004.

RYAN, M. J.; WALL, P. G.; GILBERT, R. J. Risk factors for outbreaks of infectious intestinal disease linked to domestic catering. **Communicable Disease Report**, v.6, p.179–183, 1996.

SANTOS, R. C.; MELO FILHO, P.A.; GOMES, L.R. Produção de amendoim sob diferentes fontes de adubação na Zona da Mata de Pernambuco. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**, v. 85, Campina Grande, Embrapa 2007.

SANTOS, R.C; REGO, G. M.; SILVA, A. P. G.; VASCONCELOS, J. O. L.; COUTINHO, J. B.; MELO FILHO, P. A. Produtividade de linhagens avançadas de amendoim em condições de sequeiro no Nordeste brasileiro. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.14, p.589-593, 2010.

SANTOS, R.C.; GODOY, J.I.; FÁVERO, A.P. **Melhoramento do amendoim**. In: SANTOS, R.C. O agronegócio do amendoim no Brasil., Ed. Campina Grande, p.123-192, 2005.

SANTOS, L. R.; NASCIMENTO, V. P.; FLORES, M. L.; ROSEK, H.; D’ANDREA, A. A.; ALBURQUERQUE, M. C.; RAMPANELLI, Y.; MACHADO, N. P.; RIOS, S.; FERNANDES, S. A. *Salmonella enteritidis* isoladas de amostras clínicas de humanos e de alimentos envolvidos em episódios de toxinfecções alimentares, ocorridas entre 1995 e 1996, no Estado do Rio Grande do Sul. **Higiene Alimentar**, v. 16, p. 93-99, 2002.

SCHEIL, W., CAMERON, S.; DALTON, C.; MURRAY, C.; WILSON, D. A South Australian *Salmonella* Mbandaka outbreak investigation using a database to select controls. Australian and New Zealand. **Journal of Public Health**, v.22, p.536-539, 1998.

SHACHAR, D.; YARON, S. Heat tolerance of *Salmonella enterica* serovars Agona, Enteritidis, and Typhimurium in peanut butter. **Journal of Food Protection**, v., p.2687–2691, 2006.

SHAW, A. L., et al. Survival of *Escherichia coli* on strawberries grown under greenhouse conditions. **Food Microbiology**, v.46, p.200-203, 2015.

SIRSAT, S.A.; BURKCHOLDER, K. M.; SHEFFIELD, D.; MUTHAIYAN, A.; DOWD, S. E.; BHUNIA, A. K.; RICKE, S. C. Effect of sublethal heat stress on *Salmonella* Typhimurium virulence. **Journal of Applied Microbiology**, v. 100, p. 813-822, 2011.

SMITH, J. P.; DAIFAS, D. P.; EL-KHRY, W.; KOUKOUTSIS, J.; EL-KHRY, A. Shelf life and safety concerns of bakery products: A review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.44, p.19–55, 2004.

SOLOMON, E.B.; YARON, S.; MATTHEWS, K.R. Transmission of *Escherichia coli* O157:H7 from contaminated manure and irrigation water to lettuce plant tissue and its subsequent internalization. **Applied Environmental Microbiology**, v. 68, p.397-400, 2002.

STONE, C. Fresh Strawberries From Washington County Farm Implicated in E. Coli O157 Outbreak in NW Oregon. In: **FDA: Recalls, M.W., & Safety Alerts** (Ed.), 2011.

TAMMINGA, S.K.; BEUMER, R. R.; KAMPELMACHER, E. H.; van LEUSDEN, F. M. Survival of *Salmonella* Eastbourne and *Salmonella* Typhimurium in chocolate. **Journal of Hygiene**, v.76, p. 41-47, 1976.

TODAR, K. **Electronic book**. Disponível em: <<http://www.textbookofbacteriology.net/>> e E-mail: <kentodar@textbookofbacteriology.net>. Acesso em: março de 2015. 2008.

TODD, E. C. Epidemiology of foodborne diseases: A worldwide review. **World Health Statistics Quarterly**, v.50, p.30–50, 1997.

TSCHAPE, H.; LIESENGANG, A.; GERICKE, B.; PRAGER, R.; RABSCH, W.; HELMUTH, R.. Ups and downs of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis in Germany. In A.M. SAEED, R. K., et al. (Eds.), ***Salmonella enterica* serovar Enteritidis in humans and animals**. Ames: Iowa State University Press, p. 51-61, 1999.

UESUGI, A.R., et al. Survival of *Salmonella* Enteritidis phage type 30 on inoculated almonds stored at -20, 4, 23 and 35°C. **Journal of Food Protection**, v.69, p.1851-1857, 2006.

USDA – UNIDET STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. **Agriculture Baseline Projections**. Disponível em: <<http://www.ers.usda.gov>>. Washington, D.C. Acesso em: março de 2015.

WANG, G.D.; DOYLE, M.P. Survival of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157: H7 in water. **Journal of Food Protection**, v.61, p.662-667, 1998.

WELKER, C. A. D; BOTH, J. M. C.; LONGARAY, S. M.; HAAS, S.; SOEIRO, M. L. T.; RAMOS, R. C. Análise microbiológica de alimentos envolvidos em surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTA) ocorridos no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Bociências**, v. 8, n. 1, p. 44-48, 2010.

WERBER D.; DREESMAN, J.; FEIL, F.; VAN TREEK, U.; FELL, G.; ETHELBERG, S.; MAURI, A. M.; ROGGETIN, P.; PRAGER, R.; FISHER, I.; BEHNKE, S. C.; BARTELT, E.; WEISE, E.; ELLIS, A.; SIITONEN, A.; ANDERSSON, Y.; TSCHAPE, H.; KRAMER, M. H.;AMMON, A. International outbreak of Salmonella Oranienburg due to German chocolate. **BMC Infectious Diseases**, v.5, p.7-17, 2005.

WOODROOF, J.G. **Peanut: production, processing, products**, Ed. 3, Westport, CN: The Avi Publishing Company, 1983.

YATES, A. *Salmonella* (non-typhoidal). In CRAIG, D.; BARTHOLOMAEUS, A. (Eds.), **Agents of Foodborne Illness**. Canberra: Food Standards Australia New Zealand, 2011.