



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ**  
**CAMPUS PROF<sup>a</sup> CINOBELINA ELVAS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**QUALIDADE MICROBIOLÓGICA E FÍSICO-QUÍMICA**  
**DA CARNE MOÍDA BOVINA COMERCIALIZADA EM**  
**BOM JESUS-PI**

**MARIA SANTOS OLIVEIRA**

**Bom Jesus-PI**

**2017**

**MARIA SANTOS OLIVEIRA**

**QUALIDADE MICROBIOLÓGICA E FÍSICO-QUÍMICA  
DA CARNE MOÍDA BOVINA COMERCIALIZADA EM  
BOM JESUS-PI**

Orientador: Prof. Dr. Antonio Augusto Nascimento Machado Júnior

Dissertação apresentada ao Campus Profa. Cinobelina Elvas da Universidade Federal do Piauí, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação Zootecnia, na área de Nutrição e Produção de Alimentos, para obtenção do título de Mestre.

Bom Jesus-PI

2017

FICHA CATALOGRÁFICA  
Universidade Federal do Piauí  
Biblioteca Setorial de Bom Jesus  
Serviço de Processamento Técnico

O48q Oliveira, Maria Santos.  
Qualidade microbiológica e físico-química da carne bovina  
comercializada em Bom Jesus-Pi. / Maria Santos Oliveira. –  
2017.  
81 f.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Piauí,  
Campus Prof.<sup>a</sup> Cinobelina Elvas, Programa de Pós-Graduação  
em Zootecnia, área de Produção Animal (Nutrição e produção  
de alimentos), Bom Jesus-Pi, 2017.

Orientação: “Prof. Dr. Antonio Augusto Nascimento  
Machado Júnior”.

1. Alimentos. 2. Segurança alimentar. 3. Saúde pública.  
Título I.

CDD 664.92

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ**  
**CAMPUS "PROFª CINOBELINA ELVAS"**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**

Título: Qualidade microbiológica e físico-química da carne moída bovina comercializada em Bom Jesus-PI

Autor: Maria Santos Oliveira

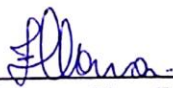
Orientador: Prof. Dr. Antonio Augusto Nascimento Machado Júnior

Aprovada em 12 de maio de 2017

Banca Examinadora:



\_\_\_\_\_  
Profª. Dra. Nair Silva Cavalcanti de Lira  
Universidade Federal do Piauí- CPCE



\_\_\_\_\_  
Profª. Dra. Felicianna Clara Fonsêca Machado  
Universidade Federal do Piauí- CPCE



\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Antonio Augusto Nascimento Machado Júnior  
Orientador  
Universidade Federal do Piauí- CPCE

Bom Jesus-PI  
2017

Dedico:

À Deus, pela graça do dom da vida.

À toda a minha família pelo apoio e compreensão.

A todos que contribuíram para realização desta pesquisa, e em especial, ao meu pai (*in memoriam*) que me ajudou a crer que seria possível.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por não me abandonar em momento algum.

À Universidade Federal do Piauí, especialmente ao *Campus* Profa. Cinobelina Elvas, pela oportunidade de realizar essa nova etapa na minha vida.

Ao meu orientador Prof. Dr. Antonio Augusto Nascimento Machado Júnior, pela paciência e orientação.

A profa. Dra. Felicianna Clara Fonsêca Machado, pelos ensinamentos, amizade e pelas sugestões para melhoria deste trabalho.

A minha amiga Juanna D'arc Fonsêca dos Santos, pela contribuição para realização deste trabalho.

A equipe que contribuiu para a realização dessa pesquisa, Vanusa Castro, Gladiane Nunes, Cristiano Oliveira, Amanda Brito, Helga Germana, Natylane EufRASINO, Laíze Falcão, Samara Castro. Sem suas ajudas, não seria possível realizar este trabalho.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES/FAPEPI) pela concessão da bolsa.

Por fim, a todos que contribuíram direto ou indiretamente, meu muito obrigado!

“Quem acredita sempre alcança”  
Legião Urbana

## BIOGRAFIA DO AUTOR

Maria Santos Oliveira nasceu na localidade Pará Batins município de Currais-PI, no dia 16 de abril de 1986. Filha de Maria Valdecina Santos Oliveira e de Miguel José de Oliveira, ingressou na Universidade Federal do Piauí, em abril de 2007, quando iniciou a graduação no curso de Bacharelado em Medicina Veterinária, do *Campus* Profa. Cinobelina Elvas-Bom Jesus-PI. Como graduanda desenvolveu dois anos de iniciação científica na área de qualidade dos alimentos e foi bolsista IC-CNPQ/UFPI por um ano. No ano de 2015, foi aprovada no mestrado em Zootecnia, na linha de pesquisa Nutrição Animal e Produção de Alimentos.



## SUMÁRIO

<b>Lista de tabelas .....</b>	<b>ix</b>
<b>Lista de abreviaturas e siglas .....</b>	<b>x</b>
<b>Resumo Geral .....</b>	<b>xii</b>
<b>Abstract Geral .....</b>	<b>xiii</b>
<b>Introdução Geral .....</b>	<b>xiv</b>
<b>Capítulo 1. Revisão Bibliográfica .....</b>	<b>16</b>
<b>Métodos de avaliação da qualidade da carne moída .....</b>	<b>17</b>
Resumo .....	17
Abstract .....	17
1 Introdução .....	18
2 Análise físico-química da carne .....	19
2.1 Características sensoriais .....	19
2.1.1 Coloração da carne .....	20
2.1.2 Consistência da carne .....	20
2.1.3 Odor .....	20
2.1.4 Prova de cocção .....	21
2.2 Prova de Filtração .....	21
2.3 Determinação do pH .....	21
2.4 Pesquisa de amônia – Prova de Nessler .....	22
2.5 Pesquisa de Gás sulfídrico (H <sub>2</sub> S) .....	22
3 Análise microbiológica de carne moída .....	22
3.1 Contagem em placas de microrganismos indicadores .....	23
3.1.1 Contagem de bactérias aeróbias mesófilas .....	24
3.1.2 Contagem de Coliformes Totais .....	25
3.1.3 Contagem de bolores e leveduras .....	26
3.1.4 Métodos rápidos para contagem de microrganismos .....	27
3.1.4.1 Petrifilm™ (AC) para a contagem de bactérias aeróbias mesófilas .....	27
3.1.4.2 Petrifilm™ (YM) para contagem de bolores e leveduras .....	28
3.1.4.3 Petrifilm™ para contagem de coliformes e <i>Escherichia coli</i> .....	28
3.2 Determinação do número mais provável de coliformes totais e termotolerantes .....	29

3.2.1 Coliformes totais .....	30
3.2.2 Coliformes termotolerantes .....	30
3.3 Pesquisa de patógenos .....	31
3.3.2 Isolamento de <i>Escherichia coli</i> .....	31
3.3.1 Isolamento de <i>Salmonella</i> sp. ....	32
3.3.3 Contagem e isolamento de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	33
4 Considerações finais .....	35
5 Referências Bibliográficas .....	35

<b>Capítulo 2- Qualidade microbiológica e físico-química da carne moída bovina comercializada em Bom Jesus-PI .....</b>	<b>42</b>
Resumo .....	43
Abstract .....	44
Introdução .....	44
Material e Métodos .....	46
Resultados e Discussão .....	50
Conclusão .....	57
Referências .....	57

<b>Capítulo 3. Resistência antimicrobiana de <i>Escherichia coli</i> isoladas de carne moída bovina comercializada em Bom Jesus – PI.....</b>	<b>64</b>
Resumo .....	65
Abstract .....	65
Introdução .....	66
Material e Métodos .....	68
Resultados e Discussão .....	69
Conclusão .....	73
Referências .....	73

<b>Considerações Finais .....</b>	<b>79</b>
Referências .....	80

## LISTA DE TABELAS

### Capítulo 2

**Tabela 1:** Qualidade físico-química da carne moída comercializada em Bom Jesus-PI, 2016..... 50

**Tabela 2:** Distribuição de amostras, segundo a faixa de contagem, de bactérias aeróbias mesófilas e bolores e leveduras na carne moída bovina comercializada em Bom Jesus-PI ..... 53

**Tabela 3:** Distribuição de amostras, segundo a faixa de contaminação por coliformes totais e termotolerantes na carne moída bovina comercializada em Bom Jesus-PI:..... 54

**Tabela 4:** Distribuição, segundo faixa de contagens de *Staphylococcus* sp. e *Staphylococcus* coagulase positivo em 60 amostras de carne moída bovina comercializada em supermercados, açougues e feira de Bom Jesus-PI..... 56

### Capítulo 3

**Tabela 1:** Distribuição segundo o perfil de resistência de cepas *E. coli* isoladas a partir da carne moída comercializada em Bom Jesus-PI ..... 69

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

%-Porcentagem

°C- Grau Celsius

µg- Micrograma

ADB- Ágar Batata Dextrose

ANVISA- Agência Nacional de Vigilância Sanitária

AOAC- *Association Official Analytical Chemists*

APHA- *American Public Health Association*

BHI- *Braint Heart Infusion*

CLSI- *Clinical and Laboratory Standards Institute*

CPCE – *Campus Professora Cinobelina Elvas*

DTAs- Doenças Transmitidas pelos Alimentos

E. COLI- *Escherichia coli*

EAEC -*Escherichia coli* enteroagregativa

EHEC- *Escherichia coli* enterohemorrágica

EIEC -*Escherichia coli* enteroinvasora

EMB - Ágar Eosina Azul de Metileno

EMBRAPA– Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

EPEC- *Escherichia coli* enterotogênica

ETEC -*Escherichia coli* enterotoxigênica

FAO- *Food and Agriculture Organization*

FDA- *Food and Drug Administration*

g- Grama

H<sub>2</sub>S- Gás Sulfídrico

IAL- Instituto Adolfo Lutz

IMViC- *Indole, Methyl Red, Voges-Proskauer, Citrate*

ISSN- *International Standard Serial Number*

KOH- Hidróxido de Potássio

Ltda- Limitada

mL- Mililitro

Nº- Número

NMP- Número Mais Provável

PCA- *Plate Count Agar*

pH- Potencial Hidrogeniônico

RDC- Resolução de Diretoria Colegiada

SIM- Motilidade, Indol, Sufeto

spp.- Espécies

STEC -*Escherichia coli* a produtora de toxina de Shiga

TM- *Trademark*

UFC- Unidade Formadora de Colônia

UFPI- Universidade Federal do Piauí

VM -Vermelho de metila

VP- *Voges-Proskauer*

YM-*Yeasts ad Molds*

## RESUMO GERAL

OLIVEIRA, M.S. Qualidade físico-química e microbiológica da carne moída bovina comercializada em Bom Jesus-PI. 2017. 81 fl. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal do Piauí, Bom Jesus, 2017.

A carne moída é um produto popular para os diferentes grupos sociais, pela praticidade e rapidez no preparo. Seus atributos nutricionais, a elevada atividade de água e o pH muito próximo da neutralidade a tornam um meio de cultura excelente para a multiplicação microbiana. Além disso, a manipulação excessiva associada ao uso de equipamentos e utensílios mal higienizados favorecem a contaminação por microrganismos deteriorantes e patogênicos. Assim, objetivou-se neste estudo pesquisar a qualidade microbiológica e físico-química a partir da carne moída bovina comercializada em supermercados, açougues e feira livre de Bom Jesus-PI. Para pesquisa foram adquiridas 60 amostras de carne moída, as quais foram mantidas na embalagem de compra e encaminhadas, em caixa isotérmica com gelo, ao laboratório de Microbiologia de Alimentos, da Universidade Federal do Piauí, *Campus* Profa Cinobelina Elvas, situado no mesmo município. Todas as amostras apresentaram odor e textura normais, diante da prova de cocção, enquanto que nas provas de filtração 56 (93,66%), pH 51 (85%), amônia 7 (11,66%), apresentaram valores em desacordo com a legislação. Houve crescimento de bactérias aeróbias mesófilas em 52 (86,66%) e de bolores e leveduras de 34 (56,66%). Coliformes totais e termotolerantes foram encontrados em 86,66% (52/60) e 55% (33/60) das amostras, respectivamente. *Escherichia coli* e *Staphylococcus* sp. foram isolados em 46,66% (28/60) e 100% (60) das amostras, respectivamente. Nenhuma amostra foi positiva para *Salmonella* sp. Para o perfil de sensibilidade houve o isolamento de cepas de *E. coli* em 26 amostras (43,33%). Destas, 15,39% (4/26) foram sensíveis a todos os antimicrobianos testados, enquanto 22 (84,61%) apresentaram alguma resistência. Com base nos resultados obtidos, conclui-se que a carne moída comercializada em Bom Jesus-PI apresenta alterações físico-químicas e elevada contaminação microbiana que comprometem a qualidade e o tempo de vida útil do produto, além de causar riscos à saúde pública, devido possui potencial para veicular bactérias resistentes e multirresistentes.

**Palavras-chave:** alimentos, segurança alimentar, saúde pública

## ABSTRACT GERAL

OLIVEIRA, M.S. Physicochemical and microbiological quality of bovine ground beef sold in Bom Jesus-PI. 2017. 81 fl. Dissertation (Master in Animal Science) - Federal University of Piauí, Bom Jesus, 2017.

Ground beef is a popular product to different social groups, for the convenience and speed of preparation. Its nutritional attributes, high water activity and pH very close to neutrality make it an excellent culture medium for microbial multiplication. In addition, excessive manipulation associated with the use of poorly sanitized equipment and utensils favors contamination by deteriorating and pathogenic microorganisms. Thus, the objective of this study was to investigate the resistance of *Escherichia coli* strains from bovine ground beef sold in supermarkets, butchers and the free fair of Bom Jesus-PI. For the research, 60 samples of ground beef were purchased and sent to the Food Microbiology laboratory of the Federal University of Piauí, Campus Prof<sup>a</sup> Cinobelina Elvas, located in the same municipality, in an ice isothermal box. All samples had a normal odor and texture in the presence of the cooking test, whereas in the filtration tests 56 (93.66%), pH 51 (85%), ammonia 7 (11.66%) presented values in disagreement with Legislation. There was growth of aerobic mesophilic bacteria in 52 (86.66%) and of mold and yeast of 34 (56.66%). Total and thermotolerant coliforms were found in 86.66% (52/60) and 55% (33/60) of the samples, respectively. *Escherichia coli* and *Staphylococcus* sp. Were isolated in 46.66% (28/60) and 100% (60) of the samples, respectively. No samples were positive for *Salmonella* sp. For the sensitivity profile, *E. coli* strains were isolated in 26 samples (43.33%). Of these, 15.39% (4/26) were sensitive to all the antimicrobials tested, while 22 (84.61%) presented some resistance. Based on the results obtained, it is concluded that the ground beef sold in Bom Jesus-PI presents physicochemical alterations and high microbial contamination that compromise the quality and the useful life of the product, besides causing risks to public health, due to Has the potential to deliver resistant and multi-resistant bacteria.

**Key words:** food, foode safety, public health

## INTRODUÇÃO GERAL

A carne moída bovina é muito utilizada na elaboração de pratos de rápido preparo e tem grande aceitação por parte dos consumidores (LIVONI; BEGOTTI; MERLINI, 2013). A importância da carne na dieta humana se deve a presença de aminoácidos essenciais, proteínas, minerais como o ferro e o zinco, ácidos graxos e das vitaminas, componentes indispensáveis para o organismo (FERREIRA; SIMM, 2012).

Se por um lado, os atributos nutricionais enriquecem a alimentação humana, por outro lado acabam por favorecer a multiplicação de bactérias, bolores e leveduras, tornando a carne um dos alimentos mais perecíveis (HANGUI et al., 2015). Essa multiplicação microbiana é precedida pela contaminação do músculo, a partir do contato com a pele, pelos, patas, conteúdo gastrointestinal, equipamentos, mãos e roupas dos manipuladores, e também pela água utilizada para lavagens das carcaças, armazenamento e distribuição. Por essa razão, as etapas de sangria, esfolagem, evisceração, corte e desossa merecem atenção pelo risco de contaminação dos cortes cárneos (JAY, 2005).

À medida em que a carne é manipulada e se realiza a moagem, a contaminação microbiana tende a aumentar, em razão do contato com fontes de contaminação e devido ao aumento da superfície exposta da carne (LUZ et al., 2015). Neste sentido, condições higiênico-sanitárias deficitárias possibilitam a veiculação de patógenos causadores de doenças transmitidas pelos alimentos (DTAs), os quais, em alguns casos, podem até levar a óbito (GERMANO; GERMANO, 2008). Esse risco tem tornado a carne moída objeto de estudo em diferentes partes do mundo, bem como uma preocupação para os órgãos fiscalizadores (ERDEM et al., 2014; BOUZID, 2015).

De acordo com a legislação, a venda da carne moída só é permitida se a moagem acontecer na presença do consumidor, mas ainda são muitos os estabelecimentos que comercializam a carne previamente moída (MARCHI et al., 2012). Além de acelerar a ação microbiana e favorecer a deterioração da carne, a moagem prévia dificulta que o consumidor possa identificar o corte utilizado (CONCEIÇÃO; GONÇALVES, 2009).

O monitoramento de parâmetros microbiológicos e físico-químicos é um auxílio importante para o controle da qualidade higiênica da carne (MARCHI et al., 2012). As análises físico-químicas possibilitam que se conheça o estado de frescor da carne moída, por meio da observação das modificações provocadas pela degradação de proteínas e lipídeos, pela ação de agentes naturais e de enzimas hidrolíticas endógenas naturalmente presentes na carne (IAL, 2008).



Por sua vez, as análises microbiológicas proporcionam a detecção de microrganismos indicadores da higiene de produção, assim como de patógenos capazes de provocar surtos de doenças transmitidas pelos alimentos (DTAs) (JAY, 2005).

Com base nessas análises laboratoriais é possível traçar um diagnóstico e um plano de medidas corretivas para controlar a contaminação, multiplicação e a sobrevivência microbiana nos diversos ambientes onde se processa a carne moída, a fim de se obter um produto de boa qualidade (ALMEIDA et al., 2010).

Diante do exposto, objetivou-se com essa pesquisa avaliar a qualidade microbiológica e físico-química da carne moída bovina, comercializada em Bom Jesus-PI.

A dissertação foi estruturada conforme as normas para elaboração de dissertações do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da UFPI da seguinte forma: Introdução; Capítulo 1 - Revisão Bibliográfica intitulada “Métodos de avaliação da qualidade da carne moída”, elaborada de acordo com as normas da Revista Ciência Rural (<http://coral.ufsm.br/ccrrevista/>); Capítulo 2 – artigo científico intitulado “Qualidade microbiológica e físico-química da carne moída bovina comercializada em Bom Jesus – PI”, elaborado de acordo com as normas da Revista Pesquisa Agropecuária Brasileira (<http://seer.sct.embrapa.br/index.php/pab>); Capítulo 3 – artigo científico intitulado “Resistência antimicrobiana de *Escherichia coli* isoladas de carne moída bovina comercializada em Bom Jesus – PI”, elaborado de acordo com as normas da Revista Acta Brasilica (<http://periodicos.ufersa.edu.br/revistas/index.php/acta>); e Considerações Finais.

## **CAPÍTULO 1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

Elaborada de acordo com as normas da *Revista Ciência Rural* (ISSN: 1678-4596)

(<http://coral.ufsm.br/crrevista/>)

1 **Métodos de avaliação da qualidade da carne moída**

2 **Methods of assessment of quality of ground beef**

3 **Maria Santos Oliveira <sup>I\*</sup>; Antonio Augusto Nascimento Machado Júnior <sup>II</sup>**

4 **- REVISÃO BIBLIOGRÁFICA -**

5 **RESUMO**

6  
7 A análise laboratorial da carne moída permite a obtenção de informações sobre a sua qualidade,  
8 condições de higiene de produção e de conservação, e possibilita estimar riscos associados ao  
9 seu consumo. De modo geral, as análises para avaliação da carne abrangem provas físico-  
10 químicas e microbiológicas. As provas físico-químicas possibilitam conhecer o estado de  
11 conservação da carne moída, por meio das modificações provocadas pela degradação de  
12 proteínas e lipídeos, pela ação de agentes naturais e de enzimas hidrolíticas endógenas presentes  
13 na carne. As microbiológicas permitem detectar microrganismos indicadores da higiene de  
14 produção e patógenos capazes de provocar surtos de doenças transmitidas pelos alimentos  
15 (DTAs). A combinação de diferentes técnicas e o uso de parâmetros específicos estabelecidos  
16 servem para determinar se o produto atende às exigências da legislação e se está apto ao  
17 consumo. As técnicas de análise de carne moída são uma importante ferramenta para o controle  
18 de qualidade da carne e para a prevenção de surtos de DTAs, uma vez que norteiam a adoção  
19 de melhorias nas condições de produção, conservação e comercialização.

20 **Palavras-chave:** contaminação, detecção, deterioração, patógenos.

