



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAPÁ  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
DEPARTAMENTO DE PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE – PPGCS**

**DIOGO VITOR SOARES TRINDADE**

**ANÁLISE MICROBIOLÓGICA, MOLECULAR E FÍSICO-QUÍMICA DA CARNE  
MOÍDA COMERCIALIZADA EM SUPERMERCADOS DE MACAPÁ, AMAPÁ**

**MACAPÁ  
2019**

**DIOGO VITOR SOARES TRINDADE**

**ANÁLISE MICROBIOLÓGICA, MOLECULAR E FÍSICO-QUÍMICA DA CARNE  
MOÍDA COMERCIALIZADA EM SUPERMERCADOS DE MACAPÁ, AMAPÁ**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, na área de concentração Ensaio Biológicos, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Júlio César Sá de Oliveira.

**MACAPÁ  
2019**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Biblioteca Central da Universidade Federal do Amapá  
Elaborada por Orinete Costa Souza – CRB-2/1709

---

Trindade, Diogo Vitor Soares.

Análise microbiológica, molecular e físico-química da carne moída comercializada em supermercados de Macapá, Amapá / Diogo Vitor Soares Trindade; Orientador, Júlio César Sá de Oliveira. – Macapá, 2019. 48 f.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Amapá, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde.

1. Microbiologia. 2. Alimentos de origem animal - Contaminação. 3. Carne - Microbiologia. 4. Carne de boi. I. Oliveira, Júlio César Sá de, orientador. II. Fundação Universidade Federal do Amapá. III. Título.

664.9 T833a  
CDD. 22 ed.

---

**DIOGO VITOR SOARES TRINDADE**

**ANÁLISE MICROBIOLÓGICA, MOLECULAR E FÍSICO-QUÍMICA DA CARNE  
MOÍDA COMERCIALIZADA EM SUPERMERCADOS DE MACAPÁ, AMAPÁ**

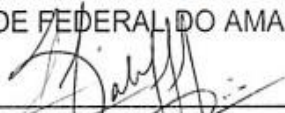
Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, na área de concentração Ensaaios Biológicos, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Júlio César Sá de Oliveira.

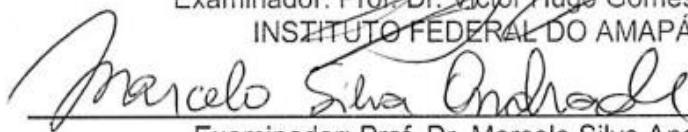
DATA DE APROVAÇÃO: 16 / 05 / 19



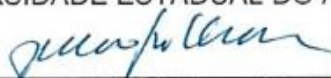
Examinadora: Profa. Dra. Amanda Alves Fecury  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAPÁ



Examinador: Prof. Dr. Victor Hugo Gomes Sales  
INSTITUTO FEDERAL DO AMAPÁ



Examinador: Prof. Dr. Marcelo Silva Andrade  
UNIVERSIDADE ESTADUAL DO AMAPÁ



Orientador: Prof. Dr.: Júlio César Sá de Oliveira.  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAPÁ

**MACAPÁ  
2019**

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus, pela Sua fidelidade e por ter me dado saúde e sabedoria para completar mais essa etapa do meu desenvolvimento acadêmico e intelectual. “... se somos infiéis, ele permanece fiel, pois não pode negar-se a si mesmo.” 2 Timóteo 2:13

À minha família, em especial minha progenitora Marilda de Oliveira Soares, que sempre acreditou em mim mesmo quando dei motivos para descrédito. Pelo amor, pelo empenho e pela educação.

Ao professor Msc. Claude Porcy, que me iniciou na pesquisa científica e me ensinou a amar a microbiologia.

Ao Professor Dr. Júlio César Sá de Oliveira, pela idealização e orientação da pesquisa.

À toda equipe do laboratório de Ictiologia e Limnologia da Universidade Federal do Amapá pelo apoio.

Ao Laboratório Central do Amapá – LACEN-AP, pela parceria e auxílio na etapa microbiológica.

Ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amapá, pela disponibilização de recurso financeiro e estrutural para a conclusão desta pesquisa.

À minha amada esposa, Ester Paulitsch Trindade pelo incentivo e por sempre fazer me sentir capaz.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para que concluísse esta pesquisa.

*Tudo o que temos de decidir é o que  
fazer com o tempo que nos é dado.*

*Gandalf*

## RESUMO

As Doenças de Transmissão Alimentar (DTA) são um grave problema de saúde pública no Brasil e no que se refere a carne moída bovina, sua composição química, seu grande conteúdo de água e seu pH favorável, constitui um excelente substrato para grande variedade de microrganismos, podendo comprometer seus aspectos qualitativos e sanitário, associado a isso, o processamento em moedores e a manipulação excessiva eleva o risco de contaminação do produto. A RDC nº 12, 2001/ANVISA determina padrões microbiológicos para alimentos que devem ser observados pelos estabelecimentos, a fim de ter segurança na liberação de tais produtos ao comércio. Objetivou-se avaliar a qualidade microbiológica e físico-química da carne moída bovina comercializada em supermercados pertencentes à cinco grandes redes na cidade de Macapá – AP. Foram coletadas 16 amostras em duplicata de carne moída em 16 supermercados de Macapá-AP no período de junho a agosto de 2018 e submetidas aos protocolos de análise físico-química e microbiológica. Para medir a temperatura real do produto, utilizou-se termômetro infravermelho e seu resultado registrado e comparado com a temperatura indicada pela prateleira refrigerada e para a verificar o pH da amostra, foi utilizado potenciômetro digital. O protocolo microbiológico consiste nas etapas de enriquecimento seletivo, primeiramente em caldo Rappaport–Vassiliadis e posteriormente em caldo Selenito Cistina. O isolamento bacteriano realizou-se em Ágar Salmonella-Shigella e Ágar Sulfito Bismuto e por fim, a identificação bioquímica foi realizada pelo sistema EPM MILI Citrato. As etapas de enriquecimento e semeadura foram submetidas à incubação em estufa bacteriológica à 37 °C ± 0.2 por 24h, ao passo que a série bioquímica em 48h. Adicionalmente, foi realizado a pesquisa de *Salmonella* spp. e *Staphylococcus aureus* por Reação em Cadeia da Polimerase (PCR). Foram detectadas inadequações na temperatura de exposição das carnes, pois, em 87,5% dos estabelecimentos (n=14) a temperatura da carne moída estava fora dos padrões estabelecidos pela legislação, salientando ainda a discrepância entre a temperatura real do produto com a indicada no balcão refrigerado. No que se refere ao pH, apenas 6,25% das amostras (n=1) se mostrou fora dos padrões ultrapassando o limite permitido de 6,2. No tocante às análises microbiológicas, apenas 12,5% das amostras (n=2) atingiram contagens superiores a 5,0 x 10<sup>6</sup> UFC/g para bactérias mesófilas, e 6,25% das amostras (n=1) apresentou contagem superior a 1,0 x 10<sup>7</sup> UFC/g para bactérias psicotróficas, indicadores importantes que revelam o estágio de decomposição do alimento. Para *Staphylococcus* coagulase positiva, as análises identificaram a presença do gênero bacteriano em todas as amostras, porém, 31,25% das amostras (n=5) apresentaram contagens superiores a 10<sup>5</sup> UFC/g marcando o início da produção da toxina estafilocócica. Em apenas 12,5% das amostras (n=2) foi identificado a presença de bactérias do gênero *Salmonella* spp., confirmados por PCR. Estes resultados evidenciam inadequações microbiológicas da carne moída bovina em supermercados de Macapá-AP, decorrentes de falhas no armazenamento do produto e, possivelmente, de contaminação pelos manipuladores, sendo de suma importância aumentar a fiscalização de órgãos oficiais, realizando ações de educação em saúde e boas práticas laborais para minimizar os riscos de contaminação.