21 **ABSTRACT**

22  
23 The laboratory analysis of the ground meat allows to obtain information about its quality,  
24 hygiene conditions of production and conservation, and makes it possible to estimate risks  
25 associated with its consumption. In general, the meat evaluation analyzes cover physico-  
26 chemical and microbiological evidence. The physical-chemical tests allow to know the state of  
27 conservation of the ground meat, through the modifications provoked by the degradation of  
28 proteins and lipids, by the action of natural agents and endogenous hydrolytic enzymes present  
29 in the meat. The microbiologicals allow the detection of microorganisms that are indicators of  
30 hygiene of production and pathogens capable of provoking outbreaks of foodborne diseases  
31 (DTAs). The combination of different techniques and the use of specific parameters established  
32 serve to determine whether the product meets the requirements of the legislation and is fit for  
33 consumption. Ground beef analysis techniques are an important tool for the quality control of

34 meat and for the prevention of outbreaks of DTAs, since they guide the adoption of  
35 improvements in the conditions of production, conservation and commercialization

36 **Key words:** Contamination, pathogens, detection, deterioration.

37

## 38 **1 INTRODUÇÃO**

39

40 A contaminação microbiana da carne inicia-se durante o abate do animal, por meio do  
41 contato com o ambiente, superfícies, utensílios e manipuladores. Na carne moída, o aumento  
42 da superfície exposta e a riqueza de nutrientes favorecem a ação microbiana, fazendo da carne  
43 um produto altamente perecível. Assim, sob temperaturas inadequadas de conservação, a carne  
44 serve como meio de cultura natural para o desenvolvimento de microrganismos deteriorantes e  
45 patogênicos (HANGUI et al., 2015).

46 A intensa multiplicação microbiana de deteriorantes provoca alterações nas suas  
47 características físicas e químicas, próprios do processo de deteriora (JAY, 2005). Por sua vez,  
48 patógenos presentes na carne moída, embora sejam imperceptíveis, podem provocar doenças  
49 transmitidas pelos alimentos (DTAs) (NASCIMENTO et al., 2014; SILVA, 2015). As DTAs  
50 podem ser infecções, intoxicações ou toxinfecções alimentares (JAY, 2005). Como forma de  
51 prevenir a ocorrência dessas doenças, foram desenvolvidas técnicas para avaliação da  
52 inocuidade e qualidade dos alimentos (RODRIGUES et al., 2011).

53 Neste sentido, as análises microbiológicas servem para investigar a presença ou  
54 ausência de microrganismos, além de quantificar grupos microbianos indicadores de higiene  
55 (FRANCO; LANDGRAF, 2008). Por sua vez, as análises físico-químicas permitem conhecer  
56 o estado de conservação da carne, através da detecção das modificações ocorridas durante o  
57 processo de deteriora (IAL, 2008).

58 A prática combinada de provas microbiológicas e físico-químicas é capaz de revelar as  
59 condições higiênicas de processamento e conservação, além de estimar o risco associado ao seu  
60 consumo. Adicionalmente, as análises laboratoriais são indispensáveis para a verificação dos  
61 padrões e especificações microbiológicos e físico-químicos, determinados pela legislação  
62 (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

63 O aumento da exigência por parte dos consumidores incrementa a busca por alimentos  
64 seguros (PINHEIRO et al., 2011). Assim, pode-se considerar que a análise laboratorial da carne  
65 é uma ferramenta de grande valor não apenas para os consumidores, mas também para os

66 produtores/elaboradores que desejem atender melhor à essa crescente demanda por produtos  
67 mais confiáveis (BERTOLINO, 2010).

68 Diante do exposto, esta revisão faz uma abordagem sobre os principais métodos  
69 laboratoriais utilizados na avaliação da carne moída.

70

## 71 **2 Análise físico-química da carne**

72

73 Para a carne ser considerada de boa qualidade deve apresentar características sensoriais,  
74 nutricionais e sanitárias dentro dos padrões estabelecidos pela legislação (VELHO et al., 2015).  
75 No Brasil, as provas para avaliar a qualidade físico-química da carne seguem normas  
76 estabelecidas pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 1999). A  
77 análise físico-química da carne moída permite conhecer o estado de conservação, as condições  
78 higiênicas de produção e detectar modificações relacionadas ao processo de deterioração  
79 (FRANCO; LANDGRAF, 2008). A seguir serão apresentadas as principais provas físico-  
80 químicas para avaliação da qualidade da carne moída.

81

### 82 **2.1 Características sensoriais**

83

84 As características sensoriais ou organolépticas da carne são atributos que impressionam  
85 os órgãos dos sentidos e podem provocar aceitação ou rejeição por parte dos consumidores  
86 (MESQUITA et al., 2014). As provas sensoriais da carne moída baseiam-se, portanto, na  
87 percepção da coloração, odor, aspecto e consistência do produto (IAL, 2008).

88 Para realização das análises sensoriais, retiram-se porções de várias regiões da peça sem  
89 grandes vasos, tecidos adiposos e aponeuroses. Em seguida, efetuam-se cortes em pedaços  
90 menores para homogeneização em moedor de carne com discos de 5 mm de diâmetro ou em  
91 liquidificador sob baixa rotação por dois minutos. As análises devem ser realizadas  
92 imediatamente, mas para algumas provas, é possível o acondicionamento da amostra em frascos  
93 hermeticamente fechados e mantidos em congelador (BRASIL, 1999).

94

#### 95 **2.1.1 Coloração da carne**

96

97 De acordo com a legislação, a carne bovina deve apresentar coloração uniforme, sem  
98 manchas claras ou escuras, variando do vermelho rosado ao vermelho pardo. A coloração da

99 carne é conferida pela mioglobina que contribui com 80 a 90% dos pigmentos totais, e em  
100 menor grau, pela hemoglobina (BRASIL, 1999, GOMIDE; RAMOS; FONTES, 2013).  
101 Diversos fatores podem interferir na coloração da carne fresca: idade, sexo, raça, corte, retenção  
102 de água, desnaturação da mioglobina pelo calor, ressecamento e grau de deterioração  
103 (WARNER et al., 2010).

104

### 105 **2.1.1 Coloração da carne**

106

107 De acordo com a legislação, a carne bovina deve apresentar coloração uniforme, sem  
108 manchas claras ou escuras, variando do vermelho rosado ao vermelho pardo. A coloração da  
109 carne é conferida pela mioglobina que contribui com 80 a 90% dos pigmentos totais, e em  
110 menor grau, pela hemoglobina (BRASIL, 1999, GOMIDE; RAMOS; FONTES, 2013).  
111 Diversos fatores podem interferir na coloração da carne fresca: idade, sexo, raça, corte, retenção  
112 de água, desnaturação da mioglobina pelo calor, ressecamento e grau de deterioração  
113 (WARNER et al., 2010).

114 A ação microbiana sobre a mioglobina provoca a separação entre o grupo heme e as  
115 proteínas, com formação de coloração esverdeada (ALCANTARA et al., 2012). Não existe uma  
116 recomendação geral quanto a mensuração da cor, pois instrumentos de medidas como  
117 colorímetros e espectrofotômetros podem ter características distintas quanto o diâmetro de  
118 abertura, tipo de iluminador e ângulo de observação, produzindo resultados semelhantes, mas  
119 não iguais (CAMILLA et al., 2015).

120

### 121 **2.1.2 Consistência da carne**

122

123 A carne e a gordura devem apresentar consistência firme, compacta e elástica e  
124 ligeiramente úmida. Quando inicia a putrefação, a superfície torna-se viscosa ou limosa com  
125 perda da firmeza (BRASIL, 1999; IAL, 2008).

126

### 127 **2.1.3 Odor**

128

129 A carne moída fresca apresenta odor suave e agradável. À medida em que avança o  
130 processo de deterioração, passa a ser liberado odor amoniacal desagradável (BAPTISTA, et al.,  
131 2013). De acordo com PARDI et al. (2006), o odor da carne fresca lembra um ligeiro odor ácido

132 lático comercial e a carne de animais idosos possui um odor mais intenso que a dos animais  
133 jovens da mesma espécie.

134

#### 135 **2.1.4 Prova de cocção**

136

137 A prova de cocção também possibilita a percepção de alterações na aparência, textura e  
138 sabor da carne moída (MESQUITA et al., 2014).

139 Para a prova, transferem-se 30g da carne moída para um béquer de 250 mL e adiciona-  
140 se água suficiente para cobrir a amostra. Em seguida, homogeneiza-se a amostra com auxílio  
141 de um bastão de vidro e cobre-se com vidro de relógio. O conjunto deve ser aquecido até o  
142 início dos primeiros vapores. Observar o surgimento do odor amoniacal, sulfídrico ou de ranço.  
143 Após isso, prossegue-se com a fervura por mais cinco minutos para observação das  
144 características da carne e do caldo. O sabor deve ser próprio da carne e a textura firme (BRASIL,  
145 1999).

146

#### 147 **2.2 Prova de Filtração**

148

149 O princípio da prova de filtração se baseia na passagem do extrato aquoso da carne por  
150 um papel filtro qualitativo com porosidade padronizada, em um determinado tempo. Essa prova  
151 avalia o estado de decomposição da carne, através dos produtos solúveis das proteínas, que  
152 ficam acondicionados, fazendo a lentidão na filtração (MESQUITA et al., 2014).

153 A prova é realizada colocando-se 10g da amostra em Erlenmeyer e acrescentando 100  
154 ml de água destilada. Após agitação vigorosa por 15 minutos, a mistura é filtrada em papel de  
155 filtro qualitativo, cronometrando-se o tempo. Deve-se considerar a classificação de acordo com  
156 o tempo de filtração, considerando-se: carne fresca e sã, com filtração em cinco minutos; carne  
157 de média conservação, com filtração entre 6 e 10 minutos; e carne suspeita, provavelmente  
158 alterada, a filtração excede os 10 minutos (BRASIL, 1999).

159

#### 160 **2.3 Determinação do pH**

161

162 A determinação do pH da carne tem por finalidade determinar as condições ácida ou  
163 básica por meio da concentração efetiva dos íons de hidrogênio (SILVA; FURTADO, 2016).

164 Para a determinação do pH, pesa-se, 50g da amostra de carne moída, coloca em um  
165 Erlenmeyer de 150 mL, e em seguida, adicionam-se 10 mL de água destilada. Após

166 homogeneizar, o conjunto deve ser posto em repouso por 10 minutos e em seguida, faz-se a  
167 leitura com o pHmetro devidamente calibrado (IAL, 2008). Conforme os resultados de aferição,  
168 a carne moída com pH entre 5,8 e 6,2 são classificadas como boas para consumo; carnes com  
169 pH em torno de 6,4 estão aptas ao consumo imediato, pois este é um limite crítico; e carnes  
170 com pH acima de 6,4 já estão em decomposição e não devem ser consumidas (IAL, 2008).

171

#### 172 **2.4 Pesquisa de amônia – Prova de Nessler**

173

174 Para pesquisa de amônia, transferem-se para tubos de ensaio, 2 mL do reagente de  
175 Nessler. Em seguida, acrescentam-se 10 gotas do filtrado obtido na prova de filtração e observa-  
176 se a coloração formada. Nesta prova, o filtrado é misturado com o reagente de Nessler que tem  
177 a capacidade de reagir com o radical amônio, resultante da proteólise, formando um complexo  
178 de coloração amarela. Amostras positivas para a presença da amônia desenvolvem uma  
179 coloração de amarelo a alaranjada e amostras negativas têm coloração amarelo esverdeada  
180 (BRASIL, 1999).

181

#### 182 **2.5 Pesquisa de Gás sulfídrico (H<sub>2</sub>S)**

183

184 A pesquisa de gás sulfídrico é realizada pela prova do papel de chumbo e baseia-se na  
185 decomposição de aminoácidos sulfurados com a liberação de enxofre. Em meio ácido, o enxofre  
186 se transforma em H<sub>2</sub>S, que ao se combinar com o acetato de chumbo, produzem sulfeto de  
187 chumbo, o qual enegrece o papel (SILVA JUNIOR, 2013).

188 A prova é realizada colocando-se em um Erlenmeyer de 125mL, 10g da carne moída  
189 em 25 mL de água destilada, e após a homogeneização, coloca-se uma tira de papel de acetato  
190 de chumbo preso à tampa do Erlenmeyer, para submeter o conjunto ao banho-maria fervente  
191 por 10 minutos. Conforme o grau de enegrecimento do papel, consideram-se três diferentes  
192 graus de produção de sulfeto de chumbo. Assim, uma cruz (+) significa pouca produção de  
193 sulfeto de chumbo e três cruces (+++), muita produção deste composto (IAL,2008).  
194 Naturalmente, uma elevada produção de sulfeto de chumbo indica adiantado processo de  
195 decomposição da carne moída (JUSTÉ; THOMMA; LIEVENS, 2008).

### 196 **3 Análise microbiológica de carne moída**

197



198 Há uma enorme quantidade de tipos microbianos que podem compor a microbiota da  
199 carne moída (JAY, 2005). Embora haja técnicas laboratoriais específicas para pesquisa de  
200 inúmeros microrganismos, a investigação de todos os patógenos conhecidos nas amostras seria  
201 impraticável e onerosa. Por esse motivo, usualmente são empregadas técnicas de detecção e  
202 quantificação de alguns grupos de microrganismos que servem como indicadores de qualidade  
203 (CUNHA; SILVA, 2006).

204 Os microrganismos indicadores de qualidade dos alimentos devem apresentar  
205 características como: rápida detecção; facilidade de distinção de outros membros da microbiota;  
206 estar sempre presente quando o patógeno associado estiver; e apresentar número, taxa de  
207 crescimento, morte e necessidades semelhantes a ele, além de não pertencer a microbiota  
208 natural do alimento (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

209 Além da pesquisa de indicadores microbianos, faz-se necessário, em alguns casos,  
210 investigar a presença de patógenos específicos (MANGEN et al., 2011). A escolha dos  
211 microrganismos patogênicos a serem pesquisados deve levar em conta o tipo de alimento e o  
212 objetivo da análises (DAMER et al., 2014). Neste sentido, *Salmonella* ssp, *Staphylococcus* ssp  
213 e *Escherichia coli* têm sido frequentemente investigados na carne moída, no Brasil e em outros  
214 países, devido ao risco potencial de veiculação pelo consumo de carne moída e por serem  
215 agentes envolvidos em surtos de DTAs (VIPHAM et al., 2012; LEOTTA et al., 2016).

### 216 **3.1 Contagem em placas de microrganismos indicadores**

217  
218 O método mais utilizado para quantificação de microrganismos indicadores e  
219 patogênicos em alimentos é a contagem em placas (FRANCO; LANDGRAF, 2008). Esse  
220 método pode ser utilizado para contagens de grandes grupos microbianos, tais como: bactérias  
221 aeróbias mesófilas, psicrotróficas, termófilas, bolores e leveduras, mas também é empregada  
222 na quantificação de gêneros e espécies, como *Listeria* spp., *Staphylococcus aureus*, *Bacillus*  
223 *cereus*, *Clostridium perfringens*, com algumas variações relacionadas ao meio utilizado,  
224 temperatura e tempo de incubação, de cada microrganismo (MARCHI et al., 2012).

225 A técnica de contagem em placas baseia-se no princípio de que cada microrganismo  
226 viável ou agrupamento microbiano presente no alimento é capaz de formar uma única colônia.  
227 Assim, sob condições adequadas de cultivo, as colônias formadas e contabilizadas no momento

228 da leitura, fornecem resultados expressos em unidades formadoras de colônia por mL ou grama  
229 de alimento (UFC/mL ou g) (BRASIL, 2003).

230 De acordo com a instrução normativa nº 62/2003, para a contagem de bactérias, as  
231 amostras são homogeneizadas e diluídas em série, com diluentes próprios para o microrganismo  
232 pesquisado. Em seguidas, alíquotas dessas diluições são transferidas para placas de Petri  
233 esterilizadas. Há duas formas distintas de semeio para contagem microbiana: em profundidade  
234 (*pour-plate*), quando o meio sólido é vertido sobre o inócuo; e em superfície (*spread-plate*),  
235 onde o inócuo é espalhado sobre o meio com o auxílio de uma alça de Drigalski. Em ambos os  
236 casos, procede-se com a incubação, sob temperatura controlada (BRASIL, 2003).

237 Embora a técnica de contagem em placas siga o mesmo princípio básico para bactérias  
238 e fungos, as características biológicas de cada grupo microbiano resultaram no ajuste das  
239 técnicas de maneira a prover as condições ideais de cultivo de forma diferenciada e de modo a  
240 inibir o desenvolvimento de microrganismos indesejáveis.

### 241 **3.1.1 Contagem de bactérias aeróbias mesófilas**

242  
243 A quantificação de bactérias aeróbias mesófilas enumera bactérias capazes de se  
244 desenvolverem em temperatura de 35 a 37°C, presentes no alimento tanto na forma vegetativa  
245 quanto na forma esporulada. Essa técnica não diferencia tipos bacterianos, mas fornece  
246 informações sobre as práticas de manipulação, matéria prima utilizada, condições de  
247 processamento e vida útil do alimento (FRANCO; LANDGRAF, 2008). A legislação brasileira  
248 não estabelece padrão para a contagem de bactérias aeróbias mesófilas na carne crua.  
249 Entretanto, contagens em torno de  $10^7$  UFC/g tornam o produto impróprio para o consumo  
250 devido às alterações sensoriais (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

251 O meio utilizado na técnica de contagem de bactérias aeróbias mesófilas é o ágar padrão  
252 para contagem (PCA). Esse meio é fonte de carbono e nitrogênio para o crescimento de diversos  
253 microrganismos, além de conter glicose como fonte de energia.

254 A técnica inicia com a pesagem asséptica de 25 gramas da amostra, diluídos em 225 mL  
255 de água peptonada a 0,1%, para obtenção da diluição inicial  $10^{-1}$ . Para a diluição  $10^{-2}$ , retira-se,  
256 1mL da diluição inicial  $10^{-1}$  e coloca em tubo contendo 9 mL de água peptonada a 0,1%, desta,  
257 um mL é retirado para outro tubo de água peptonada 0,1% para formação da diluição  $10^{-3}$ , e  
258 assim sucessivamente são elaboradas as diluições subsequentes. Para semeadura, transfere-se  
259 um mL de cada diluição decimal, para placas de Petri estéreis, correspondente à cada diluição.  
260 Logo após, adicionam-se de 15 a 20 mL do ágar padrão para contagens (PCA), previamente

261 esterilizado, fundido e resfriado a 45°C. Posteriormente, realiza-se a homogeneização do ágar  
262 com o inóculo e após solidificação, as placas são invertidas e incubadas em estufa incubadora  
263 a  $36 \pm 1^\circ\text{C}$  por 24 a 48 horas. A leitura é realizada em placas com 25 a 250 colônias (FENG et  
264 al., 2002; BRASIL, 2003).

### 265 **3.1.2 Contagem de Coliformes Totais**

266  
267 Coliformes totais são bastonetes Gram-negativos, não formadores de esporos, capazes de  
268 fermentar a lactose com produção de gás, em temperatura de crescimento de 35 a 37°C, por 24  
269 a 48 horas. São representados pelos gêneros da família *Enterobacteriaceae*: *Citrobacter*,  
270 *Enterobacter*, *Escherichia* e *Klebsiella* (FRANCO; LANDGRAF, 2008). A razão para esse  
271 agrupamento são as características em comum entre os grupos (DAMER et al., 2014).

272 Apesar de os coliformes abrangerem diversos gêneros e espécies não entéricas, há  
273 espécies originárias do trato intestinal dos seres humanos e dos animais. Por esse motivo, após  
274 a contagem de coliformes totais, normalmente se realiza a pesquisa de coliformes  
275 termotolerantes e *E. coli*. A intensa contaminação da carne moída por coliformes totais reflete  
276 as condições de manipulação do alimento e do ambiente, enquanto a contaminação por  
277 coliformes termotolerantes e *E. coli* são indicativos de um possível contato com material fecal  
278 (JORIS et al., 2012).

279 A técnica de contagem de coliformes em placas inicia, com a pesagem asséptica de 25  
280 gramas da amostra, diluídos em 225 mL de água peptonada a 0,1%, para obtenção da diluição  
281 inicial  $10^{-1}$ . Para a diluição  $10^{-2}$ , retira-se, 1mL da diluição inicial  $10^{-1}$  e coloca em tubo  
282 contendo 9 mL de água peptonada a 0,1%, e desta 1mL é retirado para outro tubo de água  
283 peptonada 0,1% para formação da diluição  $10^{-3}$ , e assim sucessivamente são elaboradas as  
284 diluições subsequentes. Para inoculação, transfere-se 1 mL de cada diluição para placas de Petri  
285 esterilizadas, em seguida adiciona-se cerca de 1,5 mL do ágar cristal violeta vermelho neutro  
286 bile, previamente fundido e mantido a 46-48°C em banho-maria. Logo após, homogeneizam-  
287 se, cuidadosamente as placas, e estas devem ser mantidas em repouso para total solidificação.  
288 As placas são incubadas em posição invertida a uma temperatura de  $36 \pm 1^\circ\text{C}$  por 18 a 24 horas.  
289 Para a leitura, selecionam-se placas contendo entre 15 a 150 colônias com coloração rósea e  
290 com 0,5 a 2 mm de diâmetro, rodeadas ou não por uma zona de precipitação da bile presente  
291 no meio (BRASIL, 2003).