**Palavras-chave:** Microbiologia. Carne moída. Contaminação. Supermercados.

## ABSTRACT

Foodborne Diseases (FBD) are a serious public health problem in Brazil and, as regards bovine meat, its chemical composition, high water content and a favorable pH constitutes an excellent substrate for a large variety of microorganisms, which can compromise its qualitative and sanitary aspects, associated with this, the processing in grinders and the excessive manipulation increases the risk of contamination of the product. RDC No. 12, 2001/ANVISA establishes microbiological standards for food that must be observed by establishments in order to have safety in the release of such products to trade. The objective of this study was to evaluate the microbiological and physicochemical quality bovine ground beef sold in supermarkets belonging to five major networks in the city of Macapá-AP. Sixteen samples were collected in duplicate of ground beef in 16 Macapá-AP supermarkets from June to August 2018 and submitted to physical-chemical and microbiological analysis protocols. To measure the actual temperature of the product, an infrared thermometer was used, and its result recorded and compared to the temperature indicated by the refrigerated shelf and to verify the pH of the sample, a digital potentiometer was used. The microbiological protocol consists of the selective enrichment steps, first in Rappaport-Vassiliadis broth and later in Selenite Cystine broth. The bacterial isolation was carried out in Salmonella-Shigella Agar and Bismuth Sulfite Agar and the biochemical identification was performed by the EPM MILI Citrate system. The enrichment and sowing stages were incubated in a bacteriological incubator at  $37^{\circ}\text{C} \pm 0.2$  for 24 h, while the biochemical series in 48 h. In addition, it was conducted of *Salmonella* spp. and *Staphylococcus aureus* by Polymerase Chain Reaction (PCR). There were inadequacies in the meat exposure temperature, in 87.5% of the establishments (n=14) the temperature of the ground beef was outside the standards established by the legislation, also highlighting the discrepancy between the actual temperature of the product and the indicated temperature in the refrigerated counter. As far as pH is concerned, only 6.25% of the samples (n=1) were out of standards exceeding the allowed limit of 6.2. Microbiological analyzes showed that only 12.5% of the samples (n=2) reached counts higher than  $5.0 \times 10^6$  CFU/g for mesophilic bacteria, and 6.25% of samples (n=1) presented a  $1.0 \times 10^7$  CFU/g for psychotrophic bacteria, important indicators that reveal the food decomposition stage. For *Staphylococcus* coagulase-positive, the analyzes identified the presence of the bacterial genotype in all the samples, but 31.25% of the samples (n=5) presented counts higher than  $10^5$  CFU/g marking the beginning of staphylococcal toxin production. The presence of bacteria of the genus *Salmonella* spp., confirmed by PCR, was detected in only 12.5% of the samples (n=2). These results evidenced microbiological inadequacies of bovine ground beef in supermarkets of Macapá-AP, due to failures in the product storage and, possibly, contamination by handlers, which is extremely important to increase the supervision of official bodies, carrying out health education activities and good work practices to minimize the risk of contamination.

**Keywords:** Microbiology. Ground beef. Contamination. Supermarkets.



## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 Relação entre a temperatura real da carne moída e a temperatura indicada nas prateleiras refrigeradas dos supermercados. 25
- Figura 2 Análise do pH das amostras comparados com o intervalo de aceitabilidade preconizado pela legislação. 28
- Figura 3 Amplificação do gene *coa* para *S. aureus*: M: Marcador de peso molecular; CP: controle positivo (ATCC 25923 – *S. aureus*), CN: controle negativo (água deionizada estéril); A – P (amostras de carne moída dos supermercados). 32
- Figura 4 Amplificação do gene *invA*: M: Marcador de peso molecular; CP: controle positivo (ATCC 9184 – *S. gallinarum*), CN: controle negativo (água deionizada estéril); A – P (amostras de carne moída dos supermercados). 34

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b>	Sequências de oligonucleotídeos iniciadores para amplificação do gene <i>invA</i> ( <i>Salmonella</i> spp.) e gene <i>coa</i> ( <i>S. aureus</i> )	22
<b>Tabela 2</b>	Contagem total em Unidades Formadoras de Colônia por grama (UFC/g) de bactérias aeróbias mesófilas e psicrótróficas nas amostras de carne moída bovina	29
<b>Tabela 3</b>	Contagem total de bactérias do gênero <i>Staphylococcus</i> spp. e resultado da amplificação genômica por PCR em amostras de carne moída bovina	31
<b>Tabela 4</b>	Resultado de pesquisa de <i>Salmonella</i> spp. por microbiologia convencional e PCR nas amostras de carne moída.	33

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BS	Bismuto Sulfito
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DTA	Doenças de Transmissão Alimentar
EDTA	Ácido Etilenodiamino Tetra-acético
EPM	Escola Paulista de Medicina
ICMSF	International Commission on Microbiological Specification for Foods
MILi	Motilidade; Indol; Lisina
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
pH	Potencial Hidrogeniônico
PVC	Policloreto de Vinila
RDC	Resolução de Diretoria Colegiada
RNA	Ácido ribonucleico
RVS	Rappaport Vassiliadis Soja
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
SC	Selenito Cistina
SCP	<i>Staphylococcus</i> Coagulase Positiva
sp.	Espécie indefinida
SS	Salmonella Shigella
TBE	Tris/Borato/EDTA
TSI	Três Açúcares e Ferro

## LISTA DE UNIDADES DE MEDIDA

g	Gramma
g/L	grama por Litro
° C	Grau Celsius
µm	micromolar
mA	miliampéres
MI	mililitro
Mm	milimolar
ng	nanograma
ng	nanograma
UFC/g	Unidades Formadoras de Colônia por grama
V	Volts

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>12</b>
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	<b>13</b>
2.1 GERAL .....	13
2.2 ESPECÍFICOS .....	13
<b>3 REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	<b>14</b>
3.1 DOENÇAS DE TRANSMISSÃO ALIMENTAR (DTA).....	14
3.2 RDC Nº 12 DE 02/01/2001 .....	16
3.3 DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO .....	17
<b>4 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>19</b>
4.1 COLETA E TRANSPORTE DAS AMOSTRAS .....	19
4.2 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS .....	19
4.3 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS .....	20
4.4 CONTAGEM TOTAL DE BACTÉRIAS AERÓBIAS MESÓFILAS E PSICROTRÓFICAS .....	20
4.5 CONTAGEM DE <i>Staphylococcus</i> COAGULASE POSITIVA (SCP) .....	21
4.6 PESQUISA DE <i>Salmonella</i> sp.....	21
4.7 ANÁLISE MOLECULAR – PCR .....	22
4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	24
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>24</b>
5.1 TEMPERATURA DE EXPOSIÇÃO .....	24
5.2 ANÁLISE DO POTENCIAL HIDROGENIÔNICO – pH .....	26
5.3 CONTAGEM TOTAL DE BACTÉRIAS AERÓBIAS MESÓFILAS E PSICROTRÓFICAS .....	28
5.4 CONTAGEM DE <i>Staphylococcus</i> Coagulase Positiva - SCP.....	30
5.5 PESQUISA DE <i>Salmonella</i> sp.....	32
<b>5 CONCLUSÃO</b> .....	<b>36</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>38</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O consumo de produtos cárneos, das suas mais variadas origens, mas principalmente de origem bovina, suína de aves cresce exponencialmente a cada ano, colocando o Brasil na sexta posição como maior consumidor, com aproximadamente 78,1kg por pessoa ao ano e figura na segunda posição na escala de produção, ficando atrás somente dos Estados Unidos da América (OCDE, 2016).

Essa atividade econômica que compreende desde a criação do gado, passando pelos abatedouros, corte e distribuição até se tornar no produto para comercialização, não está isento de contaminações dos mais variados tipos de microrganismos, alguns deles extremamente nocivos à saúde humana, causadores de distúrbios gastrintestinais em decorrência da toxinfecção (VIDAL- MARTINS *et al.*, 2014; PARDI, 2005).

Microrganismos como *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus* e *Clostridium perfringens* são os principais patógenos associados a surtos de toxinfecção veiculados por produtos cárneos contaminados, caracterizando-se como um sério problema de saúde pública. Todavia, o método que é mais utilizado para se elucidar a proveniência de surtos de toxinfecção por alimentos contaminados é a microbiologia convencional, entretanto, esse método demanda muito tempo para um diagnóstico preciso, pois a técnica empregada de semeadura em meios de cultura, incubação e posterior identificação bioquímica da espécie bacteriana, leva em torno de cinco dias para um resultado positivo, limitando medidas de contenção e controle de qualidade do produto (WELKER *et al.*, 2010; SOUSA *et al.*, 2012).

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 GERAL

Avaliar a qualidade microbiológica e físico-química da carne moída bovina comercializada em supermercados da cidade de Macapá – AP.

### 2.2 ESPECÍFICOS

- Determinar o pH e a temperatura das amostras de carne moída bovina;
- Quantificar microrganismos mesófilos, psicotróficos e *Staphylococcus* coagulase positiva (SCP), expressando-os em Unidades Formadoras de Colônias por grama (UFC/g);
  - Detectar *Salmonella* sp. e *S. aureus* pela Reação em Cadeia da Polimerase (PCR);
  - Comparar os resultados com o padrão microbiológico estabelecido pela RDC Nº 12, de 02 de janeiro de 2001.

### 3 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 DOENÇAS DE TRANSMISSÃO ALIMENTAR (DTA)

De acordo com a Organização Mundial de Saúde em 2015, as doenças de origem alimentar foram consideradas o maior problema de saúde pública em todo o mundo, tendo como principais veículos de contaminação as pessoas que manipulam os alimentos em todos os momentos da sua cadeia produtiva (LUNDGREN *et al.*, 2009).

Os alimentos contaminados podem se apresentar aparentemente inofensivos, apresentando odor e sabor normais, dificultando por parte do consumidor identificar qual alimento poderia estar contaminado em suas últimas refeições. Este fato torna difícil o rastreamento dos alimentos responsáveis pelas toxinfecções ocorridas (FORSYTHE, 2000).

É importante ressaltar que a política alimentar se baseia nas diretrizes internacionais do *Codex Alimentarius* (ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE, 2003), centrada no princípio de análise de risco. Tal política implica a avaliação e o controle dos riscos que apresentem as matérias-primas, o ambiente, as práticas agrícolas e as atividades de processamento dos alimentos para a saúde do consumidor.

Os alimentos de origem bovina são excelentes substratos para o crescimento de microrganismos, devido principalmente, ao seu teor de nutrientes, às suas qualidades organolépticas e pela influência de certos fatores ambientais, tendo como fontes diretas ou indiretas de contaminação, os indivíduos, os animais domésticos, os insetos, os utensílios, a água, o ar, o solo e as matérias-primas (PARDI, 2005). A soma das condições relacionadas com outras características dos alimentos e o comportamento de fatores ambientais condicionam o grau de perecibilidade dos produtos (ALMEIDA *et al.*, 2010).

Há recorrentes falhas quanto à epidemiologia das Doenças de Transmissão Alimentar (DTA) no Brasil, em virtude da ineficiência de registros oficiais dos estados e municípios, no que se refere a produção de dados estatísticos relacionados aos agentes etiológicos mais comuns, alimentos que mais incidem contaminações, população de risco e fatores correlatos, pois, esses índices, estão associados a



aspectos como, educação, condições socioeconômicas, saneamento, fatores ambientais, culturais e outros (BRASIL, 2010).

Os mais variados tipos de carne (bovina, suína e de aves) estão relacionados a relatos de surtos de toxinfecções alimentares, veiculando principalmente enterobactérias, estafilococos e clostrídios, dentre eles, os principais patógenos descritos são as *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus* e o *Clostridium perfringens* (GERMANO; GERMANO, 2008). Vários fatores, intrínsecos e extrínsecos, como atividade de água, pH, composição química, temperatura, ar e umidade podem alterar a microbiota natural de produtos de origem animal e contribuir para a instalação e proliferação destes patógenos capazes de produzir toxinas (SILVA *et al.*, 2016). Que podem causar risco à saúde do consumidor quando ingeridos (FERREIRA; SIMM, 2016).

Um dos principais fatores que contribuem para que patógeno gastrintestinais se perpetuem e causem surtos de origem alimentar, e a existência de portadores assintomáticos e permanência nos alimentos e no ambiente (CARDOSO; TESSARI, 2008). A alta disseminação de bactérias em produtos cárneos leva a incontáveis prejuízos econômicos, tanto para o estado quanto para a indústria (SHINOHARA *et al.*, 2008), como por exemplo, a *Salmonella* sp. A incidência persistente de salmonelose é sem dúvida, um desafio para a saúde pública no Brasil e no mundo, na qual, tem ocorrido um aumento acentuado e contínuo do número de casos vinculados a determinados sorotipos desde a década de 70 (CARDOSO; TESSARI, 2008).