292 A legislação brasileira não estabelece limite para contagem de coliformes totais em carne  
293 moída, mas por serem microrganismos presentes no ambiente, contagens elevadas desses  
294 microrganismos revelam exposição a condições higiênicas precárias (ROSINA; MONEGO,

295 2012). Nesses casos, deve-se proceder com a pesquisa de coliformes termotolerantes e *E. coli*,  
296 os quais servem como indicadores de contaminação por material fecal (SOUSA, 2006).

### 297 **3.1.3 Contagem de bolores e leveduras**

298  
299 Os bolores são fungos multicelulares que produzem estruturas filamentosas e as  
300 leveduras são fungos unicelulares, esféricos ou ovoides que se reproduzem por brotamento  
301 (MAZIERO; BERSOT, 2010). Bolores e leveduras são microrganismos diversificados e estão  
302 amplamente distribuídos no ambiente, nos animais e no homem (TRABULSI, 2005). Altas  
303 contagens desses microrganismos revelam falhas nas condições higiênicas dos equipamentos,  
304 no processamento e contaminação da matéria prima (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

305 A contaminação por fungos em alimentos merece atenção, devido a capacidade de  
306 algumas espécies produzirem toxinas com potencial carcinogênico (SILVA JR, 2007). Desse  
307 modo, instalações e utensílios devem ser mantidos limpos, por serem considerados fontes  
308 importantes de contaminação da carne processada (MAZIERO; BERSOT, 2010).

309 A contagem de bolores e leveduras em placas baseia-se na capacidade desses  
310 microrganismos se desenvolverem em meios de cultura com pH próximo a 3,5 e temperatura  
311 de incubação de  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  (BRASIL, 2003).

312 O meio utilizado para a técnica de contagem de bolores e leveduras é o ágar batata  
313 dextrose (ADB), o qual apresenta em sua composição batata que estimula a produção dos  
314 esporos em bolores, e dextrose que favorece o crescimento. Após o preparo do meio, faz-se a  
315 adição de 10 mL/L, do acidificante ácido tartárico a 10%, para inibição da microbiota bacteriana  
316 presentes no alimento. A acidificação do meio é dispensada quando são utilizados meios de  
317 cultura contendo antibióticos (BRASIL, 2003).

318 A técnica inicia-se com a pesagem asséptica de 25 gramas da amostra, diluídos em 225  
319 mL de solução salina peptonada a 0,1%, para obtenção da diluição inicial  $10^{-1}$ . Para a diluição  
320  $10^{-2}$ , retira-se, 1mL da diluição inicial, coloca em tubo contendo 9 ml de solução salina  
321 peptonada a 0,1%, e desta 1mL é retirado para outro tubo de solução salina peptonada a 0,1%  
322 para formação da diluição  $10^{-3}$ , e assim para as demais diluições. Para a semeadura, inoculam-  
323 se em placas 0,1ml das diluições sobre a superfície do ágar e com auxílio da alça de Drigalski,  
324 espalha-se o inóculo por toda a superfície do meio para total absorção. Em seguida, as placas  
325 são incubadas sem inverter, em temperatura de  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  por 5 a 7 dias em estufa incubadora.  
326 Para a contagem, selecionam-se placas que contém de 15 a 150 colônias e os resultados são  
327 expressos em UFC/g ou mL (BRASIL, 2003).

### 328 **3.1.4 Métodos rápidos para contagem de microrganismos**

329

330 O sistema Petrifilm™ é um recurso alternativo para contagem de bactérias em  
331 alimentos, de modo mais rápido que o método convencional (FOOD AND DRUG  
332 ADMINISTRATION, 2008).

333 O sistema consiste no uso de placas prontas contendo meio de cultura com diferentes  
334 tipos de nutrientes, géis hidrossolúveis a frio, corantes e indicadores apropriados para a  
335 recuperação dos microrganismos (JASSON et al., 2010). Essas análises ficam reduzidas a três  
336 etapas: inoculação, incubação e leitura. Assim, a utilização das placas Petrifilm™ dispensa a  
337 prévia preparação de meios de culturas e vidrarias. Outras vantagens do uso dessas placas é a  
338 facilidade de leitura, redução do espaço para incubação e possibilidade de congelamento para  
339 posterior leitura (FUNG, 2002). Adicionalmente, essas placas não quebram e não derramam,  
340 de modo que há uma redução no risco de acidentes uma vez que não quebram e não derramam  
341 (BRASIL, 2005).

342 A inoculação de amostras em placas Petrifilm™ não requerem habilidades especiais. As  
343 placas possuem um filme plástico na parte superior, o qual deve ser levantado para inoculação  
344 da alíquota. As diluições de amostras devem seguir os mesmos procedimentos descritos para a  
345 contagem convencional. Após adicionar a alíquota, o filme plástico deve ser repostado na posição  
346 original e, com auxílio de um difusor plástico, a amostra é distribuída uniformemente na área  
347 determinada da placa. Após a solidificação do gel, as placas devem ser incubadas sem inverter,  
348 na temperatura e tempo determinado pelo fabricante para cada microrganismo. Após o período  
349 de incubação, as colônias visíveis são enumeradas e o resultado é expresso em UFC/g ou mL  
350 (BARROS et al., 2007).

351 No mercado são encontradas placas Petrifilm™ para contagem total de bactérias aeróbias;  
352 coliformes totais; coliformes e *E. coli*; bolores e leveduras; *Staphylococcus aureus* e *Listeria*  
353 sp. (BRASIL, 2005).

354

#### 355 **3.1.4.1 Petrifilm™ (AC) para a contagem de bactérias aeróbias mesófilas**

356

357 As placas Petrifilm™ (AC) possuem na sua base o ágar padrão para contagem e o  
358 corante indicador 2, 3, 5 cloretos de trifeniltetrazólio, que é reduzido pela ação das bactérias  
359 em crescimento, conferindo a coloração vermelha. As colônias vermelhas proporcionam um  
360 contraste melhor, facilitam a contagem e a distinção das partículas opacas do alimento

361 Ao adicionar o inóculo, os nutrientes são hidratados e o gel é solidificado. As placas  
362 são incubadas à temperatura de 32-35°C, por 24 a 48 horas (BRASIL, 2005, CASAROTTI;  
363 PAULA; ROSSI, et al., 2008).

364

#### 365 **3.1.4.2 Petrifilm™ (YM) para contagem de bolores e leveduras**

366

367 A utilização do ágar Sabouraud suplementado com glicose nas placas Petrifilm™ YM  
368 favorece o desenvolvimento dos fungos, e os antibióticos clortetraciclina e cloranfenicol,  
369 inibem o crescimento bacteriano (MARTINS; FIÚZA; MARTINS, 2013). Além disso, a  
370 presença de um indicador de fosfatase, faz com que as colônias corem em azul, uma vez que as  
371 células viáveis produzem essa enzima de modo a ativar o indicador presente no meio. Essas  
372 placas são incubadas de 20 e 25°C por 48±2 horas (BARROS et al., 2007).

373

374 Normalmente, colônias de bolores são grandes, com bordas difusas e podem corar de  
375 maneira variada além de azul esverdeado. Por sua vez, colônias de leveduras são  
376 tridimensionais, pequenas, possuem bordas definidas e apresentam coloração uniforme  
377 variando de rosa a azul esverdeado (OLIVEIRA et al., 2015).

377

#### 378 **3.1.4.3 Petrifilm™ para contagem de coliformes e *Escherichia coli***

379

380 Embora a técnica dos tubos múltiplos seja a metodologia mais utilizada para a pesquisa  
381 de coliformes na carne, as placas Petrifilm™ são consideradas sensíveis e eficientes para a  
382 detecção de coliformes totais e *E. coli* (SILVA et al., 2006). Essas placas contêm, além do  
383 agente geleificante, o ágar vermelho violeta bile e o corante indicador 2, 3, 5 - cloreto de  
384 trifeniltetrazólio, para facilitar a enumeração das colônias. Após incubação das placas a 35±1°C,  
385 por 24±2 horas, procede-se com a leitura, considerando-se positivas as colônias coradas em  
386 vermelho, por redução do indicador, e com bolhas de gás proveniente da fermentação da lactose  
387 (BRASIL, 2005).

388

389 Além das placas para quantificação de coliformes, há placas específicas para a contagem  
390 de *Escherichia coli* (Petrifilm™ EC). Essas placas possuem como meio de cultura base, o ágar  
391 vermelho violeta bile, o corante indicador 5 bromo-4-cloro-3-indoxil-β-D-glicuronídeo, que  
392 indica a atividade glicuronidásica e agentes geleificantes solúveis em água fria. As placas  
393 Petrifilm™ EC têm capacidade para a quantificação bactérias presentes em 1 mL de alíquota,  
394 mas há placas mais sensíveis (Petrifilm™ High Sensitive), as quais possibilitam inocular 5 mL  
395 de alíquota por placa. A maioria das *Escherichia coli* produz colônias azuis associadas a bolhas  
de gás, isso ocorre devido a glicuronidase produzida pela *Escherichia coli* que reage com o

396 corante indicador na placa, formando um precipitado azul em torno da colônia. A incubação à  
397 temperatura de  $35\pm 1^{\circ}\text{C}$ , por  $24\pm 2$  horas em estufa incubadora, e para leitura, selecionam-se  
398 placas contendo entre 15 e 50 colônias (KORNACKI; JOHNSON, 2001).

399

#### 400 **3.1.4.4 Petrifilm™ para contagem de *Staphylococcus* sp.**

401

402 A presença do ágar Baird-Parker modificado nas placas Petrifilm™ favorecem o  
403 desenvolvimento seletivo de *Staphylococcus* sp. Caso seja necessário, a utilização de um disco  
404 de gel especial possibilita identificar *S. aureus* em todas as colônias suspeitas. Esse disco possui  
405 uma versão cromogênica modificada do meio Baird-Park, seletivo e diferencial para  
406 *Staphylococcus aureus* e permite o crescimento dessas bactérias e a inibição da proliferação de  
407 outros espécimes bacterianos (SILVA et al., 2005). Colônias positivas apresentam cor  
408 vermelho-violeta. Assim como nas demais placas, os resultados quantitativos são expressos em  
409 UFC/g (FERREIRA et al., 2011).

410 O uso de placas Petrifilm™ é reconhecido pela Association Official Analytical  
411 Chemists (AOAC) e, no Brasil, pelo o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento  
412 (BRASIL, 2005). Apesar de serem mais rápidos e serem de rápida leitura, o sistema Petrifilm™  
413 é realizado com material descartável e não possibilita reuso, de modo que em alguns casos, a  
414 técnica se torna mais onerosa que o sistema convencional o qual utiliza meios de cultura e  
415 placas de vidro laváveis e esterilizáveis.

416

### 417 **3.2 Determinação do número mais provável de coliformes totais e termotolerantes**

418

419 A técnica dos tubos múltiplos é um método que permite estimar a densidade de  
420 microrganismos, como coliformes totais, termotolerantes e *E. coli*, em uma amostra.  
421 Diferentemente da contagem em placas, essa técnica fornece apenas uma estimativa baseada na  
422 quantidade de tubos positivos nas diferentes diluições decimais, e não uma contagem fixa de  
423 células viáveis ou unidade formadora de colônias (SILVA, 2007). Para que seja possível essa  
424 estimativa, devem ser preparadas séries de tubos de pelo menos três diluições decimais da  
425 amostra. De cada diluição, alíquotas iguais são transferidas para três ou para cinco tubos  
426 contendo meio de cultura líquido. Todos os tubos são incubados, em temperatura recomendada  
427 para cada microrganismo, e em seguida, os positivos são identificados, baseando-se na  
428 ocorrência de turvação e fermentação nos tubos de Durhan (BRASIL, 2003).

429 A leitura de resultados obtidos pela técnica dos tubos múltiplos informa sobre a população  
430 presuntiva de microrganismos, mas a partir dos tubos considerados positivos, são realizadas

431 inoculações em caldos e ágar seletivos, para obterem-se informações sobre a população  
432 microbiana real (BRASIL, 2003).

### 433 **3.2.1 Coliformes totais**

434

435 A técnica dos tubos múltiplos para determinação do número mais provável (NMP) de  
436 coliformes totais está dividida nas etapas presuntiva e confirmativa. A etapa presuntiva, inicia-  
437 se, com a preparação das diluições  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$ , a partir da pesagem asséptica e transferência  
438 de 25 gramas da carne moída para um frasco contendo 225 mL de água peptonada a 0,1%, para  
439 preparação da diluição  $10^{-1}$ . As diluições subsequentes são efetuadas por adição de 1 mL da  
440 diluição anterior em 9 mL da água peptonada. Conforme a necessidade e o objetivo da análise,  
441 podem-se elaborar mais de três diluições, e após o preparo, 1 mL de cada diluição será  
442 transferido, com o auxílio de pipeta estéril, para tubos de ensaio contendo 9 mL do caldo lauril  
443 sulfato triptose, com tubos de Durham invertido. Uma vez inoculados, os tubos devem ser  
444 incubados a 35°C por 24-48 horas. Serão considerados positivos os tubos que apresentarem  
445 turvação e produção gás (BRASIL, 2003).

446 Na prova confirmativa, alças dos tubos considerados positivos na prova presuntiva  
447 são inoculadas em tubos contendo 10 mL de caldo verde brilhante bile lactose 2%, com tubos  
448 de Durham invertidos. Em seguida, esses tubos são incubados a  $36 \pm 1^\circ\text{C}$  por 24 a 48 horas e,  
449 na leitura, consideram-se positivos os que apresentam turvação e formação de gás. Os  
450 resultados das provas presuntiva e confirmativa são expressos como NMP/g de carne, com o  
451 auxílio de uma tabela específica (BRASIL, 2003).

### 452 **3.2.2 Coliformes termotolerantes**

453

454 Os coliformes termotolerantes possuem a capacidade de fermentarem lactose a 45°C  
455 com produção de gás (BRASIL, 2003). *Escherichia coli* é a principal representante do grupo e  
456 corresponde a cerca de 90% dos espécimes isolados em cultivos positivos de coliformes  
457 termotolerantes (MARCHI et al., 2012). A pesquisa de coliformes termotolerantes, está ligada  
458 ao interesse de investigar a presença de coliformes de origem gastrointestinal. Entretanto, os  
459 gêneros *Enterobacter* e *Klebsiella*, apesar de serem termotolerantes, podem apresentar origem  
460 não fecal e compõem a microbiota natural da água, solo e vegetais (FRANCO; LANDGRAF,  
461 2008).

462 O caldo *Escherichia coli* é um meio líquido seletivo de coliformes termotolerantes. A  
463 lactose presente no meio favorece o crescimento de bactérias lactose positivas, as quais



464 produzem gás ao fermentarem esse açúcar. Por sua vez, os sais biliares inibem o crescimento  
465 de bactérias Gram positivas ou de espécies microbianas não adaptadas a microbiota intestinal  
466 (BRASIL, 2003).

467 Para a determinação do NMP de coliformes termotolerantes na carne moída, alçadas dos  
468 inóculos de tubos positivos na prova confirmativa de coliformes totais são inoculadas em tubos  
469 contendo 9 mL do caldo *Escherichia coli*. Em seguida, os tubos são incubados em Banho-maria  
470 a 44,5°C por 24-48 horas. Assim como nas etapas anteriores, consideram-se positivos os tubos  
471 com produção de gás e turvação. De igual modo, a leitura é efetuada com auxílio de tabela  
472 específica (FENG et al., 2002). Resultados positivos para coliformes termotolerantes não  
473 indicam necessariamente contaminação por material fecal, mas a partir dos tubos positivos, a  
474 presença *E. coli* pode ser confirmada em meios seletivos adequados (MENDONÇA; GRANADA,  
475 2012).

### 476 3.3 Pesquisa de patógenos

477

#### 478 3.3.2 Isolamento de *Escherichia coli*

479

480 *Escherichia coli* pertence à família *Enterobacteriaceae*, são bacilos gram-negativos,  
481 anaeróbios facultativos, não-esporulados, fermentam glicose e lactose com produção de ácido  
482 e gás. Além disso, apresentam motilidade por meio de flagelos peritríquios e se multiplica em  
483 temperatura ideal de 44-45,5°C (SILVA et al., 2010; KNOBL et al., 2012).

484 A presença de *E. coli* na carne moída indica contaminação por material de origem fecal,  
485 em alguma das etapas que antecedem o momento da coleta (FRANCO; LANDGRAF, 2008).  
486 Além disso, o isolamento de *E. coli* demanda atenção, pois a espécie contém patógenos, dentre  
487 os quais se destaca *E. coli* O 157H7, sorotipo associado a surtos de doenças transmitidas pelos  
488 alimentos (DTAs) (DAMER et al., 2014).

489 Para isolamento de *E. coli*, a partir de tubos positivos para coliformes termotolerantes,  
490 alíquotas são semeadas com alça de platina, em forma de estrias, em placas contendo Ágar  
491 Eosina Azul de Metileno. Essas placas são incubadas em temperatura de 35 a 45°C. Após o  
492 período de incubação, as colônias com características de *E. coli* (nucleadas e com centro preto  
493 e brilho verde metálico), devem ser isolados para serem submetidas às provas bioquímicas  
494 (SILVA et al., 2010).

495 As colônias típicas e com coloração verde metálica são investigadas e confirmadas por  
496 meio das provas bioquímicas de indol (SIM), vermelho de metila (VM), Voges Proskauer (VP)  
497 e Ágar Citrato de Simmons (método denominado IMViC) (FENG et al., 2011).

498 O princípio da prova do Indol é a degradação do triptofano com formação do indol,  
499 através da adição do reativo de Kovacs. Para análise, transferem-se, com a alça de platina,  
500 culturas suspeitas de *E. coli* para tubos contendo o meio de cultura SIM e incubam-se por 24  
501 horas. Decorrendo esse período, adicionam-se em cada tubo 3 gotas do reativo de Kovacs para  
502 observação da superfície do meio. Para colônias positivas o reativo cora em vermelho na  
503 superfície do meio (FENG et al., 2011).

504 A prova do Citrato de Simmons, tem como princípio a utilização do citrato de sódio  
505 como única fonte de carbono e de nitrogênio. Com essa utilização, ocorre a alcalinização do  
506 meio, fazendo a mudança de cor de verde para azul. Para a análises, transferm-se, com a alça  
507 de platina, colônias suspeitas para tubos contendo o meio citrato de Simmons. Em seguida,  
508 incubam-se os tubos por 24 horas a 35°C. Os tubos com coloração azul são considerados  
509 positivos e os corados em verde são negativos (FENG et al., 2011).

510 As provas de vermelho de metila e Voges-Proskauer (VM-VP) baseiam-se no  
511 metabolismo do ácido pirúvico. O vermelho de metila é utilizado como o indicador de pH  
512 abaixo de 4.4 e acima de 6.2 e o Voges-Proskauer determina a capacidade de os microrganismos  
513 produzirem produtos finais não ácidos ou neutro, a partir do metabolismo da glicose (FENG et  
514 al., 2011).

515 Para o teste, são inoculadas colônias suspeitas no caldo VM-VP e, estes são incubados  
516 a  $35 \pm 2^\circ\text{C}$  por 48 horas. Para a prova vermelho de metila transfere-se 1 mL do caldo VM-VP  
517 para um tubo e adicionam-se 5 gotas do vermelho de metila para observação da coloração.  
518 Colônias positivas apresentam cor vermelho brilhante e as negativas, colônias laranjas  
519 amareladas. Para a prova Voges-Proskauer, retira-se assepticamente 1mL do caldo VM-VP,  
520 colocam-se em tubo e adicionam-se 0,6 mL de alfa-naftol a 5% e de KOH a 40%. Após agitação  
521 cuidadosa, o conjunto é posto em repouso, por 5 minutos. Tubos que apresentarem coloração  
522 vermelha-rósea na superfície do meio indicam positividade e as colônias negativas devem ser  
523 incubadas novamente para repetir a prova após 48 horas (FENG et al., 2011).

### 524 **3.3.1 Isolamento de *Salmonella* sp.**

525

526 O gênero *Salmonella* spp. pertence à família *Enterobacteriaceae*, e são bacilos gram-  
527 negativos não produtores de esporos. São anaeróbios facultativos, produzem gás a partir de  
528 glicose e utilizam citrato como fonte de carbono (FORSYTHE, 2013). Com temperatura ótima  
529 de crescimento em torno de 37°C, podem se multiplicar até 47°C; a faixa ideal de pH é de 6,5

530 a 7,5, mas *Salmonella* spp. pode se desenvolver em ambientes com pH situado entre 4,5 a 9  
531 (SILVA, et al., 2010).

532 *Salmonella* é considerada uma das principais bactérias envolvidas em surtos de DTAs e  
533 tem como reservatório o trato intestinal do homem e os animais. Essas bactérias estão  
534 amplamente disseminadas no ambiente e apresentam grande impacto na saúde e na economia  
535 mundial (JAY, 2005).

536 De acordo com dados do Ministério da Saúde, entre os anos de 2007 a 2016 foram  
537 registrados 6.632 surtos de DTAs no Brasil, e destes, *Salmonella* sp. foi responsável por 7,5%  
538 dos casos (BRASIL, 2016).

539 A presença de *Salmonella* sp. na carne moída é, portanto, uma importante preocupação  
540 para a saúde pública (FERREIRA; SIMM, 2012). Por esse motivo, a RDC nº 12, de janeiro de  
541 2001, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) exige como padrão para carnes  
542 e derivados a ausência de *Salmonella* spp. em 25 gramas de alimento (BRASIL, 2001).