No Brasil, a contaminação biológica *por Salmonella* sp. responde como a principal responsável pelas doenças de veiculação alimentar (GERMANO, GERMANO, 2008; BRASIL, 2010) sendo considerada como a de maior perigo para a saúde pública no país (BRASIL, 2010), assim como *Staphylococcus aureus*, pois tem características de virulência própria, como a produção de enterotoxinas, que mesmo em temperaturas acima de 100 °C permanecem estáveis e resistentes a enzimas gástricas (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2006).

Apesar de suas qualidades, as carnes e seus derivados estão sujeitos a alterações por reações químicas, físicas e microbiológicas (HANGUI *et al.*, 2015). Fazendo-se necessário, portanto, dispor de uma análise de risco microbiológico como uma nova ferramenta para a gestão da segurança alimentar e dos riscos associados, focando um perigo microbiológico em particular, em determinado tipo de alimento, para um tipo específico de consumidor (COSTA *et al.*, 2008; SOUSA *et al.*, 2012). E

mesmo que a presença de microrganismos deteriorantes em carnes seja inevitável, é possível, portanto, o controle do seu número, ao passo que os com potencialidades patogênicas devem ser evitados (CASTILLO, 2006).

Existe certa complexidade e amplitude no que se refere à qualidade de carnes e que pode ser definido como uma combinação de características que respondem pelo produto em sua totalidade (RAMOS; GOMIDE, 2012). O crescimento de microrganismos em alimentos depende de características como elevada atividade de água, pH próximo à neutralidade e elevado teor de nutrientes, características estas intrínsecas da carne tornando-a em um alimento altamente susceptível ao crescimento bacteriano (ORDONEZ, 2005).

Observa-se que em várias regiões do Brasil, altos índices de contaminação microbiológica em carne bovina moída e em cortes cárneos bovinos tem sido registrados (ROSINA; MONEGO, 2013; ACOSTA *et al.*, 2018; SILVESTRE *et al.*, 2013), devido a precárias condições higiênicas e de armazenamento, além da falta de boas práticas adotadas na manipulação e comercialização, perpetuando a contaminação veiculadas por equipamentos, utensílios e manipuladores das carnes (SILVA JÚNIOR *et al.*, 2018; SHINOHARA *et al.*, 2008).

### 3.2 RDC Nº 12 DE 02/01/2001

Para a melhoria no controle sanitário na área de alimentos, objetivando a proteção à saúde dos indivíduos, bem como, a regulamentação e definição dos padrões microbiológicos, a Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária aprovou o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos, cujos critérios são classificados em: caracterizar os microrganismos e/ou suas toxinas considerados de interesse sanitário; classificar os alimentos segundo o risco epidemiológico; métodos de análise que permitam a determinação dos microrganismos; definir o plano de amostragem para a determinação do número e tamanho de unidades de amostras a serem analisadas; aplicar normas e padrões de organismos internacionalmente reconhecidos, *Codex Alimentarius* e outros organismos (BRASIL, 2001).

Para os diferentes grupos de produtos alimentícios, existe uma tolerância máxima de microrganismos presentes e segundo a RDC nº 12, os padrões microbiológicos para carnes e produtos cárneos, que correspondem a carnes

resfriadas ou congeladas, *in natura*, de bovinos, suínos e outros mamíferos (carcaças inteiras ou fracionadas, quartos ou cortes); carnes moídas; miúdos de bovinos, suínos e outros mamíferos, definem a completa ausência de *Salmonella* sp. para 25g da amostra, enquanto que para *Staphylococcus* coagulase positiva as contagens não devem ultrapassar  $10^5$  UFC/g, mas identificado *S. aureus*, o limite aceitável é de  $10^3$  UFC/g (BRASIL, 2001).

### 3.3 DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO

As técnicas tradicionais de análise microbiológicas de alimentos baseiam-se no emprego de testes morfológicos e bioquímicos para tipagem, subtipagem e identificação de gêneros, espécies e subespécies microbianas. As técnicas microbiológicas mais comumente utilizadas são realizadas em meios de cultura não seletivos e seletivos complementadas por testes bioquímicos diferenciais, na sua maioria, de produção enzimática, usados em conjunto com testes sorológicos.

Os resultados de testes bioquímicos podem apresentar variabilidade pela ação de fatores ambientais sobre a expressão gênica, entre outras dificuldades, tais como o baixo poder discriminatório em microrganismos com pouca variabilidade genética e o risco de interpretações inadequadas, quando se utiliza um número limitado de testes (DOWNES; ITO, 2001). Por outro lado, a utilização de uma bateria de determinações microbiológicas determina uma análise cara e dispendiosa, pois podem requerer dias para análises dos resultados obtidos (JUSTE; THOMMA; LIEVENS, 2008).

Muito se questiona sobre essa metodologia, porquanto, pode ter sua sensibilidade e especificidade comprometidas devido às grandes variações bioquímicas e mutações genéticas que vários microrganismos apresentam, causando não só prejuízos à saúde do consumidor, mas também econômicos, pois comprometem o comércio nacional e internacional, uma vez que, as medidas de controle em matadouros ou a exportação de produtos e subprodutos cárneos podem ser prejudicadas em virtude do atraso na emissão de laudos de qualidade.

O período necessário para o diagnóstico pelo método microbiológico convencional é uma das principais razões para a realização de um número cada vez maior de pesquisas utilizando novas técnicas de triagem para a detecção de patógenos em alimentos (JOSEFSEN *et al.*, 2003; HYEON *et al.*, 2011; POSTOLLEC

*et al.*, 2011). Dentre essas, destaca-se as de amplificação de sequências do ácido desoxirribonucleico (DNA) pela Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) (JOSEFSEN *et al.*, 2003). A PCR é uma técnica altamente sensível, na qual pequenas quantidades de sequências de DNA ou ácido ribonucleico (RNA) específicas podem ser enzimaticamente amplificadas pela enzima Taq polimerase (enzima derivada da bactéria termofílica *Thermus aquaticus*) até que sejam obtidas, por estratégia de clonagem *in vitro*, milhões de cópias da sequência alvo.

As técnicas moleculares têm aplicação direta na detecção e caracterização de bactérias patogênicas em alimentos. Por isso, a PCR tornou-se a técnica de biologia molecular mais utilizada em diagnóstico microbiológico (MALORNY *et al.*, 2003). Podendo ser detectado simultaneamente de vários microrganismos patogênicos, em vários tipos de carnes, verificando um limite de detecção de uma unidade formadora de colônia por grama de amostra (1 UFC g<sup>-1</sup>) (HYEON *et al.*, 2011), através da caracterização do DNA cromossômico, plasmidial ou total dos microrganismos, proporcionando um rápido resultado e preciso, devido a estabilidade da molécula de DNA (POSTOLLEC *et al.*, 2011).

A PCR é uma estratégia útil para detecção de microrganismos em carnes, fezes, tecidos, sangue e leite, com diferentes metodologias de manipulação das amostras para inativar possíveis inibidores da reação, como sais biliares, hemoglobina e componentes sanguíneos (AABO *et al.*, 1999; COHEN *et al.*, 1994; FADL; KHAN, 1995), podendo ser empregada na gestão da qualidade em alimentos, pela triagem e estabelecimento de estratégias a fim de conter a contaminação.