543 A técnica para detecção de *Salmonella* spp. em alimentos envolvem cinco etapas: 1-pré-  
544 enriquecimento, em caldo não seletivo para restaurar células injuriadas; 2-enriquecimento  
545 seletivo, onde o cultivo é colocado novamente para multiplicação de *Salmonella* spp., 3-  
546 semeadura em meios seletivos sólidos que restringem a multiplicação de outras bactérias; 4-  
547 testes bioquímicos pelo qual se obtém dados fenotípicos da cultura isolada; 5- sorotipagem para  
548 identificação antigênica (BRASIL, 2003).

549 O uso de placas prontas de Petrifilm™ fornece resultado presuntivo e confirmação  
550 bioquímica na pesquisa de *Salmonella* sp. Essas placas contêm os caldos *Salmonella* e  
551 rappaport-vassiliadis que enriquecem e suplementam, para recuperação e crescimento de  
552 *Salmonella* sp. A prova presuntiva é realizada hidratando-se a placa com 2 mL de água destilada  
553 e transferindo-se a amostra em análise, em forma de estrias no gel. Em seguida, as placas são  
554 incubadas a 41,5 °C por 24h. Colônias suspeitas são submetidas a confirmação bioquímica por  
555 meio de um disco de confirmação, com incubação a 41,5 °C por 4 horas. As colônias  
556 confirmadas de *Salmonella* sp. adquirem coloração azul escuro ou negra com centro com  
557 precipitado azul (BRASIL, 2005).

558

### 559 **3.3.3 Contagem e isolamento de *Staphylococcus aureus***

560

561 As bactérias que compõem o gênero *Staphylococcus* são cocos Gram-positivos,  
562 pertencentes à família *Micrococcaceae*, medem de 0,5 a 1,5 µm de diâmetro e são imóveis. São  
563 bactérias mesófilas, que crescem em temperatura de 7 a 48°C, e pH 4 a 10, mas é possível sua

564 multiplicação em alimentos com pH variando entre 4,0 e 9,8. A produção de enterotoxinas  
565 ocorre entre 10 e 46°C, com valor ótimo entre 40 e 45°C (FORSYTHE, 2013).

566 Os estafilococos não são resistentes ao calor e são destruídos facilmente na  
567 pasteurização ou no cozimento dos alimentos. As toxinas, ao contrário, são consideradas  
568 altamente resistentes, tolerando tratamentos térmicos tão severos como a esterilização dos  
569 alimentos (SILVA et al., 2007). A intoxicação alimentar provocada por *Staphylococcus aureus*  
570 provém da ingestão das enterotoxinas produzidas e liberadas pela bactéria durante a sua  
571 multiplicação no alimento, normalmente quando a contaminação é superior a 10<sup>6</sup> de  
572 *Staphylococcus aureus*/g do alimento (SANTANA et al., 2010). Os sintomas mais comuns da  
573 intoxicação são vômitos e diarreias, com manifestação entre duas a seis horas após a ingestão  
574 da toxina (OBESO et al., 2010).

575 O homem e os animais são considerados os principais reservatórios de estafilococos,  
576 onde estão concentrados sobretudo nas narinas, garganta e pele, mas o gênero está amplamente  
577 distribuído na natureza. Apesar dos manipuladores de alimentos serem considerados as  
578 principais fontes de contaminação, quando há surtos, os equipamentos e as superfícies também  
579 podem ser fontes de contaminação cruzada (FORSYTHE, 2013).

580 A contagens de *Staphylococcus* sp. inicia-se com a inoculação das diluições da amostra  
581 em Ágar Baird-Park para o crescimento na presença de telurito de potássio com cloreto de lítio  
582 e glicina. O ágar Baird-Park quando suplementado com solução de gema de ovo possibilita a  
583 verificação das atividades proteolítica e lipolítica, por meio do aparecimento de um halo  
584 transparente com precipitados ao redor da colônia. Após a incubação a 36°C por 24 a 48 horas,  
585 as placas com característica positiva para o gênero são contadas e o resultado será expresso em  
586 UFC/g/mL (BRASIL, 2003).

587 A partir das colônias sugestivas de *Staphylococcus* sp., realizam-se provas de coloração  
588 de Gram, catalase e coagulase. Na coloração de Gram, colônias estafilocócicas vistas em óleo  
589 de imersão e aumento de 1000 vezes, apresentam-se em forma de cachos corados em roxo.

590 Para a prova de coagulase, inoculam-se de três a cinco colônias suspeitas, em 10 mL  
591 de caldo BHI, e incubam-se a 35°C por 24 horas. Em seguida, transferem-se 0,3 mL dos tubos  
592 do BHI para tubos estéreis contendo 0,3mL do plasma de coelho. Esses tubos devem ser  
593 incubados por 6 horas a 36°C em estufa. Os tubos positivos apresentam formação do coágulo  
594 pela inclinação suave do tubo em 90 graus da vertical (BRASIL, 2003).

595 Para a prova de catalase, retira-se com auxílio de uma alça de platina, o centro escuro  
596 de uma colônia suspeita, colocando-se em uma lâmina de vidro. Adiciona-se em seguida, uma

597 gota do peróxido de hidrogênio a 3% sobre a colônia, que quando positivas formam borbulhas  
598 devido à liberação de oxigênio (BRASIL, 2003).

599

#### 600 **4 Considerações finais**

601

602 Diante das evidências de que a carne moída é um dos alimentos comumente envolvidos  
603 em surtos de DTAs, seu controle de qualidade é importante para a segurança alimentar e  
604 possibilita a adoção de medidas para a melhoria da qualidade do produto. Neste sentido, as  
605 técnicas de análises laboratoriais são ferramentas importantes para garantir a inocuidade da  
606 carne moída e prevenir doenças.

607

#### 608 **5 Referências Bibliográficas**

609

610 ALCANTARA, M. SOUSA.; MORAIS, I. C. L.; MATOS, C.; SOUSA, O. C. Principais  
611 microrganismo envolvidos na deterioração das características sensoriais de derivados cárneos.  
612 **Revista Brasileira de higiene e Sanidade Animal**, v. 6, n. 1, 2012.

613 BAPTISTA, R. R. A. A. de.; MOURA, F. M. L de.; FERNANDES, M. F. T. S.; SANTOS, V.  
614 V. M.; FERNANDES, E. F. F. T.S. **Acta Veterinária Brasilica**, v.7, n.1, p.38-47, 2013.

615 BARROS, M. A. F.; NERO, L. A.; MONTEIRO, A. A.; BELOTI, V. Identification of main  
616 contamination points by hygiene indicator microorganisms in beef processing plants. **Ciência  
617 e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 4, p. 856-862, 2007.

618 BRASIL. 2003. Ministério da Agricultura. Instrução Normativa no 62, de 26 de agosto de 2003.  
619 **Dispõe sobre os métodos analíticos para análises microbiológicas para controle de  
620 produtos de origem animal e água.** Diário Oficial da União, Brasília, 18 de setembro de 2003.

621 BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Resolução RDC nº12, de 02  
622 de janeiro de 2001. **Aprova o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para  
623 alimentos.** Diário Oficial da União. 07 de 10 janeiro de 2001. Brasília, DF.

624 BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução normativa nº 20,  
625 de 21 de julho de 1999.** Métodos Analíticos Físico-Químicos, para Controle de Produtos  
626 Cárneos e seus Ingredientes - Sal e Salmoura- SDA. Diário Oficial da União. Brasília, DF, 09  
627 de setembro de 1999.

628 BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução normativa nº 40,  
629 de dezembro de 2005.** Métodos Analíticos, Isolamento e Identificação da *Salmonella* na carne

630 bovina, avicultura e produtos derivados de ovos. Diário Oficial da União. Brasília, DF, 16 de  
631 dezembro de 2005.

632 BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 83, de  
633 21 de novembro de 2003. **Aprova os regulamentos técnicos de identidade e qualidade de**  
634 **carne bovina em conserva e carne moída de bovino**. Diário Oficial da União. Brasília, DF,  
635 24 de novembro de 2003.

636 BRASIL. Ministério da Saúde. Surtos de doenças transmitidas por alimentos no Brasil.  
637 Disponível em: <[http://](http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2016/junho/08/Apresenta----o-Surtos-DTA-2016.pdf)  
638 [http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2016/junho/08/Apresenta----o-Surtos-DTA-](http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2016/junho/08/Apresenta----o-Surtos-DTA-2016.pdf)  
639 [2016.pdf](http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2016/junho/08/Apresenta----o-Surtos-DTA-2016.pdf)>. Acesso em: 08 abr. 2017.

640 CAMILLA, H.; TRINDERUP, ANDERS, D.; KIRSTEN, J.; JENS, M. C.; AND KNUT, C.  
641 Comparison of a multispectral vision system and a colorimeter for the assessment of meat color.  
642 **Meat Science**, n.102, p.1-7, 2015.

643 CASAROTTI, S. N.; PAULA, A. T.; ROSSI, D. A. Correlação entre métodos cromogênicos e  
644 o método convencional na enumeração de coliformes e *Escherichia coli* em carne bovina  
645 moída. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, n. 3, p. 278-286, 2008.

646 CUNHA, M. A. DA; SILVA, M. R. Métodos de detecção de microrganismos indicadores.  
647 **Saúde & Ambiente em Revista**, v.1, n.1, p.09-13, 2006.

648 DAMER, J. R. S. da.; DILL, R. E.; GUSMÃO, A. A.; MORESCO, T. R. Contaminação de  
649 carne bovina moída por *Escherichia coli* e *Salmonella* sp, **Revista Contexto & Saúde**. v.14,  
650 n.26, p. 20-27, 2014.

651 FENG, P.; WEAGANT, S. D.; GRANT. M. A.; BURKHARDT, W. **Bacteriological**  
652 **Analytical Manual: Enumeration of *Escherichia coli* and the Coliform Bacteria**. 2002.  
653 Disponível em: <  
654 <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm064948.htm>>.  
655 Acesso em: 07 abr de 2017.

656 FENG, P.; WEGANT, S.D.; JINNEMAN, K. Diarrheagenic *Escherichia coli*. **Bacteriological**  
657 **Analytical Manual**. Disponível em:  
658 <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm070080.htm>. U.S.  
659 Food and Drug Administration FDA/CFSAN 2011. Disponível em:<  
660 <https://www.fda.gov/food/foodscienceresearch/laboratorymethods/ucm2006949.htm>>. Acesso  
661 em: 06 de abr 2017.

662 FERREIRA, A. M.; ANDRADE, D.; RIGOTTI, M. A.; ALMEIDA, M. T. G. *Staphylococcus*  
663 *aureus* resisntente à meticilina em superfícies de uma Unidade de Terapia Intensiva. v. 24, n.  
664 4, p. 6, 2011.

665 FERREIRA, R; SIMM, E. M. Análise microbiológica da carne moída de um açougue da região  
666 central do município de Pará de Minas/MG. **SynThesis Revista Digital FAPAM**, Pará de  
667 Minas, n. 3, p. 37-61, 2012.

668 FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da segurança dos alimentos**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed,  
669 2013. 607 p.

670 FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Atheneu,  
671 2008. 182 p.

672 FUNG, D. Rapid methods and automation in microbiology. *Comprehensive Reviews in Food*  
673 *Science and Food Safety*. n.1, v.1, p.3-22, 2002.

674 GOMIDE, L.A.M.; RAMOS, E.M.; FONTES, P.R. **Ciência e Qualidade da Carne - Série**  
675 **Didática - Fundamentos**. Viçosa: Editora UFV. 2013. 197p.

676 HANGUI, S.A.R.; FERREIRA, A.F.; DOURADO, A.T.S.; MARTINS, J.D.; VARGEM, D.S.;  
677 SILVA, J. R. Análise microbiológica da carne bovina moída comercializada na cidade de  
678 Anápolis, Goiás. **Revista Eletrônica de Farmácia**. v.12, n.2, p.30-38, 2015.

679 INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4. ed.  
680 São Paulo: IMESP, 2008. p.1020.

681 JASSON, V.; JACXSENS, L.; LUNING, P.; RAJKOVIC, A.; UYTENDAELE, M.  
682 Alternative microbial methods: An overview and selection criteria. **Food Microbiology**, v. 27,  
683 n. 6, p. 710-730, 2010.

684 JAY, J. M. **Microbiologia dos alimentos**. 6 ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. p. 711.

685 JORIS, M.A.; VANROMPAY, D.; VERSTRAETE, K.; REU, K.; ZUTTER, L.; COX, E. Use  
686 of antibody responses against locus of enterocyte effacement (LEE) – Encoded antigens to  
687 monitor enterohemorrhagic *Escherichia coli* infections on cattle farms. **Appleid and**  
688 **Environmental Microbiology**. v. 79, n. 12. p. 3677-3683, 2013.

689 JUSTÉ, A.; THOMMA, B.P.H.J.; LIEVENS, B. Recent advances in molecular techniques to  
690 study microbial communities in food-associated matrices and process. **Food Microbiology**.  
691 v.25, n.6, p.745-61, 2008.

692 KORNACKI J. L.; JOHNSON J. L. Enterobacteriaceae, Coliforms, and *Escherichia coli* as  
693 quality and safety indicators. In: \_\_\_\_\_. Compendium of methods for the microbiological  
694 examination of foods. 4.ed. Washington DC: American Public Health Association, 2001. Cap.  
695 8, p. 69-82.

696 LEOTTA, G.A.; BRUSA, V.; GALLI, L.; ADRIANI, C.; LINARES.L.; ETCHEVERRÍA, A.;  
697 SANZ, M.; SUCARI, A.; GARCÍA, P. P.; SIGNORINI.M. Comprehensive Evaluation and  
698 Implementation of Improvement Actions in Butcher Shops. **Plos One**. v. 11, n. 9, p. 16, 2016.  
699 MANGEN, M. J.; BOUWKNEGT, M.; FRIESEMA, I. H. M.; HAAGSMA, J. A.;  
700 KORTBEEK, L. M.; TARIQ, L.; WILSON, M.; PELT, W.V.; HAVELAAR, A. H. Cost-of-  
701 illness and disease burden of food-related pathogens in the Netherlands 2011. **International**  
702 **Journal of Food Microbiology**. v.196, n. 2, p. 84-93, 2015.  
703 MARCHI, P.G.F.; JUNIOR, O.D.R.; CERESER, N.D.; SOUZA, V.; LAO, N.C.M.R.; FARIA,  
704 A.A. Avaliação microbiológica e físico-química da carne bovina moída comercializada em  
705 supermercado e açougues de Jaboticabal-SP. **Revista Eletrônica da Univar**, v.1, n.7, 2012.  
706 MARTINS, S. C. S.; FIÚZA, L. M. C.G.; MARTINS, C. M. Comparação de diferentes meios  
707 de cultivo para a avaliação da viabilidade celular de fermentos biológicos. **Enciclopédia**  
708 **Biosfera**, v. 9, n. 16, p. 2478, 2013.  
709 MAZIERO, M. T.; BERSOT. L. S. Micotoxinas em alimentos produzidos no Brasil. **Revista**  
710 **Brasileira de Produtos Agroindustriais**. v.12, n. 1, p. 89-99, 2010.  
711 MENDONÇA, C. R.; GRANADA, G.: Coliformes em açougues de Pelotas-RS. **Current**  
712 **Agricultural Science and Technology**, v. 5, n. 1, 2012.  
713 MESQUITA, M. O. de.; VALENTE, T. P.; ZIMMERMANN, A.; FRIES, L. L. M.; TERRA,  
714 N. N. Qualidade físico-químico da carne bovina *in natura* aprovada na recepção de restaurante  
715 industrial. **Revista vigilância em debate**, v. 2, n. 3, p. 103-108, 2014.  
716 NASCIMENTO, M.V.D.; UEDES, A. T. L.; SILVA, H. A.; SANTOS, V. E. P.; PAZ, M. C. F.  
717 Avaliação microbiológica da carne moída fresca comercializada no mercado central em  
718 Campina Grande-PB. **Revista Saúde e Ciência**. v. 3, n. 1, p. 56-68, 2014.  
719 OBESO, J. M.; GARCIA, P.; MARTÍNEZ, B.; ARROYO-LOPEZ, F.N.; GARRIDO-  
720 FERNANDEZ, A.; RODRIGUEZI, A. Use of Logistic Regression for Prediction of the Fate of  
721 *Staphylococcus aureus* in Pasteurized Milk in the Presence of Two Lytic Phages. **Applied and**  
722 **Environmental Microbiology**, v. 76, n. 18, p. 6038-6046, 2010.  
723 OLIVEIRA, F. B.; MIRANDA, A.S.; VIANA JÚNIOR, N.M.; SANTANA, R. F. Qualidade  
724 Microbiológica de Farinhas de Linhaça Dourada e Marrom. **UNOPAR Científica Ciências**  
725 **Biológicas e da Saúde**, v. 17, n. 3, p. 176-80, 2015.  
726 PARDI, M.C.; SANTOS, I.F.; SUZA, E.R.; PARDI, H.S. **Ciência, Higiene e Tecnologia da**  
727 **Carne**. Goiânia: UFG, v. 1, 2006, p. 592.



728 PINHEIRO, F.A.; CARDOSO, W.S.; CHAVES, K.F.; OLIVEIRA, A.S.B.; RIOS, S.A. Perfil  
729 de Consumidores em Relação à Qualidade de Alimentos e Hábitos de Compras. **UNOPAR**  
730 **Cient Ciênc Biol Saúde**. v. 13, n. 2, p. 95-102, 2011.

731 R. F. S.; GOMES, R. A. R. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e**  
732 **Água**. 4 ed. São Paulo: Varela, 2010. 624p.

733 RODRIGUES, M. X.; BITTENCOURT, J. V. M.; MATOS, E. A. S. A.; REIS, D. R. Inovação  
734 em métodos analíticos microbiológicos na indústria alimentícia. **Latin American Journal of**  
735 **Business Management**. v. 2, n. 2, p. 54-81, 2011.

736 ROSINA, A.; MONEGO, F. Avaliação microbiológica da carne bovina moída nas redes de  
737 supermercados de canoinhas-SC. **Revista Interdisciplinar**. v. 2, n. 2, p. 55-64, 2013.

738 SANTANA, E. H. W.; BELOTI, V. ARAGON-ALEGRO, L.C.; MENDONÇA, M. B. O. C.  
739 Estafilococos em alimentos. **Arquivo do Instituto Biológico**, v. 77, n. 3, p. 545-554, 2010.

740 SILVA JR, E. A. **Manual de controle higiênico-sanitário em serviço de alimentação**. 6 ed.  
741 São Paulo. Varela, 2007. 624 p.

742 SILVA JUNIOR, E. **Manual de controle higiênico-sanitário em serviços de alimentação**. 6  
743 ed. São Paulo: Varela; 2013.

744 SILVA, B. O.; CARAVIELLO, S. Z.; RODRIGUES, A. C.; RUEGG, P. L. Evaluation of  
745 Petrifilm for the Isolation of *Staphylococcus aureus* from Milk Samples. **Journal of Dairy**  
746 **Science**, v. 88, p. 3000-3008, 2005.

747 SILVA, J.S.; FURTADO, S. C. Análise físico-química da carne moída comercializada na zona  
748 sul de Manaus-AM. **Revista Científica da Fametro**, v.1, n.1, p. 11, 2016.

749 SILVA, M. P.; CAVALLI, D. R.; OLIVEIRA, T. C. R. M. Avaliação do padrão coliformes a  
750 45°C e comparação da eficiência das técnicas dos tubos múltiplos e Petrifilm EC na detecção  
751 de coliformes totais e *Escherichia coli* em alimentos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v.  
752 26, n. 2, p. 352-359, 2006.

753 SILVA, N. da.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. de A.; TANIWAKI, M.  
754 H.; SANTOS, R. F. S. dos.; GOMES, R. A. R. **Manual de métodos de análise microbiológica**  
755 **de alimentos**. 3.ed. São Paulo: Varela, 2007. 536 p.

756 SILVA, N. da.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS,  
757 SILVA, R. R. L.; GOUVEIA, D. S.; ROCHA, A. P. T.; ARAUJO, A. S. Análise de coliformes  
758 e verificação das Boas Práticas de Fabricação de carne moída comercializada na cidade de  
759 Campina Grande-PB. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v.10,  
760 n. 1, p.115-119, 2015.

761 SOUSA, C. P. Segurança alimentar e doenças veiculadas por alimentos: utilização do grupo  
762 coliforme como um dos indicadores de qualidade de alimentos. **Revista APS**. n.9, v.1, p.83-88,  
763 2006.

764 TRABULSI, L. R. **Microbiologia**. 4. ed. São Paulo: Atheneu, 2005. 718 p.

765 VELHO, A. L. M. C. S.; ABRANTES, M. R.; MEDEIROS, J. M. S.; AGUIAR, K. C. S.;  
766 SOUSA, E. S.; SOARES, K. M. P.; SILVA, J. B. A. Avaliação qualitativa da carne bovina in  
767 natura comercializada em Mossoró-RN. **Acta Veterinária Brasília**, v. 9, n. 3, p. 212-217,  
768 2015.

769 VIPHAM, J. L.; BRASHEARS, M. M.; LONERAGAN, G. H.; ECHEVERRY.A.; BROOKS,  
770 J.C.; CHANEY, W. E.; MILLIR, M. F. Salmonella and Campylobacter baseline in retail ground  
771 beef and whole-muscle cuts purchased during 2010 in the United States. **Journal of Food**  
772 **Protection**. v. 75, n. 12, p. 2110-2115, 2012.

773 WARNER, R. D.; GREENWOOD, P. L.; PETHICK, D. W.; FERGUSON, D. M. Genetic and  
774 environmental effects on meat quality. **Meat Science, Savoy**, v. 86, n. 1, p. 171-183, 2010.



1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34

**CAPÍTULO 2- Qualidade microbiológica e físico-química da carne moída bovina  
comercializada em Bom Jesus-PI**

Elaborado de acordo com as normas da Revista Pesquisa Agropecuária Brasileira  
(ISSN 1678-3921)  
(<http://seer.sct.embrapa.br/index.php/pab>)

35

36 **Qualidade microbiológica e físico-química da carne moída comercializada em Bom**  
37 **Jesus-PI**

38 **Microbiological and physicochemical quality of ground beef sold in Bom Jesus-PI**

39 **Maria Santos Oliveira<sup>1\*</sup>, Antonio Augusto Nascimento Machado Júnior<sup>2</sup>**  
40

41 <sup>(1)</sup> Mestranda em Zootecnia, *Campus* Profa. Cinobelina Elvas, Universidade Federal do Piauí,  
42 Bom Jesus, Piauí, Brasil.

43 <sup>(2)</sup> Professor Adjunto, Curso de Medicina Veterinária, *Campus* Profa. Cinobelina Elvas,  
44 Universidade Federal do Piauí, Bom Jesus-PI, Brasil.

45

46

**RESUMO**

47

48 A carne moída é muito utilizada na elaboração de pratos de rápido preparo e tem grande  
49 aceitação por parte dos consumidores devido a praticidade e ao preço, além de ser uma  
50 excelente fonte de proteína. Ao longo das etapas da produção e manipulação, podem ocorrer  
51 contaminações microbianas, de modo a comprometer a qualidade do produto. Objetivou-se  
52 analisar a qualidade físico-química e microbiológica da carne moída comercializada em Bom  
53 Jesus-PI. Foram adquiridas 60 amostras de carne moída, as quais foram submetidas as provas  
54 físico-químicas e microbiológicas. Todas as amostras apresentaram odor e textura normais,  
55 diante da prova de cocção, enquanto que nas provas de filtração 56 (93,66%), pH 51 (85%),  
56 amônia 7 (11,66%), apresentaram valores em desacordo com a legislação. Já para as provas de  
57 gás sulfídrico e sulfito de sódio, não houve amostras positivas. Houve crescimento de bactérias  
58 aeróbias mesófilas em 52 (86,66%) e de bolores e leveduras em 34 (56,66%) das amostras.  
59 Coliformes totais e termotolerantes foram encontrados em 86,66% (52/60) e 55% (33/60) das  
60 amostras, respectivamente. *Escherichia coli* e *Staphylococcus* sp. foram isolados em 46,66%  
61 (28/60) e 100% (60) das amostras, respectivamente. Nenhuma amostra foi positiva para  
62 *Salmonella* sp. Com base nos resultados obtidos, conclui-se que, a carne moída comercializada  
63 em Bom Jesus-PI apresenta alterações físico-químicas e elevada contaminação microbiana que  
64 comprometem a qualidade e o tempo de vida útil do produto, além de causar riscos à saúde  
65 pública.

66 **Palavras-chave:** carne bovina, patógenos, qualidade alimentar

67

## ABSTRAT

68  
69

70 Ground meat is very used in the preparation of fast-food dishes and has great acceptance on the  
71 part of the consumers due to praticities and the price, besides being an excellent source of  
72 protein. Throughout the production and handling stages, microbial contaminations can occur in  
73 order to compromise product quality. The objective was to analyze the physicochemical and  
74 microbiological quality of ground beef sold in Bom Jesus-PI. Sixty samples of ground beef  
75 were obtained, which were submitted to physicochemical and microbiological tests. All  
76 samples had a normal odor and texture in the presence of the cooking test, whereas in the  
77 filtration tests 56 (93.66%), pH 51 (85%), ammonia 7 (11.66%) presented values in  
78 disagreement with legislation. As for the sulfide gas and sodium sulfite tests, there were no  
79 positive samples. There was growth of aerobic mesophilic bacteria in 52 (86.66%) and of molds  
80 and yeasts of 34 (56.66%). Total and thermotolerant coliforms were found in 86.66% (52/60)  
81 and 55% (33/60) of the samples, respectively. *Escherichia coli* and *Staphylococcus* sp. were  
82 isolated in 46.66% (28/60) and 100% (60) of the samples, respectively. On the basis of the  
83 results obtained, it is concluded that, in general, the ground beef sold in Bom Jesus-PI presents  
84 physicochemical alterations and high microbial contamination that compromise quality and  
85 shelf life of the product, in addition to causing risks to public health.

86 **Keywords:** beef, pathogens, food quality

87

88

## INTRODUÇÃO

89  
90

91 A carne bovina é uma das principais fontes de proteína animal consumida pela  
92 população brasileira (ALMEIDA; MONTEIRO; BEZERRA, 2015; LEVY et al., 2013). A rica  
93 disponibilidade de proteínas, ácidos graxos, gorduras e vitaminas fazem da carne um produto  
94 de importante participação na dieta humana (OLIVO; OLIVO, 2006).

95 Após o abate, variados tipos de cortes e diferentes apresentações são elaborados, a partir  
96 da carne no intuito de atender ao mercado consumidor (MARCHI et al. 2012). Dentre os  
97 processamentos da carne, a carne moída destaca-se por ser elaborada a partir de cortes menos

98 valorizados, quanto por sua praticidade nas aplicações culinárias (LIVONI; BEGOTTI;  
99 MERLINI, 2013).

100 Devido aos seus atributos nutricionais, elevada atividade de água e pH muito próximo  
101 da neutralidade, a carne moída constitui-se em um excelente meio de cultura para uma vasta  
102 quantidade de microrganismos (FERREIRA; SIMM, 2012). Neste sentido, seu consumo deve  
103 ser cercado de cuidados quando comparados aos demais cortes, já que mesmo em condições  
104 ideais de manuseio e conservação a carne moída se deteriora muito rápido, uma vez que o  
105 rompimento das fibras musculares e aumento da superfície exposta aceleram as reações de  
106 oxidação e a probabilidade de contaminação microbiana (FERREIRA; SIMM, 2012; JAY,  
107 2005).

108 A população microbiana comumente encontrada na carne moída é resultante de falhas  
109 no controle higiênico, durante o abate, transporte da matéria-prima, manipulação,  
110 processamento, armazenamento e comercialização (CONCEIÇÃO; GONÇALVES, 2009;  
111 JAY, 2005). Assim, além dos cuidados durante o abate, a higiene dos manipuladores e a  
112 higienização adequada das máquinas e utensílios são fundamentais para prevenir a  
113 contaminação da carne moída (OLIVEIRA et al. 2008).

114 Por ser propícia à multiplicação microbiana e devido ao seu elevado consumo por parte  
115 da população, a carne moída tem sido um dos alimentos mais frequentemente envolvidos em  
116 surtos de doenças transmitidas pelos alimentos (DTAs) em diversas localidades do mundo  
117 (MARCHI et al. 2012; ERDEM et al. 2014; LUZ et al., 2015). Uma vez que as DTAs são um  
118 problema de saúde pública, os estabelecimentos que compõem a cadeia produtiva da carne  
119 devem implantar rigorosas medidas preventivas de controle, a fim de minimizar a contaminação  
120 e/ou multiplicação bacteriana (BARROS et al., 2007).

121 Diante do exposto, objetivou-se com essa pesquisa avaliar a qualidade microbiológica  
122 e físico-química da carne moída bovina, comercializada em supermercados, açougues e feira-  
123 livre de Bom Jesus-PI.

124

125

## MATERIAL E MÉTODOS

126 Foram adquiridas 60 amostras de carne moída, à venda em supermercados, açougues e  
127 na feira-livre de Bom Jesus-PI, nos meses de junho e julho de 2016. As amostras foram  
128 mantidas na embalagem de compra e encaminhadas, em caixa isotérmica com gelo, ao  
129 laboratório de Microbiologia de Alimentos da Universidade Federal do Piauí, *Campus Profa*  
130 *Cinobelina Elvas*, situado no mesmo município, para realização das análises.

131 Assepticamente, de cada amostra foram pesados 25 gramas e transferidos para 225 mL  
132 de água peptonada a 0,1%, obtendo-se, assim, a diluição  $10^{-1}$ . Em seguida, foram preparadas  
133 diluições decimais até  $10^{-4}$  em tubos de ensaio contendo 9 ml de água peptonada a 0,1%,  
134 adicionados de 1 mL da diluição anterior, para formar a diluição seguinte.

135 Para a contagem de bactérias aeróbias mesófilas, depositou-se 1 mL de cada diluição  
136 decimal em placas de Petri vazias e esterilizadas, em duplicata. Imediatamente após a  
137 inoculação, verteram-se sobre o inóculo de 15 a 20 mL do ágar padrão para contagem,  
138 previamente esterilizado, fundido e resfriado a 45°C. Após homogeneização e solidificação do  
139 ágar, as placas foram invertidas e incubadas em estufa incubadora a 35°C por 24 h (SPECK,  
140 2001; BRASIL, 2003). Em seguida, realizaram-se as contagens em placas contendo de 25 a 250  
141 colônias (BRASIL, 2003). Para obtenção dos resultados, multiplicaram-se a média do número  
142 das colônias contadas nas placas em duplicata pelo fator de diluição das placas correspondentes,  
143 fornecendo o número de microrganismos aeróbios mesófilos por grama da amostra analisada.

144 Para a determinação do número mais provável (NMP) de coliformes totais, transferiu-  
145 se 1 mL de cada diluição decimal para 4 séries de 3 tubos contendo 9 mL de caldo verde  
146 brilhante bile lactosado 2%, após inoculação, os tubos foram incubados a 35°C por 48 horas.



147 Foram considerados positivos os tubos que apresentaram formação de gás no tubo de Durhan.  
148 Os resultados obtidos foram analisados por meio da tabela de NMP de coliformes totais por  
149 grama da amostra (BRASIL, 2003).

150 Para a pesquisa dos coliformes termotolerantes foi utilizado o caldo *Escherichia coli*  
151 (EC), com incubação em banho maria a  $45,5 \pm 0,2^\circ\text{C}$  por  $24 \pm 2$  horas. Os tubos que apresentaram  
152 formação de gás no tubo de Durhan foram semeadas em placas com Ágar Eosina-Azul de  
153 Metileno (EMB) e incubadas a  $35^\circ\text{C}$  por 24 horas (BRASIL, 2003). As placas que apresentaram  
154 características verde metálicas foram submetidas as provas bioquímicas de produção de Indol,  
155 Vermelho de Metila, Voges-Proskauer e Citrato de Simmons descrita por FENG et al. (2011).

156 Na detecção de *Staphylococcus*, alíquotas de 25 gramas da amostra foram diluídos em  
157 solução salina peptonada a 0,1% como diluição inicial  $10^{-1}$ . Em seguida, foram preparadas  
158 diluições decimais até  $10^{-4}$  em tubos de ensaio contendo 9 ml de solução salina peptonada 0,1%  
159 estéril, transferindo-se sucessivamente alíquotas de uma diluição para formar a diluição  
160 seguinte. Alíquotas de 0,1 mL das diluições foram transferidas para placas de Petri contendo o  
161 ágar Baird-Parker. Em seguida, com auxílio de uma alça de Drigalsky, espalhou-se o inóculo  
162 cuidadosamente por toda a superfície do meio. As placas foram incubadas a  $37^\circ\text{C}$  por 48 horas  
163 e, após esse período, selecionaram-se para contagem as placas contendo entre 25 e 250 colônias.  
164 Consideraram-se como colônias típicas, as de coloração negra brilhante, com anel opaco,  
165 rodeadas por um halo claro transparente. Estas foram semeadas em tubos contendo 10 mL de  
166 caldo Infusão Cérebro-Coração, e incubadas a  $35^\circ\text{C}$  por 24 horas. Posteriormente, submeteram-  
167 se as colônias à coloração de Gram e às provas de catalase e de coagulase para a identificação  
168 de *Staphylococcus* coagulase positiva, seguindo os métodos analíticos oficiais descritos na IN  
169 62 (BRASIL, 2003).

170 A contagem de bolores e leveduras iniciou-se com o preparo das diluições decimais de  
171  $10^{-1}$  a  $10^{-3}$ , em solução salina a 0,1% (BRASIL, 2003). De cada diluição, foram transferidos 1

172 mL para placas de Petri vazias e esterilizadas, em duplicata. Para o cultivo, utilizou-se o meio  
173 agar dextrose batata (ADB), que após fundido, esterilizado e resfriado a 45° C, foi adicionado  
174 de ácido tartárico a 10%, para inibição da microbiota bacteriana. Após a inoculação, verteram-  
175 se de 15 a 20 mL do meio sobre o inóculo, homogeneizando-se suavemente o conjunto. Depois  
176 da solidificação, as placas foram invertidas e incubadas em estufa incubadora a 35°C por sete  
177 dias (SPECK, 2001; BRASIL, 2003). Efetuaram-se as contagens em placas contendo de 25 a  
178 250 colônias (BRASIL, 2003). A média do número das colônias contadas nas placas em  
179 duplicata foi multiplicada pelo fator de diluição das placas correspondentes, fornecendo o  
180 número de microrganismos de bolores e leveduras por grama da amostra analisada.

181 Na pesquisa de *Salmonella* sp., realizou-se o pré-enriquecimento em água peptonada a  
182 0,1%, por 24h/42°C. Na fase de enriquecimento seletivo, alíquotas de 0,1 mL foram transferidas  
183 para tubos contendo 9,9 mL do caldo Rappaport-Vassiliadis, para incubação a 41±1°C por 24  
184 horas. Após esse período, semearam-se placas contendo os meios Ágar Xilosina Lisina  
185 Desaxicolato, Ágar Mac Conkey, Ágar *Samonella-Shigella* e Ágar Hektoen Enteric, e estas  
186 foram incubadas por 24 horas a 35-37°C. As colônias típicas foram submetidas aos testes  
187 bioquímicos nos meios Triple Sugar Iron e Ágar Lisina Ferro (BRASIL, 2003).

188 As determinações físico-químicas seguiram as metodologias oficiais preconizadas pelo  
189 Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 1999) e pelo Instituto Adolfo  
190 Lutz (IAL, 2008).

191 A prova de filtração foi realizada, colocando-se 10g da amostra em *Erlenmeyer*, e  
192 acrescentados 100 ml de água destilada. Após agitação vigorosa por 15 minutos, filtrou-se a  
193 mistura em papel de filtro com gramatura de 80g/m<sup>2</sup> e espessura 0,2 mm, cronometrando-se o  
194 tempo. Consideraram-se como carne fresca, as amostras com tempo de filtração menor que 5  
195 minutos; como carne de média conservação, as amostras filtradas entre 6-10 minutos; e  
196 finalmente, como carne suspeita ou provavelmente alterada, as amostras em que a filtração

197 ultrapassou os 10 minutos (BRASIL, 1999). Essa prova avalia o estado de decomposição da  
198 carne, através dos produtos solúveis das proteínas, que ficam acondicionados, fazendo a  
199 lentidão na filtração (MESQUITA et al., 2014).

200 Para a determinação da reação de amônia transferiram-se 5 mL do reagente de Éber para  
201 um tubo de ensaio de 25 mL. Logo após, fixou-se um pedaço da amostra na extremidade do  
202 arame tipo anzol e introduziu no tubo de ensaio de modo que não tocasse nem nas paredes nem  
203 na superfície do reagente (COSTA, 2014). O aparecimento de fumaças brancas e espessas  
204 indica que o produto está em início de decomposição (IAL, 2008).

205 Para a pesquisa de gás sulfídrico, adicionaram-se 10g da amostra homogeneizada a 25  
206 mL de água destilada, em um *Erlenmeyer* de 125 ml. Em seguida, colocou-se uma tira de papel  
207 de acetato de chumbo preso à tampa do frasco e submeteu o conjunto em banho-maria fervente  
208 por 10 minutos. Ao final do período verificou-se a coloração do papel, considerando-se  
209 diferentes graus de produção de sulfeto de chumbo, de acordo com o grau de enegrecimento do  
210 papel. Assim, uma cruz (+) significou pouca produção de sulfeto de chumbo e três cruces (+++),  
211 muita produção (IAL, 2008).

212 Na prova de sulfito, pesaram-se 3,5 g da amostra em cápsula de porcelana. Em seguida,  
213 acrescentaram-se 0,5 mL da solução de verde malaquita, misturando-se com uma espátula, por  
214 1 a 2 minutos. O sulfito presente na amostra descora a solução de verde malaquita. Na ausência  
215 de sulfito, a amostra cora em verde azulado (IAL, 2008).

216 Para a prova de cocção, transferiu-se uma porção de 20 g de carne moída para um béquer  
217 de 250 mL, adicionando-se em seguida uma quantidade de água suficiente para cobrir a  
218 amostra. Após tampar o béquer com vidro de relógio, homogeneizou-se o conteúdo e aqueceu-  
219 se até o início dos primeiros vapores. Amostras impróprias para o consumo apresentam odor  
220 amoniacal ou sulfídrico. Após essa observação, o conteúdo foi fervido por mais 5 minutos para  
221 verificação das características da carne e do caldo (BRASIL, 1999).

222 As aferições de pH da carne foram realizadas por meio do método potenciométrico,  
223 utilizando-se 50g de cada amostra homogeneizada com 10mL de água destilada. Consideraram-  
224 se próprias para consumo as amostras com pH situado entre 5,8 e 6,2 (IAL, 2008).

225 Os resultados foram expressos na forma de média e foram comparados com os padrões  
226 estabelecidos pela legislação vigente no Brasil, agrupando-os as amostras em aceitáveis ou  
227 inaceitáveis, calculando-se a frequência dos grupos, conforme os limites considerados  
228 (SAMPAIO, 2002).

## 229 RESULTADOS E DISCUSSÃO

230 Todas as amostras de carne moída analisadas (n=60) apresentaram cor, odor e textura  
231 normais, tanto na observação *in natura*, quanto à prova de cocção, estando em conformidade  
232 com a legislação em vigor (Tabela 1) (BRASIL, 1981). Esse resultado difere do encontrado por  
233 Baptista et al. (2013) que encontraram odor alterado à prova de cocção, em cinco de 20 amostras  
234 de carne moída analisadas. As características sensoriais da carne refletem o estado de frescor  
235 do produto e constituem os principais atributos observados pelos consumidores na hora da  
236 compra (MESQUITA et al., 2014; SHIMOKOMAKI et al., 2006).

237 **Tabela 1:** Qualidade físico-química da carne moída comercializada em Bom Jesus-PI, 2016.

<b>Parâmetro</b>	<b>Limite aceito</b>	<b>Acordo</b>	<b>Desacordo</b>	<b>Total</b>
		<b>N (%)</b>	<b>N (%)</b>	<b>N (%)</b>
<b>Cocção</b>	Cor/Odor/Textura	60 (100%)	-	60 (100%)
<b>Filtração</b>	Até 5 min	4 (6,66%)	56 (93,66%)	60 (100%)
<b>pH</b>	5,8 a 6,2	9 (15%)	51 (85%)	60 (100%)
<b>Amônia</b>	Negativo	53 (88,33%)	7 (11,66%)	60 (100%)
<b>Gás sulfídrico</b>	Negativo	60 (100%)	-	60 (100%)
<b>Sulfito de sódio</b>	Negativo	60 (100%)	-	60 (100%)

238

239 Apesar da aparência normal das amostras, as provas físico-químicas indicaram início de  
240 deteriora em 58 (96,66%) amostras. Isso decorre do fato de que algumas alterações iniciais do

241 processo de deteriora não são facilmente perceptíveis, e só podem ser detectadas por meio de  
242 análises laboratoriais (FRANCO e LANDGRAF, 2008).

243 Os resultados da prova de filtração revelaram 76,66% (46/60) de amostras impróprias  
244 para consumo; 16,66% (10/60) estavam em estado de média conservação; e apenas 6,66%  
245 (4/60) de amostras normais e aptas ao consumo. Também para a prova de filtração, ao  
246 analisarem 30 amostras de carne bovina *in natura*, Mesquita et al. (2014) encontraram 66,66%  
247 de amostras impróprias para consumo. Por sua vez, Marchi et al. (2012) encontraram em 30  
248 amostras de carne moída, 26,7% de amostras consideradas de média conservação, mas não  
249 encontraram amostras impróprias para consumo.

250 O pH médio das amostras de carne moída foi de 5,68, com valores entre 5,11 e 6,95. Do  
251 total de amostras analisadas, 51 amostras (85%) estavam em desacordo com o limite  
252 estabelecido pela legislação e, destas, 50 apresentaram pH abaixo desse limite que é de 5,8 e  
253 6,2. Apenas uma amostra apresentou pH acima do limite. Analisando 48 amostras de carne  
254 bovina *in natura* em Mossoró, Velho et al. (2015) relataram pH abaixo do estabelecido pela  
255 legislação em todas as amostras (100%). Por outro lado, Silva; Furtado (2016), encontraram pH  
256 dentro do limite aceito, em 100% das amostras de carne moída da zona sul de Manaus-AM.