Para que se previna a ocorrência das doenças de origem alimentar é necessária a observância de boas práticas higiênicas e sanitárias dos alimentos, se caracterizando como um fator de grande importância no controle de surtos de DTA, causadas por agentes biológicos ou químicos, os quais adentram no organismo humano pela ingestão de água ou alimentos contaminados e sendo associada principalmente sua veiculação por manipuladores infectados ou contaminados, equipamentos contaminados e a contaminação cruzada (FRANCO; LANDGRAF, 2008; GERMANO; GERMANO, 2008).

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 COLETA E TRANSPORTE DAS AMOSTRAS

A cidade de Macapá-AP, tem população estimada, segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) de 493.634 habitantes (IBGE, 2010), e conta com cinco grandes redes de supermercados, 16 estabelecimentos ao todo. Portanto, para este estudo, foram coletadas amostras em duplicata de todos os 16 estabelecimentos, totalizando 32 amostras. Estabelecimentos que comercializam carne bovina moída na modalidade congelada foram desprezados da amostra, sendo selecionados apenas estabelecimentos que comercializam carne bovina moída *in natura* ou resfriada.

As amostras foram coletadas aleatoriamente e estavam dispostas em prateleiras refrigeradas, acondicionadas em badejas de poliestireno revestidas por filme de PVC e continham aproximadamente 500g.

Imediatamente após a coleta, as amostras foram transportadas em caixa isotérmica refrigerada por gelo seco, com temperatura controlada entre 0 a 4° C, e encaminhadas ao Laboratório de Ictiologia e Limnologia da Universidade Federal do Amapá (UNIFAP).

### 4.2 ANÁLISE DA TEMPERATURA E PH

Foram analisados valores de temperatura e pH e comparou-se os resultados com a legislação vigente.

Para as análises de pH, adotou-se os Métodos Físico-químicos para Análise de Alimentos padronizados pelo Instituto Adolfo Lutz (2008), foram verificados o pH das amostras, procedendo a pesagem de 10g do produto em um béquer e diluiu-se com auxílio de 100 mL de água destilada a temperatura ambiente e posto em agitador magnético Solab SL-95 até que as partículas ficassem uniformemente suspensas. Este sobrenadante foi transferido a um tubo de ensaio e foi realizada a leitura do pH em potenciômetro digital de bancada MS TecnoPON Mpa210®.

No que se refere à determinação da temperatura da carne moída, o mesmo foi submetido à aferição da temperatura real de exposição através de Termômetro Pirômetro Infravermelho Laser Duplo Incoterm ST-700®, no momento da coleta, e

feito concomitantemente, o registro da temperatura indicada pela prateleira refrigerada.

#### 4.3 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

Foram procedidas as análises microbiológicas de acordo com a Instrução Normativa Nº 83 (BRASIL, 2003) com adaptações, que normatiza a industrialização de produtos de origem animal. Adicionalmente, os resultados obtidos foram comparados com o padrão microbiológico preconizado pela Resolução de Diretoria Colegiada nº12/2001 (BRASIL, 2001).

Diante do produto coletado, mediu-se 25 g da amostra e homogeneizou-se em 225 ml de água peptonada a 0,1% estéril em Erlenmeyer por 20 minutos, para o procedimento de diluição decimal seriada, obtendo-se desta forma a primeira diluição ( $10^{-1}$ ).

A partir da primeira diluição deu-se prosseguimento nas demais diluições, a saber:  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  e  $10^{-4}$ , feito de maneira asséptica a partir da transferência de 1 ml da diluição  $10^{-1}$  para um tubo de ensaio contendo 9 ml de água peptonada a 0,1% estéril, obtendo-se a segunda diluição ( $10^{-2}$ ), procedimento repetido até a diluição  $10^{-4}$ .

Como controle negativo, 25g de cada amostra foi submetida a tratamento térmico (cozimento) em água destilada durante três minutos após a temperatura atingir  $100^{\circ}$  C.

Adotou-se os planos de amostragem de duas e três classes segundo a RDC nº 12/2001 (BRASIL, 2001).

#### 4.4 CONTAGEM TOTAL DE BACTÉRIAS AERÓBIAS MESÓFILAS E PSICROTRÓFICAS

Para bactérias aeróbias mesófilas e psicotróficas foi necessária a contagem total para a determinação de Unidades Formadoras de Colônia (UFC) por grama de amostra. Para tanto, inoculou-se 0,1 ml de cada diluição na superfície das placas contendo o meio de cultivo composto por extrato de carne 10 g/L, peptona 10 g/L, cloreto de sódio 5 g/L e ágar 15 g/L em pH  $7,30 \pm 0,2$ , através da técnica de semeadura *pour plate* com o auxílio de alça de Drigalski esterilizada.

Uma vez semeadas, as placas para contagem de bactérias aeróbias mesófilas foram incubadas em posição invertida por 24 horas a  $37 \pm 0,1^\circ \text{C}$ , ao passo que para contagem de bactérias aeróbias psicotrópicas, as placas, também em posição invertida, foram incubadas por 7 dias a  $7 \pm 1^\circ \text{C}$ .

Para a obtenção e expressão dos resultados em UFC/g de amostra, foram selecionadas placas contendo de contagem de colônias, selecionaram-se as placas contendo entre 25 a 250 colônias, e efetuado a multiplicação do valor encontrado pelo fator de diluição correspondente.

#### 4.5 CONTAGEM DE *Staphylococcus* COAGULASE POSITIVA (SCP)

A partir das diluições já obtidas de cada amostra, foram semeados pela técnica *pour plate*, com auxílio da alça de Drigalski, inóculos de 0,1 mL dessas diluições em Ágar Baird-Parker (BP) e incubadas por  $45 \pm 2$  horas a  $35 \pm 2^\circ \text{C}$ . Decorrido o período de incubação, foram selecionadas as colônias características e submetidas às provas de catalase, coagulase e feita por fim a coloração de Gram (BOTTONNE, 1988). Para determinação no número de UFC/g foram levadas em consideração o número de colônias com crescimento morfológico característico, diluição seriada e percentual de colônias confirmadas.

#### 4.6 PESQUISA DE *Salmonella* sp.

Foi utilizada a primeira diluição ( $10^{-1}$ ) das amostras em água peptonada 0,1% e incubadas à temperatura de  $37 \pm 1^\circ \text{C}$  por  $18 \pm 2$  horas para que se obtivesse o enriquecimento não seletivo ou pré-enriquecimento. Para a etapa de enriquecimento seletivo, alíquotas de 1 mL, do caldo pré-enriquecido, foram transferidas para tubos de ensaio contendo 10 mL de caldo Selenito Cistina (SC) e imediatamente submetidos à incubação por  $37 \pm 0,1^\circ \text{C}$  durante 24 horas. Adicionalmente, alíquotas de 1 mL do caldo SC já enriquecido, foram inoculadas em caldo Rappaport Vassiliadis Soja (RVS) homogeneizadas e incubadas a  $37 \pm 1^\circ \text{C}$  por  $24 \pm 3$  horas.

Para isolamento bacteriano, fez-se necessário proceder ao estriamento da amostra enriquecida em meio de cultura seletivo e diferencial, para isso, utilizou-se os ágares Salmonella Shigella (SS) e Bismuto Sulfito (BS) e a partir disso, as amostras foram semeadas por estrias de esgotamento, auxiliadas por alças descartáveis de  $5 \mu\text{L}$ .

na superfície dos meios. As placas, uma vez semeadas, foram incubadas de forma invertidas, por  $24 \pm 3$  horas a  $37 \pm 1^\circ\text{C}$ . Como resultado presuntivo foi analisado as características de crescimento das colônias de *Salmonella* spp. nos meios de cultura, Ágar SS com colônias incolores a amareladas, ocasionalmente com centro negro e no Ágar BS apresentando colônias verde oliva a preto com ou sem brilho metálico.

Dado o crescimento de colônias típicas, foi realizado a etapa de confirmação pela transferência das referidas colônias para ágar Três Açúcares e Ferro (TSI), em que uma picada central era realizada e seguidamente feito estriamento na superfície do meio, sendo incubado a  $35 \pm 0,5^\circ\text{C}$  por 18 a 24 horas. Finalizado o tempo de incubação, a amostra foi submetida a testes bioquímicos, a saber: teste de fermentação da glicose, sacarose e lactose; teste do indol; malonato; citrato; urease e descarboxilação da lisina, realizado através do Sistema EPM-MILi-Citrato.

#### 4.7 ANÁLISE MOLECULAR – PCR

A PCR foi realizada em tubos cônicos de polipropileno de 0,5mL contendo 1 $\mu\text{L}$  da amostra, no volume total de 25 $\mu\text{L}$ , com concentrações finais de 1,5mM e 0,75mM de  $\text{MgCl}_2$  (MERCK) pra *Salmonella* sp. e *S. aureus*, respectivamente; aproximadamente 40 ng 20 ng e de DNA genômico para *Salmonella* sp. e *S. aureus*; 0,2 mM de cada desoxinucleotídeos (dATP, dCTP, dGTP e dTTP; Gibco BRL); 1,0  $\mu\text{M}$  de cada oligonucleotídeo iniciador (Gibco BRL); e 1,5 U de Taq DNA Polimerase (CenbiotEnzimas/UFRGS) para cada gene pesquisado.

Para a PCR, foram utilizadas alíquotas de amostras coletadas após 24 horas de incubação em água peptonada e após 24 horas de incubação em caldo Rappaport-Vassiliadis Soja (RVS). A extração do DNA, para análise por PCR, utilizou-se o protocolo de fenolclorofórmio, descrito por Sambrook *et al.* (2001), com modificações. O par de oligonucleotídeos iniciadores utilizados para amplificação do DNA foi sintetizado com base nas sequências 5' TGC CTA CAA GCA TGA AAT GG 3' (iniciador 1) 5' AAA CTG GAC CAC GGT GAA A 3' (iniciador 2) para amplificar um fragmento de 612 – 1000 pb do gene *invA* de *Salmonella* sp. (VIEIRA-DA-MOTTA; FOLLY; SAKYIAMA, 2001; LUZ, 2008) e 5' ACC ACA AGG TAC TGA ATC AA CG 3' (iniciador 1) 5' TGC TTT CGA TTG TTC GAT GC 3' (iniciador 2) para amplificar um fragmento de 457 pb do gene *coa* de *S. aureus* (MALDONADO, 2008) - Tabela 1.



**Tabela 1** Sequências de oligonucleotídeos iniciadores para amplificação do gene *invA* (*Salmonella* spp.) e gene *coa* (*S. aureus*)

Microrganismo	Oligonucleotídeos iniciadores	gene alvo	Tamanho	Referência
<i>Salmonella</i> spp.	5' TGCCTACAAGCATGAAATGG 3' 5' AAAGTGGACCACGGTGAAA 3'	<i>invA</i>	612 – 1000 pb	VIEIRA-DA-MOTTA; FOLLY; SAKYIAMA, 2001; LUZ, 2008
<i>S. aureus</i>	5' ACCACAAGGTACTGAATCAACG 3' 5' TGCTTTTCGATTGTTTCGATGC 3'	<i>coa</i>	457 pb	MALDONADO, 2008

Fonte: Autor (2019).

Para *Salmonella* sp. o protocolo de amplificação, realizado em termociclador, inicia-se com a etapa de desnaturação inicial de 95°C por cinco minutos, seguida de 40 ciclos consecutivos de 95°C por 30 segundos para desnaturação, 55°C por dois minutos para o anelamento, e 72°C por quatro minutos na extensão, com uma etapa de extensão final a 72°C por 10 minutos.

Para *S. aureus*, o protocolo de amplificação, inicia-se com desnaturação inicial de 94°C por 5 minutos, seguida de 35 ciclos consecutivos de 94°C por um minuto para desnaturação, 57°C por 30 segundos para o anelamento, e 72°C por um minuto na extensão, com etapa de extensão final a 72°C por cinco minutos.

A análise dos fragmentos amplificados será executada por eletroforese durante 40 a 45 minutos a 90 V e 43mA, em gel de agarose a 2% preparado em TBE (Tris base, ácido bórico, EDTA), corado com brometo de etídio (0,5µg/mL). O marcador de peso molecular utilizado será DNA Ladder 100pb (GIBCO BRL).

A observação de fragmentos de DNA na altura de 284pb, após a migração em eletroforese, será realizada em aparelho transiluminador e os resultados fotografados com câmera digital.

#### 4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

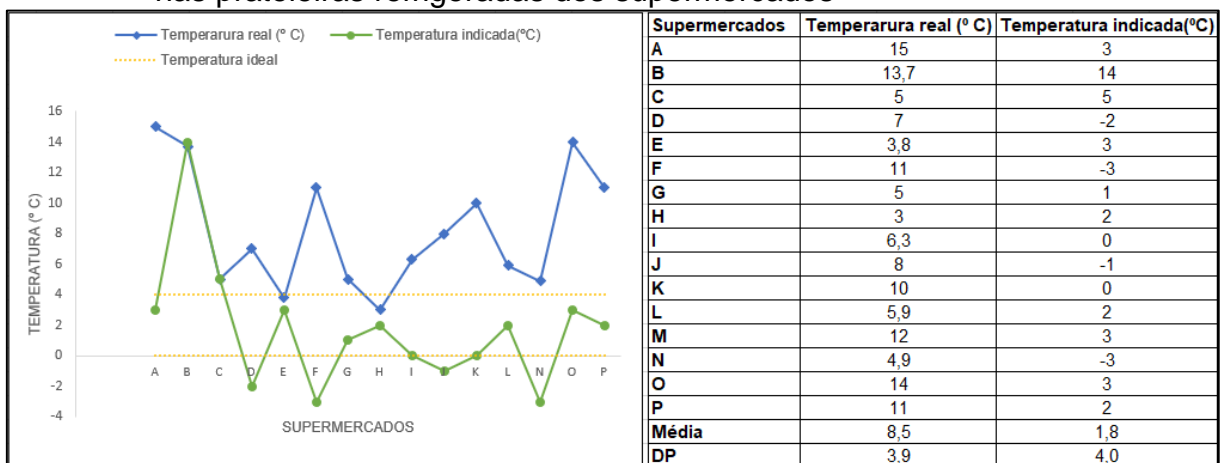
Os dados foram tabulados em software Microsoft Excel® e submetidos a estatística descritiva através da expressão das médias e desvios padrão dos dados brutos.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 TEMPERATURA DE EXPOSIÇÃO