257 Após a morte, o pH do músculo acidifica-se à medida em que o potencial glicolítico  
258 aumenta, com conseqüente produção de ácido láctico. Quanto maior for o potencial glicolítico  
259 mais baixo serão os valores do pH final (LAWRIE, 2005; NELSON; COX, 2008). Já o pH  
260 elevado, resulta da baixa quantidade de glicogênio presente no músculo do animal, e formação  
261 insuficiente de ácido láctico (NELSON; COX, 2008).

262 Amônia foi detectada em 11,66% (7/60) das amostras analisadas. Marchi et al. (2012)  
263 relataram a presença de amônia em 100% das amostras (n=30) de carne moída oriunda de  
264 Jaboticabal-SP. A presença de amônia indica início de proteólise e sinaliza a deterioração da  
265 carne (MARCHI, 2006). A formação desse composto pode ocorrer em carnes mantidas sob

266 condições inadequadas de temperatura e também nas que são armazenadas por longo período  
267 de tempo sob refrigeração, por ação de microrganismos psicrótróficos, os quais são capazes de  
268 sobreviver em baixas temperaturas (MARCHI, 2006; SILVA JUNIOR, 2013).

269 Nenhuma amostra foi positiva para gás sulfídrico. Diferentemente, Conceição;  
270 Gonçalves (2009) relataram a presença do composto em 100% das amostras de carne moída  
271 oriundas do Rio de Janeiro e Niterói-RJ. Embora seja um sinalizador de decomposição da carne,  
272 o gás sulfídrico só pode ser detectado no estado mais avançado de deteriora, pois este é  
273 produzido a partir do enxofre liberado pelas bactérias decompositoras (BRASIL, 1981).

274 Não foi detectado sulfito de sódio nas amostras analisadas. A adição de sulfitos à carne  
275 moída foi relatada Conceição; Gonçalves (2009) em 48% das amostras de carne moída obtidas  
276 do Rio de Janeiro e de Niterói-RJ. Para a carne *in natura*, a presença de sulfito de sódio foi  
277 relatada no Rio de Janeiro, por Mantilla et al. (2006) e Silva et al. (2009), nas frequências de  
278 56,66% e 11,42%, respectivamente. Já Bonfada et al. (2012) detectaram o aditivo em 3,63%  
279 das amostras de carne comercializadas no município de Porto Alegre-RS. A legislação  
280 brasileira proíbe a adição de conservantes à carne fresca (BRASIL 2003). Os resultados obtidos  
281 demonstram que a adição de conservantes não é uma prática comum para os comerciantes de  
282 carne bovina em Bom Jesus (BRASIL, 2003).

283 Houve crescimento de bactérias aeróbias mesófilas em 52 (86,66%) amostras  
284 analisadas, com média de  $3,14 \times 10^5$  UFC/g, e valores que variaram de  $2,0 \times 10^3$  a  $3,42 \times 10^6$   
285 UFC/g. De modo semelhante, Sousa et al. (2012) encontraram para a carne moída em Barra do  
286 Garças-MT, contagens de  $1,3 \times 10^3$  a  $2,7 \times 10^5$  UFC/g. Em seis amostras (10%), as contagens  
287 ultrapassaram  $10^5$  UFC/g, que é o limite recomendado pela *International Commission on*  
288 *Microbiological Specifications for Foods* (ICMSF, 1986) (Tabela 2). Almeida et al. (2010), ao  
289 analisarem a carne moída em Diamantina-MG, e Hanguí et al. (2015), pesquisando a carne  
290 moída em Anápolis-GO, verificaram, respectivamente, percentuais de 80% e 50% das amostras

291 com contagens superiores a esse limite. Contagens de bactérias aeróbias mesófilas tornam-se  
 292 elevadas devido à manipulação da carne moída e às precárias condições de moagem e  
 293 higienização dos moedores (MARCHI et al., 2012).

294

295 **Tabela 2:** Distribuição de amostras, segundo a faixa de contagem de bactérias aeróbias  
 296 mesófilas, e bolores e leveduras na carne moída bovina comercializada em Bom Jesus-PI

Faixa de contagem (UFC/g) *	Número de amostras (%)	
	Aeróbios mesófilos	Bolores e Leveduras
< 3,0	8 (13,33%)	16 (26,66%)
3 F 10 <sup>2</sup>	-	18 (30%)
10 <sup>2</sup> F 10 <sup>3</sup>	10 (16,66%)	22 (36,66%)
10 <sup>3</sup> F 10 <sup>4</sup>	20 (33,33%)	4 (6,66%)
10 <sup>4</sup> F 10 <sup>5</sup>	16 (26,66%)	-
10 <sup>5</sup> F 10 <sup>6</sup>	6 (10%)	-

297 \* UFC/g: Unidade Formadora de Colônias por g.

298 Em 34 (56,66%) amostras, houve crescimento de bolores e leveduras, com uma média  
 299 de 4,02 x 10<sup>3</sup> UFC/g e contagens que variaram de 1,35 x 10<sup>2</sup> a 7,0 x 10<sup>4</sup> UFC/g. (Tabela 2). De  
 300 modo semelhante, Sousa et al. (2012), encontraram para a carne moída em Barra do Garças-  
 301 MT, contagens entre 1,1x10<sup>2</sup> a 4,4x10<sup>4</sup> UFC/g. Por sua vez, Lundgren; Silva (2009)  
 302 encontraram para a carne *in natura*, em João Pessoa-PB, a frequência de crescimento de bolores  
 303 e leveduras de 50% (n=10), com contagens entre 1,6x10<sup>3</sup> e 1,0x10<sup>6</sup> UFC/g. A legislação  
 304 brasileira não estabelece limites para bolores e leveduras na carne moída, mas esses  
 305 microrganismos, além de acelerarem a deterioração dos alimentos, possuem algumas espécies  
 306 capazes de produzir metabólitos tóxicos conhecidos como micotoxinas (SILVA JR, 2007). A  
 307 contaminação por bolores e leveduras indica precárias condições de higiene operacional no  
 308 processamento dos alimentos (SILVA et al., 2004). Assim, para redução dessas contaminações

309 faz-se necessária a melhoria das condições higiênicas de equipamentos, utensílios e do  
310 ambiente em geral, como forma de prevenir a disseminação de esporos de fungos.

311 O crescimento de coliformes totais ocorreu em 86,66% (52/60) das amostras e destas  
312 28,33% (17/60) apresentaram contaminação acima de  $10^3$  NMP/g (Tabela 3). Esse percentual  
313 é menor que o encontrado Damer et al. (2014) que detectaram coliformes totais em todas as  
314 amostras de carne moída analisadas e por Rosina; Monego (2013), que também relataram a  
315 presença de coliformes totais em 100% das amostras oriundas de Canoinhas-SC, e 47,5% de  
316 contagens acima de  $10^3$  NMP/g. A contaminação por coliformes resulta das condições de  
317 higiene e de manipulação nos estabelecimentos de venda, as quais podem favorecer a  
318 contaminação e a multiplicação desse grupo microbiano (MARCHI et al., 2012). Os diferentes  
319 percentuais de contaminação por coliformes na carne moída refletem, pois, variações regionais  
320 relacionadas à cadeia produtiva e às práticas adotadas nas distintas localidades onde se  
321 realizaram as pesquisas.

322 **Tabela 3:** Distribuição de amostras, segundo a faixa de contaminação por coliformes totais e  
323 termotolerantes na carne moída bovina comercializada em Bom Jesus-PI.

Faixa de contaminação	Coliformes (NMP/g)	
	Totais	Termotolerantes
< 3,0	8 (13,33%)	27 (45%)
3 F- $10^2$	18 (30%)	25 (41,66%)
$10^2$ F- $10^3$	17 (28,33%)	4 (6,66%)
< $10^3$	17 (28,33%)	4 (6,66%)

324 \* NMP/g: Número mais provável por g.

325 Constatou-se crescimento de coliformes termotolerantes em 55% (33/60) das amostras  
326 e 4 (6,66%) destas foram consideradas inaceitáveis, por apresentarem contaminação acima de  
327  $10^3$  NMP/g, que é o limite estabelecido pela legislação para a carne bovina fracionada  
328 (BRASIL, 2001) (Tabela 3). Diferentemente, Hangui et al. (2015) encontraram coliformes



329 termotolerantes em 100% das amostras de carne moída oriunda de Anápolis-GO, mas nenhuma  
330 excedeu o limite de  $10^3$  NMP/g. Coliformes termotolerantes nem sempre indicam contaminação  
331 por material fecal, uma vez que o grupo contém espécies que compõem a microbiota natural da  
332 água, solo e vegetais (FRANCO e LANDGRAF, 2008).

333 *Escherichia coli* foi detectada em 46,66% (28/60) das amostras. A presença de *E. coli*  
334 em carne moída também foi relatada por Rosina; Monego (2013) e Erdem et al. (2014), nas  
335 frequências de 57,5% e 38% das amostras, respectivamente. *E. coli* é considerada um dos  
336 principais microrganismos contaminantes da carne (PERREIRA; ABREU; FERREIRA, 2016).  
337 Por ser habitante normal do intestino, humano e dos animais, o isolamento de *E. coli* sinaliza  
338 falhas higiênicas e contaminação por material fecal (FRANCO e LANDGRAF, 2008). A  
339 detecção de *E. coli*, portanto, desperta para a necessidade de que sejam melhoradas as condições  
340 de abate, transporte e manipulação do produto, de modo a impedir o contato da carne com  
341 material gastrointestinal.

342 Houve crescimento de *Staphylococcus* sp. em 100% (n=60) das amostras analisadas,  
343 com média de  $7,7 \times 10^4$  UFC/g e contagens que variaram de  $2,4 \times 10^2$  a  $8,2 \times 10^5$  UFC/g.  
344 Ferreira; Braga; Rossi (2013) relataram a presença de *Staphylococcus* sp. em 100% (40) de  
345 amostras de carne moída, na cidade de Uberlândia-MG, com contagens entre  $10^3$  a  $10^5$ . Já  
346 Marchi et al., (2012) verificaram contaminação por essas bactérias em 100% (20) das amostras  
347 de carne moída de Jaboticabal-SP, com média de  $9,2 \times 10^4$  UFC/g.

348 De acordo com o ICMSF (2000), alimentos com contagens de *Staphylococcus* acima de  
349  $10^3$  UFC/g, representam risco para a saúde pública e aqueles que apresentam contagens  
350 superiores a  $10^5$  UFC/g devem ser considerados alimentos de risco epidemiológico pela  
351 possível produção de enterotoxina. A presença de *Staphylococcus* sp. em carne moída é um  
352 indicativo de condições higiênicas inadequadas durante o processamento (FRANCO e  
353 LANDGRAF, 2008).

354 *Staphylococcus* coagulase positivo foram isolados em 98,33% (59/60) das amostras, e a  
 355 média de contagem foi de  $3,98 \times 10^3$  UFC/g, com contagem máxima de  $5 \times 10^4$  UFC/g. Marchi  
 356 et al. (2012) também encontraram contagem máxima da ordem de  $10^5$  UFC/g, mas num  
 357 percentual de 23,4% das amostras de carne moída analisadas. Em 20% (12/60) das amostras as  
 358 contagens excederam o limite estabelecido pela legislação, de modo a serem consideradas  
 359 inaceitáveis. O limite máximo de contagem de *Staphylococcus* coagulase positivo em carne  
 360 fracionada é de  $5 \times 10^3$  UFC/g (BRASIL, 2001).

361 **Tabela 4:** Distribuição, segundo faixa de contagens de *Staphylococcus* sp. e *Staphylococcus*  
 362 coagulase positivo em 60 amostras de carne moída bovina comercializada em supermercados,  
 363 açougues e feira de Bom Jesus-PI

Faixa de contagem (UFC/g)	Número de amostras (%)	
	<i>Staphylococcus</i> sp	<i>Staphylococcus</i> coagulase positivo
< 3,0	-	1 (1,66%)
$3 \text{ F } 10^2$	-	11 (18,33%)
$10^2 \text{ F } 10^3$	9 (15%)	18 (30%)
$10^3 \text{ F } 10^4$	17 (28,33%)	21 (25%)
$10^4 \text{ F } 10^5$	24 (40%)	9 (15%)
$>10^5$	10 (16,66%)	-

364  
 365 Nenhuma amostra apresentou contaminação por *Salmonella* sp. A RDC de 12 de janeiro  
 366 de 2001, estabelece como padrão de qualidade para a carne moída, a ausência de *Salmonella*  
 367 sp. em 25g da amostra (BRASIL, 2001). De igual modo, Luz et al. (2015) e Marchi et al. (2012)  
 368 também relataram a ausência de *Salmonella* sp. nas amostras de carne moída analisada. Já Dorta  
 369 et al. (2013), Souza et al. (2012) e Alves et al. (2010) detectaram *Salmonella* em 33,3%, 17% e  
 370 3,3% das amostras analisadas, respectivamente. *Salmonella* sp. exerce importante papel  
 371 epidemiológico como causadora de surtos de doenças transmitidas pelos alimentos e a produção

372 de alimentos livre dessa bactéria tem sido um desafio em todo o mundo (JAY, 2005,  
373 FERREIRA; SIMM, 2012).

374 Finalmente, considerando todas as análises realizadas, 96,66% (58/60) amostras estão  
375 em desacordo com a legislação, em pelo menos um parâmetro analisado. Ferreira; Braga; Rossi,  
376 (2013) acharam um percentual de 100% (40) de amostras de carne moída impróprias para  
377 consumo em Uberlândia-MG. O elevado percentual de amostras impróprias para consumo  
378 sinaliza as precárias condições da cadeia produtiva da carne em Bom Jesus-PI, que se  
379 caracteriza pela ausência de matadouros inspecionados, persistência do transporte de carcaças  
380 em carros abertos e higiene deficitária nos estabelecimentos de manipulação e venda do  
381 produto.

382 Diante do exposto, faz-se necessária a ação conjunta entre sociedade e poder público no  
383 intuito de buscar soluções que favoreçam o aperfeiçoamento da cadeia produtiva da carne.  
384 Neste sentido, Vidal- Martins et al. (2014) apontam que a implantação de Boas Práticas de  
385 Manipulação nos estabelecimentos contribui para a melhoria na qualidade da carne e para  
386 prevenir riscos à saúde dos consumidores.

## 387 CONCLUSÃO

388

389 Com base nos resultados obtidos nesta pesquisa, conclui-se que, de modo geral, a carne  
390 moída comercializada em Bom Jesus-PI apresenta alterações físico-químicas e elevada  
391 contaminação microbiana que comprometem a qualidade e o tempo de vida útil do produto,  
392 além de causar riscos à saúde pública.

## 393 REFERÊNCIAS

394 ALMEIDA, A. C.; SOUZA, R. M.; PINHO, L.; SOBRINHO, E. M.; SILVA, B. C. M.  
395 Determinação de perigos microbiológicos em carnes bovinas resfriadas provenientes de abates  
396 clandestinos e comércio ilegal. **Acta Veterinária Brasílica**, v. 4, n. 4, p. 278-285, 2010.

397 ALMEIDA, B. S.; MONTEIRO, W. A.; BEZERRA, F. Y. P. Perfil microbiológico da carne  
398 moída comercializada no município de Juazeiro do Norte, Ceará. **Revista Interfaces: Saúde,**  
399 **Humanas e Tecnologia**, v. 3, n. 1, 2015.

400 ALVES, V. C.; FILHO, F. C. C.; RIOS, F. P. B.; LIMA, C. E.; KELLER, K. M.; MURATORI,  
401 M. C. S. Coliformes e *salmonella* spp. em carne moída comercializada em Teresina-PI. **Revista**  
402 **Brasileira de Medicina veterinária**. v. 33, n. 1, p. 32-36, 2011.

403 BARROS, M. A. F.; NERO, L. A.; MONTEIRO, A. A.; BELOTI, V. Identification of main  
404 contamination points by hygiene indicator microorganisms in beef processing plants. **Ciência**  
405 **e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 4, p. 856-862, 2007.

406 BONFADA, D. H.; KINDLEIN L.; VILARINHO R. C.; BERGMANN G. P. Presença de  
407 sulfito de sódio e sua influência nas características físico-químicas e microbiológicas de carnes  
408 bovinas resfriadas. **Acta Scientia e Veterinariae**. v. 40, n. 2, p. 1036, 2012.

409 BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária-ANVISA. Resolução RDC nº12, de 02 de  
410 janeiro de 2001. **Aprova o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para**  
411 **alimentos**. Diário Oficial da União. 07 de 10 janeiro de 2001. Brasília, DF.

412 BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução normativa nº 20,**  
413 **de 21 de julho de 1999. Métodos Analíticos Físico-Químicos, para Controle de Produtos**  
414 **Cárneos e seus Ingredientes - Sal e Salmoura- SDA**. Diário Oficial da União. Brasília, DF,  
415 09 de setembro de 1999.

416 BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 83, de  
417 21 de novembro de 2003. **Aprova os regulamentos técnicos de identidade e qualidade de**  
418 **carne bovina em conserva e carne moída de bovino**. Diário Oficial da União. Brasília, DF,  
419 24 de novembro de 2003.

420 BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório  
421 Nacional de Referência Animal (LANARA). Portaria nº 01, de 07 de outubro de 1981. **Métodos**

422 **Analíticos Oficiais para Controle de Produtos de Origem Animal e seus Ingredientes:**  
423 **métodos físicos e químicos.** Diário Oficial da União. Brasília, DF, 13 de outubro de 1981.

424 CONCEIÇÃO, F. V. E.; GONÇALVES, E. C. B. A. Qualidade físico-química de mortadelas e  
425 carnes moídas e conhecimento dos consumidores na conservação destes produtos. **Ciência e**  
426 **Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 29, n. 2, p. 283-290, 2009.

427 COSTA, L. C. **Avaliação higiênico-sanitário e físico-química da carne moída *in natura***  
428 **comercializada em Campos Mourão-PR.** 2014. 36p. Trabalho de conclusão de curso. (Curso  
429 de tecnologia em alimentos). Departamento de alimentos-Universidade Tecnológica Federal do  
430 Paraná-UTFPR, *Campus* Mourão, Paraná.

431 DAMER, J. R. S. da.; DILL, R. E.; GUSMÃO, A. A.; MORESCO, T. R. Contaminação de  
432 carne bovina moída por *Escherichia coli* e *Salmonella* sp, **Revista Contexto & Saúde.** v.14, n.  
433 26, p. 20-27, 2014.

434 ERDEM, A. K.; SAGLAM, D.; OZER.D.; OZCELIK, E. Microbiological Quality of Minced  
435 Meat Samples Marketed in Istanbul. **Van Veterinary Journal**, v. 25, n. 3, p.67-70, 2014.

436 FENG, P.; WEGANT, S.D.; JINNEMAN, K. **Diarrheagenic Escherichia coli.**  
437 **Bacteriological Analytical Manual.** Disponível em:  
438 <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm070080.htm>. U.S.  
439 Food and Drug Administration FDA/CFSAN 2011. Disponível em:<  
440 <https://www.fda.gov/food/foodscienceresearch/laboratorymethods/ucm2006949.htm>>. Acesso  
441 em: 06 de abr 2017.

442 FERREIRA, R; SIMM, E. M. Análise microbiológica da carne moída de um açougue da região  
443 central do município de Pará de Minas-MG. **SynThesis Revista Digital FAPAM.** n. 3, p. 37-  
444 61, 2012.

445 FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos.** São Paulo: Atheneu,  
446 2008. 182 p.

447 HANGUI, S. A. R.; FERREIRA, A. F.; DOURADO, A. T. S.; MARTINS, J. D.; VARGEM,  
448 D. S.; SILVA, J. R. Análise microbiológica da carne bovina moída comercializada na cidade  
449 de Anápolis, Goiás. **Revista Eletrônica de Farmácia**. v. 12, n. 2, p. 30-38, 2015.

450 INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4. ed.  
451 São Paulo: IMESP, 2008. p.1020.

452 INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATION FOR  
453 FOOD-ICMSF. **Microorganisms in food: Their significance and methods of enumeration**. 2.  
454 ed. Toronto: University Press, 2000. 439p.

455 INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR  
456 FOODS-ICMSF. **Microorganisms in foods 2: Sampling for microbiological analysis: Principles and specific applications** 2.ed. University Toronto Press, 1986. 131p.

457

458 JAY, J. M. **Microbiologia dos alimentos**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 677p.

459

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

460 LEVY, R. B. SOUZA, A. B. PEREIRA, R. A. YOKOO, E. A. SICHIERI, R. Alimentos mais  
461 consumidos no Brasil: Inquérito nacional de alimentação 2008-2009. **Revista de Saúde**  
462 **Pública**, v. 47, n. 1, p. 1-9, 2013.

463 LIVONI, J. F. L. S. BEGOTTI, I. L. MERLINI, L. S. Qualidade higiênico-sanitária da carne  
464 bovina moída comercializada no município de Umuarama-PR. **Enciclopédia biosfera, Centro**  
465 **Científico Conhecer**, Goiânia, v. 9, n. 16, p.1882, 2013.

466 LUNDGREN, P. U.; SILVA, J. A.; MACIEL, J. F.; FERNANDES, T. M. Perfil da qualidade  
467 higiênico-sanitária da carne bovina comercializada em feiras livres e mercados públicos em  
468 João Pessoa-PB. **Alimento e Nutrição**. v. 20, n. 1, p. 113-119, 2009.

469 LUZ, J. R. D. ARAÚJO, J. H. L. BATISTA, D. SILVA, T. C. ARAÚJO, L. B. A. CARVALHO,  
470 C. T. Qualidade microbiológica da carne moída comercializada em Natal, Rio Grande do Norte.  
471 **Revista de Nutrição e Vigilância em Saúde**, v. 2, n 2, p. 86-90, 2015.

472 MANTILLA, S. P. S. *Listeria spp.* em carne bovina pré-moída: isolamento, sorologia,  
473 sensibilidade das cepas aos antimicrobianos e relação com a presença de sulfito de sódio.  
474 Dissertação de Mestrado. Universidade Federal Fluminense, Niterói-RJ. 114p. 2006.

475 MARCHI, P. G. F. **Estudo Comparativo do Estado de Conservação de Carne Moída**  
476 **através de Métodos Microbiológicos e Físico-Químicos.** 2006. 70 f. Dissertação (Mestrado  
477 em Medicina Veterinária (Medicina Veterinária Preventiva) - Faculdade de Ciências Agrárias  
478 e Veterinárias – Unesp, Campus de Jaboticabal, São Paulo.

479 MARCHI, P. G. F.; ROSSI JUNIOR, O. D.; CERESER, N. D.; SOUZA, V.; LAO, N. C. M.  
480 R.; FARIA, A. A. Avaliação microbiológica e físico-química da carne bovina moída  
481 comercializada em supermercado e açougues de Jaboticabal-SP. **Revista Eletrônica da**  
482 **Univar**, v. 1, n. 7, 2012.

483 MESQUITA, M. O. de.; VALENTE, T. P.; ZIMMERMANN, A.; FRIES, L.L.M.; TERRA, N.  
484 N. Qualidade físico-químico da carne bovina *in natura* aprovada na recepção de restaurante  
485 industrial. **Revista vigilância em debate**, v. 2, n. 3, p.103-108, 2014.

486 NELSON, D. L.; COX, M. M. Lehninger: **principles of biochemistry.** 5 ed New York: W. H.  
487 Freeman and company, 2008, 1294p.

488 OLIVEIRA, M. M. M. BRUGNERA, D. F.; MENDONÇA, A. T.; PICOLLI, R. H. Condições  
489 higiênicas-sanitárias de máquinas de moer carne, mãos de manipuladores e qualidade  
490 microbiológicas da carne moída. **Ciência e Agrotecnologia.** v. 32, n. 6, p. 1893-1898, 2008.

491 OLIVO, R.; OLIVO, N. **O mundo das carnes.** 3. ed. Criciúma: Varela, 2006.

492 PEREIRA, C. da. S.; ABREU, R. dos. S.; FERREIRA.E.G. Pesquisa de *Escherichia coli* no  
493 churrasquinho de carne comercializado no centro de Macapá. **Revista eletrônica Estácio**  
494 **Saúde.** Macapá. v. 5, n. 2, 2016.

495 ROSINA, A.; MONEGO, F. Avaliação microbiológica da carne bovina moída nas redes de  
496 supermercados de canoinhas-SC. **Revista Interdisciplinar.** v.2, n.2, p.55-64, 2013.

497 SAMPAIO, I. B. M. **Estatística Aplicada à Experimentação Animal**. FEP-MVZ, Belo  
498 Horizonte, 2002. 265p.

499 SHIMOKOMAKI, M.; OLIVO, R. Suplementação de vitamina e melhora a qualidade de carnes  
500 e derivados. In: SHIMOKOMAKI, M. et al. (Ed.). **Atualidades em ciência e tecnologia de**  
501 **carnes**. Varela, 2006. cap. 11, p. 115-121.

502 SILVA JR, E. A. **Manual de controle higiênico-sanitário em serviço de alimentação**. 6.ed.  
503 São Paulo. Varela, 2007. 624 p.

504 SILVA JUNIOR, E. **Manual de controle higiênico-sanitário em serviços de alimentação**. 6.  
505 ed. São Paulo: Varela; 2013.

506 SILVA, C. A, SOUZA, E. L, SOUZA, C. P. Estudo da qualidade sanitária da carne moída  
507 comercializada na cidade de João Pessoa-PB. **Revista Higiene Alimentar**. v. 18, n.121, p. 90-  
508 94, 2004.

509 SILVA, C.; MONTEIRO, M.L.G.; RIBEIRO, R.O.R.; GUIMARÃES, C.F.M.; MANO, S.B.;  
510 SILVA, J. S.; FURTADO, S. C. Análise físico-química da carne moída comercializada na zona  
511 sul de Manaus-AM. **Revista Científica da Fametro**, v. 1, n. 1, p. 11, 2016.

512 SOUZA, T. M. NETO, A. C.; HERNANDES, T.; SOUTO, P. C. S. Microrganismos  
513 patogênicos e indicadores de condições higiênico-sanitária em carne moída comercializada na  
514 cidade de Barra do Garças, MT. **Acta Veterinária Brasília**, v. 6, n. 2, p. 124-130, 2012.

515 SPECK, M. L. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4.  
516 ed. APHA. V.51, n. 5, p. 701, 2001.

517 VELHO, A. L. M. C. S.; ABRANTES, M. R.; MEDEIROS, J. M. S.; AGUIAR, K. C. S.;  
518 SOUSA, E. S.; SOARES, K. M. P.; SILVA, J. B. A. Avaliação qualitativa da carne bovina in  
519 natura comercializada em Mossoró-RN. **Acta Veterinária Brasília**, v. 9, n. 3, p. 212-217,  
520 2015.



521 VIDAL-MARTINS, A. M. C.; BÜRGER. K. P.; AGUILAR, C. E. G.; GONÇALVES, A. C.  
522 S.; GRISÓLIO, A. P R.; ROSSI, G. A. M. Implantação e avaliação do programa de boas  
523 práticas de manipulação em açougues do Município de São José do Rio Preto-SP. **Revista**  
524 **Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**. v. 8, n. 2, p. 73-86, 2014.

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32

**CAPÍTULO 3. Resistência antimicrobiana de *Escherichia coli* isoladas de carne moída bovina comercializada em Bom Jesus-PI**

Elaborado de acordo com as normas da revista Acta Veterinária Brasílica  
(ISSN 1981-5484)  
(<http://periodicos.ufersa.edu.br/revistas/index.php/acta>)

33 **RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA DE *ESCHERICHIA COLI* ISOLADAS DE CARNE**  
34 **MOÍDA BOVINA COMERCIALIZADA EM BOM JESUS – PI**

35  
36 [ Antibiotic-resistance of *Escherichia coli* isolated from ground beef sold in Bom Jesus –  
37 PI]

38 **Maria Santos Oliveira<sup>1\*</sup>, Antonio Augusto Nascimento Machado Júnior<sup>2</sup>**  
39

40  
41 <sup>(1)</sup> Mestranda em Zootecnia, *Campus* Profa. Cinobelina Elvas, Universidade Federal do  
42 Piauí, Bom Jesus, Piauí, Brasil.

43 <sup>(2)</sup> Professor Adjunto, Curso de Medicina Veterinária, *Campus* Profa. Cinobelina Elvas,  
44 Universidade Federal do Piauí, Bom Jesus-PI, Brasil.  
45

46  
47 **Resumo-** Objetivou-se analisar a resistência antibacteriana de *E. coli* isoladas da carne  
48 moída comercializada em supermercados, açougues e feiras de Bom Jesus – PI. Foram  
49 analisadas 60 amostras de carne previamente moída. O isolamento de *E. coli* iniciou-se  
50 seguindo a técnica de tubos múltiplos. A partir dos tubos positivos, realizaram-se  
51 inoculações em estrias, em placas contendo ágar EMB, para observação das características  
52 das colônias. As colônias típicas e com coloração verde metálica foram investigadas e  
53 confirmadas por meio de provas bioquímicas. As cepas positivas para *E. coli* foram  
54 submetidas ao teste de sensibilidade antimicrobiana, por meio da técnica de difusão em  
55 discos. Houve crescimento de cepas de *E. coli* em 26 amostras (43,33%). Destas, 15,39%  
56 (4/26) das cepas foram sensíveis a todos os antimicrobianos testados, enquanto 22  
57 (84,61%) apresentaram alguma resistência. Dentre os fármacos utilizados, a  
58 nitrofurantoína apresentou a maior frequência de resistência e de resistência  
59 intermediária, com percentuais de 34,61% (9/26). Os resultados mostraram que a carne  
60 moída possui potencial para veicular *E. coli* resistentes aos principais antimicrobianos  
61 utilizados na terapêutica de infecções.  
62

63 **Palavras-Chave:** antibióticos; carne bovina; coliformes; enterobactérias; sensibilidade.  
64

65 **ABSTRACT**  
66

67 The objective of this study was to analyze the antibacterial resistance of *E. coli* isolated  
68 from ground beef sold in supermarkets, butchers and fairs of Bom Jesus - PI. Samples of  
69 ground beef (n=60) were analyzed for the isolation of *Escgerichia coli*. Initially, the  
70 technique of multiple tubes was perfomed. Seed on striations on EMB agar plates were

71 preformed from the positive tubes, to observe the characteristics of the colonies. The  
72 typical colonies with metallic green color were investigated and confirmed by means of  
73 biochemical tests. The strains positive for *E. coli* were submitted to the antimicrobial  
74 susceptibility test, using the disc diffusion technique. There was growth of *E. coli* strains  
75 in 26 samples (43.33%). Of these, 15.39% (4/26) of the strains were sensitive to all  
76 antimicrobials tested, while 22 (84.61%) presented some resistance. Among the drugs  
77 used, nitrofurantoin had the highest resistance and intermediate resistance frequency,  
78 with percentages of 34.61% (9/26). The results showed that the ground beef sold has the  
79 potential to vehicular resistant *E. coli* to antimicrobials used in the treatment of infections.

80

81 **Keywords:** antibiotics; beef; coliforms; enterobacteria; sensitivity

82

### 83 INTRODUÇÃO

84

85 A carne moída é um produto de elevada aceitação pelos consumidores, devido ao preço,  
86 praticidade e rapidez no preparo (LIVONI; BEGOTTI; MERLINI, 2013). A elevada atividade  
87 de água somada à grande disponibilidade de nutrientes, a tornam susceptível a  
88 multiplicação microbiana, de modo que a exposição a agentes contaminantes, durante seu  
89 processamento ou armazenamento sob temperaturas inadequadas, podem favorecer a  
90 veiculação de patógenos (FERREIRA; SIMM, 2012; MARCHI *et al.*, 2012; LUZ *et al.*, 2015).

91

92 A microbiota comumente encontrada na carne moída é composta de microrganismos  
93 deteriorantes e patogênicos (JAY, 2005). Os primeiros normalmente produzem alterações  
94 sensoriais, perceptíveis por mudança de odor, sabor, textura e aspectos visuais gerais. A  
95 ação dos deteriorantes pode alterar as propriedades químicas, além de tornar o produto  
96 repugnante e impróprio para o consumo, mas não necessariamente nocivo à saúde. Já os  
97 microrganismos patogênicos, embora não provoquem mudanças perceptíveis no  
98 produto, podem causar infecções e/ou toxiinfecções nos consumidores (JAY, 2005;  
99 FRANCO e LANDGRAF, 2008).

100

101 *Escherichia coli* é um dos principais microrganismos contaminantes da carne. Apesar de  
102 habitarem comensalmente o intestino de animais de sangue quente, há sorotipos  
103 virulentos, capazes de produzir doença diarreica e complicações sistêmicas severas.  
104 Conforme aspectos epidemiológicos e de manifestação clínica, as linhagens de *E. coli* são

105 agrupadas em seis classes distintas: EPEC (*E. coli* enterotogênica); EIEC (*E. coli*  
106 enteroinvasora); ETEC (*E. coli* enterotoxigênica); EHEC (*E. coli* enterohemorrágica);  
107 EAEC (*E. coli* enteroagregativa); STEC (*E. coli* a produtora de toxina de Shiga) (PEREIRA;  
108 ABREU; FERREIRA, 2016).

109

110 Adicionalmente, vários trabalhos têm relatado a ocorrência de resistência e  
111 multirresistência de *E. coli* aos antimicrobianos (GUIMARÃES et al., 2015; WELKER et al.,  
112 2010). Esta característica torna a terapia mais difícil e demorada, além de aumentar os  
113 riscos de óbito para os pacientes acometidos por essas infecções (NICOLINI et al., 2008).

114

115 A resistência a um ou mais antibióticos pode ser transferida de uma bactéria para outra  
116 (ADESIJI et al., 2011). O uso indiscriminado de antibióticos na terapia de doenças favorece  
117 a formação de resistência antimicrobiana. Neste sentido, a Anvisa, por meio da RDC Nº20,  
118 de 5 de maio de 2011 estabelece normas rígidas que controlam a venda de antibióticos,  
119 mediante retenção de receita (ANVISA, 2011). Já a venda de antibióticos de uso  
120 veterinário, é acessível à produtores e sociedade em geral sem necessidade de retenção  
121 de receita e sem restrições. Estudos têm apontado que o uso dessas drogas na criação de  
122 animais, seja na terapêutica ou como promotores de crescimento tem exercido  
123 importante papel no surgimento de cepas resistentes e multirresistentes (VAN;  
124 MOUTAFIS; COLE, 2007).

125

126 Diante do exposto, objetivou-se analisar o perfil de resistência de *Escherichia coli* isoladas  
127 da carne moída bovina comercializada em supermercados, açougues e feiras de Bom Jesus  
128 – PI.

129

## 130 MATERIAL E MÉTODOS

131

132 Foram adquiridas, 60 amostras de carne moída bovina, à venda em supermercados,  
133 açougues e na feira livre de Bom Jesus – PI, entre os meses de junho e julho de 2016.  
134 As amostras foram mantidas na embalagem de compra e encaminhadas, em caixa  
135 isotérmica com gelo, ao laboratório de Microbiologia de Alimentos, da Universidade  
136 Federal do Piauí, *Campus* Profa. Cinobelina Elvas, situado no mesmo município.

137

138 Inicialmente, alíquotas de diluições  $10^{-1}$  a  $10^{-4}$  foram inoculadas em séries de tubos  
139 de caldo verde brilhante bile lactose a 2%, e incubadas a 35°C por 24 a 48h. Alçadas  
140 dos tubos positivos foram passadas para tubos contendo caldo *Escherichia coli* e  
141 estes foram incubados a 45°C em banho maria, por 24 a 48h (FENG et al. 2002). A  
142 partir dos tubos positivos para *Escherichia Coli*, realizou-se plaqueamento em  
143 estrias, em placas contendo o meio Agar Eosina Azul de Metileno (EMB), para  
144 observação das características das colônias. As colônias típicas e com coloração  
145 verde metálica foram investigadas e confirmadas por meio das provas bioquímicas  
146 de indol (SIM), vermelho de metila (VM), Voges Proskauer (VP) e Ágar Citrato de  
147 Simmons (método denominado IMViC) (FENG et al., 2011). Após confirmação, as  
148 cepas foram repicadas em Ágar Triptose Soja e incubada por 24 horas, logo após,  
149 foram transferidas quatro ou cinco colônias para tubos contendo solução salina  
150 0,85% para obter as suspensões, incubando-se até atingir uma densidade  
151 equivalente ao padrão 0,5 da Escala de MacFarland ( $1,6 \times 10^8$  bactérias mL<sup>-1</sup>).

152

153 O teste de sensibilidade seguiu a técnica de difusão em disco, em placas de Petri  
154 contendo meio Mueller-Hinton, conforme os procedimentos descritos por BAUER et  
155 al. (1966). Utilizaram-se os antimicrobianos: ceftriaxona (30µg), ciprofloxacina  
156 (5µg), ampicilina+ sulbactam (10/10 µg), cloranfenicol (30µg), sulfazotrim (25µg),  
157 cefoxitina (30µg), tetraciclina (30µg), norfloxacin (10µg), nitrofurantoína (300 µg),  
158 gentamicina (10µg) e ácido nalidíxico (10µg). Após 24h de incubação a 37°C, foi  
159 realizada a leitura dos halos de inibição para a definição de resistentes (cepas que  
160 não foram inibidas pelas as concentrações dos agente antimicrobianos),  
161 intermediárias (cepas que necessitam de dose mais elevadas para serem eficiente  
162 no tratamento) e sensíveis (a dosagem é eficiente para o tratamento), obtida de

163 forma comparativa com valores determinados pela CLSI (2013), e foram calculadas  
164 as frequências de cepas resistentes, intermediárias e sensíveis aos fármacos  
165 utilizados.

## 166 **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

167

168 Do total de amostras de carne moída analisada (n=60), houve crescimento de  
169 *Escherichia coli*, em 43% (26). Das 26 cepas isoladas, 22 (84,61%) apresentaram  
170 resistência ou resistência intermediária, e quatro (15,39%) foram sensíveis a todos  
171 os antimicrobianos testados (Tabela 1). Resistência e resistência intermediária  
172 foram observadas, respectivamente, em 46,15% (12/26) e 69,23% (18/26). A  
173 presença de resistência e resistência intermediária na mesma cepa ocorreu em  
174 46,15% (12/26) das amostras analisadas.

175

176 **Tabela 1:** Distribuição segundo o perfil de resistência de cepas *E. coli* isoladas a partir  
177 da carne moída comercializada em Bom Jesus-PI

<b>Perfil de resistência</b>	<b>N*</b>	<b>%</b>
Sensível	4	15
Resistência intermediária a um antimicrobiano	15	57,69
Resistência intermediária a dois antimicrobianos	2	7,69
Resistência intermediária a três ou mais antimicrobianos	1	3,84
Resistência a um antimicrobiano	11	42,30
Resistência a dois antimicrobianos	1	3,84

178 \* Número de cepas resistentes ou sensíveis

179

180 Dentre os fármacos testados, a nitrofurantoína apresentou as maiores frequências  
181 de resistência e de resistência intermediária, ambas com percentuais de 34,61%  
182 (9/26). De igual modo, Volcão et al. (2016), relataram resistência ao fármaco em  
183 33% das cepas oriundas de carne moída.

184

185 Nitrofurantoína é uma droga indicada para o tratamento de infecções urinárias e  
186 apresenta mecanismos distintos de ação, que resultam na inibição do metabolismo  
187 aeróbio e da síntese de proteínas, DNA, RNA e parede celular bacteriana (Mckinnell  
188 et al., 2011). A droga é integrante da lista de medicamentos essenciais da

189 Organização Mundial de Saúde, de modo que, a ocorrência de *E. coli* resistentes ao  
190 fármaco deve ser vista com preocupação, pelos órgãos de saúde (BRASIL, 2014).

191

192 Resistência e resistência intermediária a ampicilina + sulbactam foram constatadas  
193 em 7,69% (2/26). O mesmo percentual (7,69%) de cepas apresentou resistência  
194 intermediária a cefoxitina. Todas as cepas foram sensíveis à ceftriaxona. Fernández  
195 et al. (2013) relataram para cepas de *E. coli* isoladas da carne moída, um percentual  
196 de resistência a ampicilina de 75%. Já Mantilla; Franco (2012), relataram a  
197 ocorrência de resistência a cefoxitina em 94,69% das cepas analisadas. Assim como  
198 o presente estudo, Santo; Rodolpho; Marin, (2007), constataram sensibilidade a  
199 ceftriaxona em 100% das cepas isoladas. Ampicilina, Cefoxitina, Ceftriaxona, são  
200 antibióticos do grupo dos beta-lactâmicos, por apresentarem um anel beta-  
201 lactâmico, em sua estrutura química considerado essencial para sua atividade  
202 antibacteriana (SUAREZ; GUDIOL, 2009).

203

204 A resistência a esses antibióticos decorre de um mecanismo desenvolvido pelas  
205 bactérias, que passam a produzir a enzima beta-lactamase (Chroma e Kolar, 2010).  
206 É preocupante o fato de que, mesmo com a utilização do sulbactam, ainda se  
207 verificou resistência a ampicilina. A associação desses fármacos com sulbactam, o  
208 qual contém um potente inibidor de beta-lactamase, tem a finalidade de reduzir a  
209 resistência (HAUSER, 2008).

210

211 A norfloxacin e o ácido nalidíxico sofreram resistência intermediária em 19,23%  
212 (5/26) e 7,69% (2/26) das cepas, respectivamente. Ciprofloxacina, uma quinolona  
213 de terceira geração, não sofreu resistência em nenhuma das amostras isoladas.  
214 Volcão et al. (2016) relataram resistência ao ácido nalidíxico em 11% das *E. coli*  
215 oriundas de carne moída. Por sua vez, Abdel-Rhman et al. (2015), analisando carne,  
216 carne moída e hambúrguer no Egito encontraram 40% de resistência de *E. coli* a  
217 norfloxacin, mas, diferentemente do presente estudo, encontraram 48% de  
218 resistência a ciprofloxacina. Ácido nalidíxico e norfloxacin são quinolonas de  
219 primeira e segunda geração, respectivamente (LOPES, 2004).