Constatou-se que dos 16 estabelecimentos, apenas dois (12,5%), mostraram resultados satisfatórios para a temperatura de exposição do produto, portanto, 14 estabelecimentos (87,5%) apresentaram amostras de carne moída fora dos padrões de temperatura preconizados pela legislação (Figura 1), que segundo a Instrução Normativa nº 83, de 21 de novembro de 2003 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, a carne moída de origem bovina deve ser mantida em armazenamento refrigerado entre 0° C a 4° C (BRASIL, 2003).

**Figura 1** Relação entre a temperatura real da carne moída e a temperatura indicada nas prateleiras refrigeradas dos supermercados



Fonte: Autor (2019).

Segundo a legislação brasileira que regulamenta a comercialização da carne moída, a moagem da carne deverá ocorrer em local próprio, com temperatura ambiente não superior à 10° C. O produto ainda deverá sair do equipamento de moagem com temperatura nunca superior à 7° C e ser submetido, imediatamente, ao congelamento ou ao resfriamento (BRASIL, 2003).

Segundo Costa *et al.* (2012) a temperatura está diretamente relacionada à velocidade de estabelecimento e proliferação de microrganismos, logo, buscar a qualidade dos processos referentes à temperatura de armazenamento é essencial.

Bactérias psicotróficas como a *Listeria monocytogenes*, podem desenvolver-se em uma faixa ampla de temperatura que varia de 0,4 à 45°C (CARVALHO, 2010;

FRANCO; LANDGRAF, 2008), assim como bactérias do gênero *Salmonella* spp., que, apesar da temperatura ótima de crescimento ser à 37°C, podem crescer em uma faixa que varia entre 7 à 45°C (OLIVEIRA, 2000). Porém, segundo estudos mais recentes essa faixa de crescimento é mais restrita, entre 5°C até 38°C (FORSYTHE, 2013).

Bactérias produtoras de toxinas também têm sua proliferação otimizada pela temperatura. Bactérias do gênero *Staphylococcus* spp., por exemplo, podem produzir toxinas na faixa de 10°C até 46°C devido ao seu caráter mésofilo, ou seja, podem crescer em temperatura de 6,7°C até 47,8°C (JAY, 2005).

Outros trabalhos também evidenciam inadequações na temperatura de armazenamento de carne moída em supermercados, apresentando dados próximos dos valores citados, a exemplo dos supermercados na cidade de Vitória-ES em que 80% das amostras de carne moída estavam em desacordo com a legislação (ARÇARI *et al.*, 2011). Mesmo perfil repete-se em amostras de carne moída avaliadas na região metropolitana de Recife, nas quais apenas 10% das amostras atendiam à temperatura preconizada (BAPTISTA *et al.*, 2013). Em Erechin-RS todas as amostras coletadas para análise estavam com temperaturas superiores a 4°C (BONACINA; BACCIN; ROSA, 2017). A avaliação de 27 amostras de carnes embaladas comercializadas em três grandes redes de supermercados do município de Recife teve como resultado a constatação de que todas as peças estavam com a temperatura do centro geométrico acima de 7,5°C (LIMA, 2009).

De acordo com Millani e Possamai (2011), a temperatura da prateleira térmica de carne em quatro supermercados no Paraná não apresentou conformidade com a legislação vigente, relatando que a média da menor temperatura da prateleira térmica de um estabelecimento foi de 12,2°C, enquanto que a maior, 30,3°C, ambas acima dos 7°C para cortes padronizados.

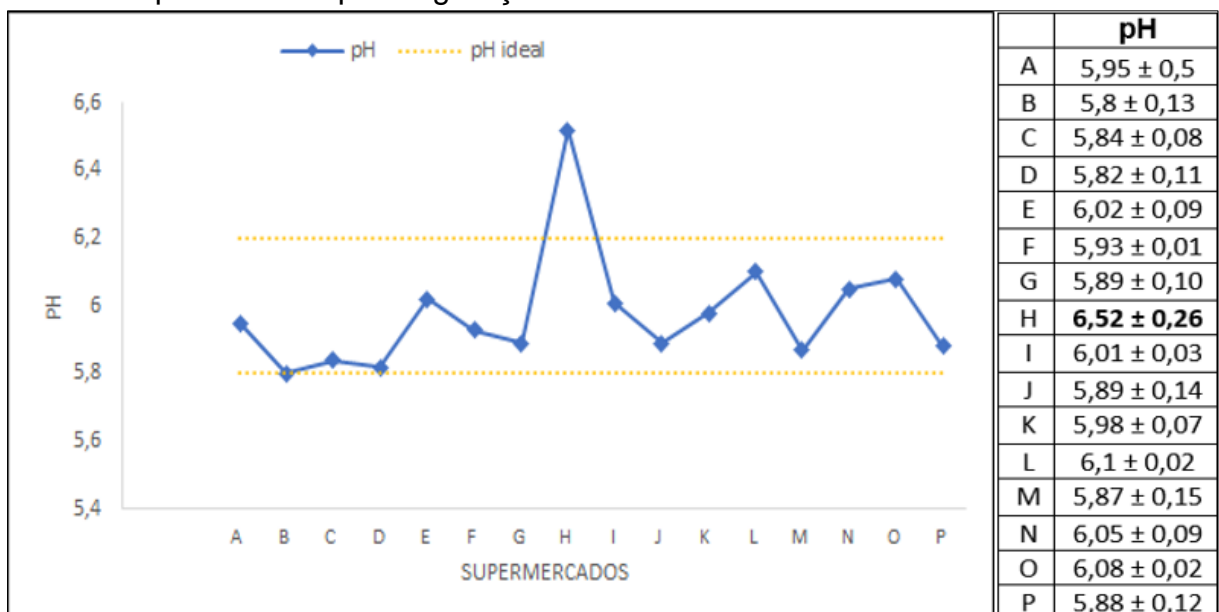
Um dos maiores problemas encontrados nas condições de conservação pelo frio em estabelecimentos que comercializam produtos cárneos é o funcionamento inadequado dos equipamentos de refrigeração, seja por falha na vedação ou por falta de calibragem do mesmo. Problema que atinge não é só pequenos estabelecimentos, mas também em lojas pertencentes às grandes redes de supermercados (OLIVEIRA *et al.*, 2008). Oliveira *et al.* (2008) avaliaram a temperatura da carne bovina de 30 estabelecimentos em João Pessoa-PB e encontraram em 57% inadequações, apresentando temperatura acima de 7°C.