220



221 A classificação de antibióticos em gerações leva em conta suas características  
222 antimicrobianas e propriedades farmacocinéticas e farmacodinâmicas, e não  
223 necessariamente a ordem cronológica de utilização comercial (SPINOSA;  
224 BERNARDI, 2011). Da mesma maneira, a formação de resistência também não segue  
225 necessariamente a ordem cronológica de comercialização. Isso ocorre devido às  
226 diferenças regionais do uso dos antimicrobianos, que desencadeiam resistência  
227 diferenciada, conforme a utilização maior ou menor de cada droga (BRAOIOS et al.,  
228 2013). Assim, a norfloxacin, por ser amplamente utilizada em medicina veterinária,  
229 pode sofrer maior resistência que drogas mais antigas.

230

231 Tetraciclina apresentou frequências de resistência e resistência intermediária de  
232 7,69% (2/26) e 3,84% (1/26), respectivamente. Arslan; Eyi, (2011) também  
233 relataram a presença de *E. coli* resistente a tetraciclina em carne. A resistência  
234 bacteriana a tetraciclina está relacionada à diminuição da quantidade de droga no  
235 interior da célula bacteriana e pode ser cromossômica, por plasmídeos ou por  
236 transposons (THAKER; SPONOGIANNOPOULOS; WRITGHT,2010). O uso veterinário  
237 de tetraciclina tem sido referenciado como um dos principais responsáveis pela  
238 formação de resistência (ANVISA, 2007).

239

240 Uma cepa 3,86% (1/26) apresentou resistência intermediária a cloranfenicol.  
241 Mantilla; Franco (2012), observaram resistência a esse fármaco em 59,2% das cepas  
242 de *E. coli* obtidas da carne. Alcântara et al. (2012) também isolaram *E. coli*  
243 resistentes a cloranfenicol, a partir de produtos cárneos nas cidades de Jales e  
244 Fernandópolis, São Paulo; de igual modo, Abdel-Rhman et al. (2015) relataram  
245 cepas de *E. coli* resistentes ao cloranfenicol com um percentual de 36% em produtos  
246 cárneos no Egito.

247

248 A Food and Drug Administration (FDA) não recomenda a utilização do cloranfenicol  
249 em animais de produção (FDA, 2010). No Brasil, o uso do cloranfenicol em animais  
250 de produção também é proibido, devido ao potencial de toxicidade residual nos  
251 alimentos destinados ao consumo humano, conforme Instrução Normativa nº 9, de  
252 27 de junho de 2003 (BRASIL, 2003).

253

254 Cloranfenicol exerce sua atividade bacteriostática, ao ligar-se à subunidade  
255 ribossômica 50S, bloqueando o alongamento do peptídeo e a síntese proteica  
256 bacteriana, mas tem como efeito colateral, a inibição da síntese proteica em células  
257 da medula óssea, de modo que em indivíduos predisponentes, pode resultar em  
258 anemia aplástica (MURRAY; ROSENTHAL; PLALLER, 2014).

259

260 O mecanismo de resistência bacteriana ao cloranfenicol baseia-se na produção de  
261 acetiltransferase, enzima codificada por plasmídeos, a qual modifica a droga  
262 tornando-a incapaz de se ligar à subunidade 50S (MURRAY; ROSENTHAL; PLALLER,  
263 2014). A resistência a cloranfenicol verificada neste estudo merece atenção, pois  
264 sinaliza uma provável utilização indevida do fármaco.

265

266 Constatou-se resistência intermediária a gentamicina em 7,69% (2/26) das cepas.  
267 Percentuais mais elevados de resistência a gentamicina foram encontrados por  
268 Abdel-Rhman, et al. (2015), com 52% das cepas isoladas da carne moída; e por  
269 Adzitey (2015), com 75,56% das *E. coli* isoladas da carne bovina no município de  
270 Techiman, Gana. O mecanismo de ação da gentamicina consiste na inibição da  
271 síntese de proteínas, ao ligar-se irreversivelmente à subunidade 30S do ribossomo  
272 bacteriano (CHAMBERS, 2010). A resistência a droga ocorre por modificação dos  
273 sítios de ligação no ribossomo, alteração na permeabilidade e transformação  
274 enzimática do fármaco, sendo este último o mecanismo mais comum (MURRAY;  
275 ROSENTHAL; PLALLER, 2014). A gentamicina é um aminoglicosídeo utilizado em  
276 infecções uterinas e do trato digestivo dos animais (BRUNTON, et al. 2012). O  
277 surgimento de cepas resistentes pode estar relacionado ao seu uso terapêutico na  
278 pecuária.

279

280 Além dos problemas causados pelo surgimento de cepas resistentes e  
281 multirresistentes (MELO; DUARTE; SOARES, 2012), o uso indiscriminado de  
282 antibióticos nos sistemas de criação, pode trazer outros graves danos, caso não  
283 sejam respeitados os períodos de carência, prazo para que ocorra a eliminação do  
284 fármaco do organismo, após a última administração do medicamento (SALES;  
285 ROCHA; BRESSAN, 2015).

286

287 Por esse motivo, a legislação brasileira estabelece prazos específicos para o abate  
288 após o uso desses fármacos (BRASIL, 1999). O consumo de carne com resíduo de  
289 antibióticos representa risco ao consumidor devido toxicidade ou alteração da  
290 microbiota natural (FAO, 2009).

291

292 Por fim, o isolamento de *E. coli* resistentes e multirresistentes a partir da carne,  
293 desperta para a necessidade de se discutirem políticas públicas voltadas para o  
294 controle do uso de antibióticos, especialmente no campo, como forma de reduzir a  
295 formação de resistência.

296

## 297 **CONCLUSÃO**

298

299 Conclui-se que a carne moída bovina tem microrganismos resistentes aos  
300 antimicrobianos comumente utilizados na terapêutica de infecções. Sugere-se a  
301 intensificação dos cuidados preventivos à formação de resistência, tais como o  
302 controle do uso de antibióticos na pecuária.

303

## 304 **REFERÊNCIAS**

305

306 ABDEL-RHMAN, S.H et al. Prevalence of Toxins and Antimicrobial Resistance among  
307 *E. coli* Isolated from Meat. **Advances in Microbiology**. v. 5, n. 11, p. 737-747, 2015.

308

309 ADESIJI, Y. O. et al. Prevalence of Arcobacter, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*  
310 and *Salmonella* species n retail raw chicken, pork, beef and goat meat in Osogo,  
311 Nigéria. **Sierra Leone Journal of Biomedical Research**, v. 3, n. 1, p. 6-12, 2011.

312

313 ADZITEY, F. Antibiotic Resistance of *Escherichia coli* Isolated from Beef and its  
314 Related Samples in Techiman Municipality of Ghana. **Asian Journal of Animal**  
315 **Sciences**, v.9, p.233-240, 2015.

316

317 ALCÂNTARA, M.A.; GATTO, H.R.I.; KOZUSNY-ANDREANI, D.I. Ocorrência e perfil de  
318 suscetibilidade aos antimicrobianos de microrganismos isolados de cortes de carne  
319 bovina. **Veterinária em foco**. v. 10, n. 1, p. 80-92, 2012.

320

321 ARSLAN, S.; EYI, A. Antimicrobial resistance and ESBL prevalence in *Escherichia coli*  
322 from retail meats. **Journal of Food Safety**, v. 31, n. 2, p. 262-267, 2011.  
323

324 BAUER, A.W. et al. Antibiotics susceptibility testing by a standardized single disk  
325 method. **American Journal of Clinical Pathology**. v. 45, p. 493-496, 1966.  
326

327 BRAOIOS, A. et al. Uso de antimicrobianos pela população da cidade de Jataí (GO),  
328 Brasil. **Ciência & Saúde Coletiva**. Rio de Janeiro, v. 18, n. 10, 2013.  
329

330 BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa  
331 nº 42, de 20 de dezembro de 1999. **Altera o Plano Nacional de Controle de**  
332 **Resíduos em Produtos de Origem Animal - PNCR e os Programas de Controle**  
333 **de Resíduos em Carne - PCRC, Mel - PCRM, Leite - PCRL e Pescado - PCRP.**  
334 Diário Oficial da União, Brasília, 22 de dezembro de 1999.  
335

336 BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução  
337 RDC nº 20, de 5 de maio de 2011. **Dispõe sobre o controle de medicamentos à**  
338 **base de substâncias classificadas como antimicrobianos, de uso sob**  
339 **prescrição, isoladas ou em associação:** Diário Oficial da União, 9 de maio 2011.  
340

341 BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância  
342 Sanitária. **Antimicrobianos-Bases teóricas e Uso Clínico**. Disponível em:  
343 <[http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/controlere/rede\\_rm/cursos/rm\\_controlere](http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/controlere/rede_rm/cursos/rm_controlere/opas_web/modulo1/conceitos.htm)  
344 [/opas\\_web/modulo1/conceitos.htm](http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/controlere/rede_rm/cursos/rm_controlere/opas_web/modulo1/conceitos.htm)>. Acesso em: 23 mar.2017.  
345

346 BRASIL. Ministério da Saúde. **Relação Nacional de Medicamentos Essenciais-**  
347 **RENAME 2013.** Disponível em:  
348 [http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2014/julho/09/livro-rename-](http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2014/julho/09/livro-rename-2013-atualizado.pdf)  
349 [2013-atualizado.pdf](http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2014/julho/09/livro-rename-2013-atualizado.pdf). Acesso em:14 mar.2017.

350 BRUNTON, L. L.; CHABENER. B.A.; KNONLLMANM. B. C. Goodman & Gilman: **As**  
351 **Bases Farmacológicas da Terapêutica**. 12 ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill, 2012.  
352 2097 p.  
353

354 CHAMBER, H.F. **Aminoglicosídeos e espectinomicina**. In: KATZUNG, B.G.  
355 Farmacologia Básica e Clínica. 10. ed. Porto Alegre: AMGH, 2010. 681-687p.

356 CHROMA, M., Kolar, M. Genetic methods for detection of antibiotic resistance: focus  
357 on extended-spectrum  $\beta$ -lactamases. **Biomedical Papers of the Medical Faculty**  
358 **of the University Palacky, Olomouc, Czechoslovakia**. v. 154, n. 4, p. 289-96, 2010.

359

360 CLSI. Publication M100-S23. Suggested Grouping of US-FDA Approved  
361 Antimicrobial Agents That Should Be Considered for Routine Testing and Reporting  
362 on Nonfastidious. **Organisms by Clinical Laboratories**, 2013.

363

364 FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Principles and  
365 Methods for the Risk Assessment of Chemicals in Food. Roma, 2009. Capítulo 8:  
366 **Maximum residue limits for pesticides and veterinary drugs**. Disponível em:<  
367 [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44065/11/WHO\\_EHC\\_240\\_11\\_eng\\_Chapter8.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44065/11/WHO_EHC_240_11_eng_Chapter8.pdf)>. Acesso em: 16 mar. 2017.

368

369

370 FENG, P. et al. **Bacteriological Analytical Manual: Diarrheagenic *Escherichia***  
371 ***coli***. Disponível em: <  
372 [http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm07008](http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm070080.htm)  
373 [0.htm](http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm070080.htm)>. Acesso em: 29 de ago. 2016.

374

375 FENG, P. et al. **Bacteriological Analytical Manual: Enumeration of *Escherichia***  
376 ***coli* and the Coliform Bacteria**. Disponível em:  
377 <[http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm064948](http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm064948.htm).  
378 [htm](http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm064948.htm)>. Acesso em: 28 de jul. 2016.

379

380 FERNÁNDEZ, et al. Antimicrobial Resistance in *E. coli* Isolates from Conventionally  
381 and Organically Reared Poultry: A Comparison of Agar Disc Diffusion and Sensi Test  
382 Gram-Negative Methods. **Food Control**, v. 30, p. 227-234, 2013.

383

384 FERREIRA, R; SIMM, E. M. Análise microbiológica da carne moída de um açougue da  
385 região central do município de Pará de Minas/MG. **SynThesis Revista Digital**  
386 **FAPAM**. n. 3, p. 37-61, 2012.

387 FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo:  
388 Atheneu, 2008. 182p.  
389

390 GUIMARÃES, A. R. et al. Caracterização filogenética molecular e resistência  
391 antimicrobiana de *Escherichia coli* isoladas de caprinos neonatos com diarreia.  
392 **Ciência Animal Brasileira**. v. 16, n. 4, p. 615-622, 2015.  
393

394 HAUSER, R. A. **Antibiótico na prática clínica: fundamentos para a escolha do**  
395 **agente antimicrobiano correto**. 1 ed. Porto Alegre: Artmed, 2008. 328p.  
396

397 JAY, J. M. **Microbiologia dos alimentos**. 6 ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 677p.  
398

399 LIVONI, J. F. L. S.; BEGOTTI, I. L.; MERLINI, L. S. Qualidade higiênico-sanitária da  
400 carne bovina moída comercializada no município de Umuarama-PR. Brasil.  
401 **Enciclopédia biosfera, Centro Científico Conhecer**. v. 9, n. 16, p. 1882, 2013.  
402

403 LOPES, H.V. O papel das novas fluoroquinolonas na terapia antibiótica. **Revista**  
404 **Panamericana de Infectologia**. v.6, n.4, p.18-20, 2004.  
405

406 LUZ, J. R. D. et al. Qualidade microbiológica da carne moída comercializada em Natal,  
407 Rio Grande do Norte. **Revista de Nutrição e Vigilância em Saúde**, v. 2, n 2, p.86-  
408 90, junho 2015.  
409

410 MANTILLA, S.P.S.; FRANCO, M.R. Perfil de sensibilidade microbiana *in vitro* de  
411 linhagens patogênicas de *Escherichia coli* isoladas de carne bovina. **Colloquium**  
412 **Agrariae**, v. 8, n.1, p. 10-17, 2012.  
413

414 MARCHI, P. G. F. et al. Avaliação microbiológica e físico-química da carne bovina  
415 moída comercializada em supermercados e açougues de Jaboticabal-SP. **Revista**  
416 **Eletrônica Interdisciplinar**, v. 1, n. 7, p. 81-87, 2012.  
417

418 MCKINNELL, J. A. et al. Nitrofurantoin compares favorably to recommended agents  
419 as empirical treatment of uncomplicated urinary tract infections in a decision and  
420 cost analysis. **Mayo Clinic Proceeding**. v. 86, n. 6, p. 480-8, 2011.

421

422 MELO, V.V.; DUARTE, I.P.; SOARES, A.Q. **Guia de Antimicrobianos**. 1. ed. Goiânia:  
423 HC, 2012. 57p.

424

425 MURRAY, P.R.; ROSENTHAL, K.S.; PLALLER, M.A. **Microbiologia Médica**. 7. ed.  
426 Elsevier. Rio de Janeiro, 2014, 835p.

427

428 NICOLINI, P.; NASCIMENTO, J. W. L.; GRECO, K. V.; MENEZES, F, G. Fatores  
429 relacionados à prescrição médica de antibióticos em farmácia pública da região  
430 Oeste da cidade de São Paulo. **Ciência e Saúde coletiva**. v.13 (supl), 2008.

431

432 PEREIRA, C. da. S.; ABREU, R. dos. S.; FERREIRA.E.G. Pesquisa de *Escherichia coli* no  
433 churrasquinho de carne comercializado no centro de Macapá. **Revista eletrônica**  
434 **Estácio Saúde**. v. 5,n. 2, 2016.

435

436 SALES, R.L.; ROCHA, J.L.M.; BRESSAN, J. Utilização de hormônios e antibióticos em  
437 produtos alimentícios de origem animal: aspecto gerais e toxicológicos. **Nutrire**. v.  
438 40, n. 3, p. 12, 2015.

439

440 SANTO, E.; RODOLPHO, D.; MARIN, M. J.; *Escherichia coli* patogênica extraintestinal  
441 em açougues em Taquaritinga-SP. **Brazilian Journal of Microbiology**. v. 38, n. 4,  
442 p.14, 2007.

443

444 SPINOSA, H. de. S.; GÓRNIAK. L I.; BERNARDI, M.M. **Farmacologia Aplicada à**  
445 **Medicina Veterinária**. 5-ed. Rio de Janeiro. 2011. 822p.

446

447 SUAREZ, C. E GUDIOL, F. Beta-lactam antibiotics. **Enfermedades Infecciosas y**  
448 **Microbiologia Clinica**, n. 27, v. 2, p. 116-129, 2009.

449 THAKER, M.; SPONOGIANNOPOULOS. P.; WRITGHT. G. D. The tetracycline  
450 resistome. Cell mol life sci. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 67, n. 3, p. 419-  
451 31, 2010.

452 VAN, T. H.; MOUTAFIS, G.; COLE, P. J. Antibiotic resistance in food-borne bacterial  
453 contaminants in Vietnam. **Applied Environmental Microbiology**, v. 73, n. 24, p.  
454 7906-7911, 2007.

455

456 VOLCÃO, L. M. MARQUES, J. L.; BERNARDI, E. RIBEIRO, G. A. Saúde e Segurança  
457 Alimentar: Isolamento e análise do perfil de suscetibilidade de bactérias patogênicas  
458 de alimentos. **Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção**. v. 6, n. 4, 2016.

459

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



## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A qualidade da carne moída depende de diversas etapas de produção. Assim, as Boas Práticas de Manipulação tornam-se uma ferramenta de grande importância, já que a carne moída é um alimento muito consumido pela população. As análises laboratoriais possibilitaram conhecer as condições higiênicas de processamento e conservação, e podem ser um excelente recurso para o monitoramento da qualidade da carne moída e outros cortes cárneos.

Além disso, medidas preventivas ao longo da cadeia produtiva da carne devem ser adotadas, afim de se assegurar a inocuidade do produto e evitar riscos à saúde dos consumidores. Dentre essas medidas, são imprescindíveis a implantação de matadouros inspecionados, o aumento da fiscalização por parte dos órgãos competentes e a sensibilização da sociedade em geral, quanto aos riscos de consumo de carne contaminada.

Adicionalmente, a ocorrência de cepas resistentes de *E. coli* na carne moída desperta para a necessidade de estudos mais aprofundados que busquem encontrar alternativas que cooperem para a prevenção da formação de resistência e que evitem riscos à saúde pública.

## REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, B.S.; MONTEIRO, W.A.; BEZERRA, F.Y.P. Perfil microbiológico da carne moída comercializada no município de Juazeiro do Norte, Ceará. **Revista Interfaces: Saúde, Humanas e Tecnologia**, v.3, n.1, 2015.
- BOUZID, R.; GUEMOUR, D.; ZIDANE, K.; AGGAD, H.; BENDELLA, A.; SAEGERMAN, A. Hygienic Quality of Minced Meat Retailed in Western Algeria. **Journal of Virology & Microbiology**, v. 2015, p. 9, 2015.
- CONCEIÇÃO, F. V. E.; GONÇALVES, E. C. B. A. Qualidade físico-química de mortadelas e carnes moídas e conhecimento dos consumidores na conservação destes produtos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.29, n. 2, p. 283-290, 2009.
- ERDEM, A. K.; SAGLAM, D.; OZER.D.; OZCELIK, E. Microbiological Quality of Minced Meat Samples Marketed in Istanbul. **Van Veterinary Journal**, v.25, n.3. p.67-70, 2014.
- FERREIRA, R; SIMM, E. M. Análise microbiológica da carne moída de um açougue da região central do município de Pará de Minas/MG. **SynThesis Revista Digital FAPAM**, Pará de Minas, n.3, p. 37 - 61,2012.
- GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. **Higiene e vigilância sanitária de alimentos**. 3. ed. São Paulo: Manole, 2008.
- HANGUI, S.A.R.; FERREIRA, A.F.; DOURADO, A.T.S.; MARTINS, J.D.; VARGEM, D.S.; SILVA, J. R. Análise microbiológica da carne bovina moída comercializada na cidade de Anápolis, Goiás. **Revista Eletrônica de Farmácia**. v.12, n.2, p.30-38, 2015.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4. ed. São Paulo: IMESP, 2008. p.1020.
- JAY, J. M. **Microbiologia dos alimentos**. 6.ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. p.711.
- LIVONI, J. F. L. S. BEGOTTI, I. L. MERLINI, L. S. Qualidade higiênico-sanitária da carne bovina moída comercializada no município de Umuarama, PR., Brasil. **Enciclopédia biosfera, Centro Científico Conhecer**, Goiânia, v.9, N.16; p.1882, julho 2013.
- LUZ, J. R. D. ARAÚJO, J. H. L. BATISTA, D. SILVA, T. C. ARAÚJO, L. B. A. CARVALHO, C. T. Qualidade microbiológica da carne moída comercializada em Natal, Rio Grande do Norte. **Revista de Nutrição e Vigilância em Saúde**, v. 2, n 2, p. 86-90, 2015.

MARCHI, P.G.F.; JUNIOR, O.D.R.; CERESER, N.D.; SOUZA, V.; LAO, N.C.M.R.; FARIA, A.A. Avaliação microbiológica e físico-química da carne bovina moída comercializada em supermercado e açougues de Jaboticabal-SP. **Revista Eletrônica da Univar**, v.1, n.7, 2012.