A temperatura de armazenagem de produtos cárneos deve ser um critério primordial para controle de crescimento bacteriano e não deve ser ignorada, pois, interfere no tempo que o alimento apresenta e conserva as características organolépticas inviabilizando o crescimento de agentes deteriorantes e suas toxinas (COSTA *et al.*, 2012).

## 5.2 ANÁLISE DO POTENCIAL HIDROGENIÔNICO – pH

Os resultados da análise do potencial hidrogeniônico demonstraram que 93,8% das amostras (n=15) estão dentro do recomendado pela legislação e caracterizadas como próprias para o consumo - pH entre 5,8 e 6,2. (BRASIL, 1989). Apenas 6,25% das amostras (n=1) se mostrou fora dos padrões aceitáveis, conforme mostra a figura 2.

**Figura 2** Análise do pH das amostras comparados com o intervalo de aceitabilidade preconizado pela legislação



Fonte: Autor (2019)

A análise do pH é de grande relevância, pois se mostra um importante parâmetro de qualidade, visto que, está diretamente associado na proliferação microbiana e na retenção de água, destacando-se que o pH baixo em carnes está diretamente relacionado a proliferação de bactérias lácticas, onde o músculo do gado

recém abatido acidifica de acordo com a degradação e consumo da glicose, produto do metabolismo bacteriano (ALCÂNTARA *et al.*, 2012; OLIVEIRA *et al.*, 2017).

Em Macapá-AP, análises feitas a partir de amostras de açougues dos supermercados, em sua totalidade encontravam-se de acordo com o intervalo aceitável, como prevê a legislação vigente (SOUSA *et al.*, 2000). Contrapondo a esses resultados, amostras de carne analisadas em Mossoró-RN tiveram valores de pH que variaram entre 5,5 a 5,7 (VELHO *et al.*, 2015), bem como em Alexandria-RN, que para o parâmetro de pH, as amostras carne bovina se mostrou uniforme, com média de 5,6.

Em estudos realizados em Recife-PE para avaliar os aspectos qualitativos da carne moída comercializada na região metropolitana das 20 amostras coletadas, 12 encontravam-se dentro do intervalo permitido pela legislação, corresponderam ao intervalo de acidez de 5,5 a 5,8, e apenas uma apresentou-se imprópria para consumo, uma vez que seu pH foi de 6,65 (BAPTISTA *et al.*, 2013).

Marchi (2006) avaliaram a acidez de 60 amostras de carne moída comercializadas na cidade de Jaboticabal-SP e encontraram que 60% das amostras estavam com o pH entre 5,8 a 6,2 e as demais, 40% estavam fora dos padrões citados pelo MAPA, pois apresentaram valores abaixo de 5,8 e acima de 6,2 (BRASIL, 2003). Conceição e Gonçalves (2009) encontraram que 20 amostras de carne moída bovina coletadas na cidade do Rio de Janeiro-RJ e Niterói-RJ, apresentaram pH entre 6,5 e 7, ou seja, impróprias para o consumo.

O início da degradação da carne é acompanhado por um aumento no pH. Em carnes moídas já foram encontrados valores médios de pH em torno de 6,5 para fase inicial de degradações alimentar por microrganismos deteriorantes (JAY, 2005) e o pH é considerado um parâmetro intrínseco relacionado ao crescimento bacteriano e a evidencia de amostras fora do intervalo preconizado pela legislação indicam inadequações no processo produtivo ou armazenamento (HENNEKINNE; BUSYER; DRAGACCI, 2012; FORSYTHE, 2013).

Em alguns casos, essas alterações são perceptíveis por aspectos de cor e odor na carne moída (BAPTISTA *et al.*, 2013), porém, na maioria dos casos essas alterações são imperceptíveis, como mostra os resultados de estudos da qualidade físico-química da carne moída em Bom Jesus-PI, em que 85% das amostras estavam fora dos padrões de pH e 96,66% das amostras indicaram início de deterioração, apesar de não ser identificado aparente alteração sensoriais (OLIVEIRA *et al.*, 2017).

### 5.3 CONTAGEM TOTAL DE BACTÉRIAS AERÓBIAS MESÓFILAS E PSICROTRÓFICAS

Para contagens de bactérias aeróbias mesófilas e psicotróficas, apenas 12,5% das amostras (n=2) ultrapassaram  $5,0 \times 10^6$  UFC/g, para mesófilos, enquanto que para psicotróficos, apenas 6,25% amostras das amostras (n=1) ultrapassou a contagem de  $1,0 \times 10^7$ . A tabela 2 mostra os resultados da contagem total de bactérias aeróbias mesófilas e psicotróficas nas amostras de carne moída bovina.

**Tabela 2** Contagem total em Unidades Formadoras de Colônia por grama (UFC/g) de bactérias aeróbias mesófilas e psicotróficas nas amostras de carne moída bovina

Amostras de carne moída bovina	Bactérias mesófilas (UFC/g)	Bactérias psicotróficas (UFC/g)
A	$2,3 \times 10^4$	$3,6 \times 10^4$
B	$2,0 \times 10^5$	$8,2 \times 10^3$
C	$5,2 \times 10^5$	$6,3 \times 10^5$
D	$6,2 \times 10^6$	$1,0 \times 10^5$
E	$3,0 \times 10^4$	$8,7 \times 10^3$
F	$1,3 \times 10^5$	$3,3 \times 10^3$
G	$2,0 \times 10^5$	$1,0 \times 10^7$
H	$4,2 \times 10^5$	$3,2 \times 10^5$
I	$3,1 \times 10^5$	$1,5 \times 10^5$
J	$6,1 \times 10^5$	$9,3 \times 10^6$
K	$1,8 \times 10^6$	$8,4 \times 10^4$
L	$5,4 \times 10^6$	$6,4 \times 10^5$
M	$9,7 \times 10^3$	$7,2 \times 10^6$
N	$3,2 \times 10^5$	$3,1 \times 10^6$
O	$2,4 \times 10^5$	$7,7 \times 10^4$
P	$7,5 \times 10^5$	$5,2 \times 10^5$

Fonte: Autor (2019)

A legislação brasileira não prevê uma padronização para contagem total de microrganismos mesófilos (BRASIL, 2001), porém, quantificar esse grupo de bactérias é um importante instrumento indicador de qualidade higiênico-sanitária, pois, contagens que ultrapassam  $10^4$  UFC/g, torna a vida de prateleira do produto comprometida (FRANCO; LANDGRAF, 2008; MONTEIRO *et al.*, 2018; MARCHI *et al.*, 2012). Alguns países têm preconizado em suas legislações parâmetros de contagem de bactérias aeróbias mesófilas em carne *in natura*, como por exemplo a Argentina, na qual a contagem de mesófilos não deve ultrapassar  $5,0 \times 10^6$  (UNIÃO EUROPÉIA, 2005).

A International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF) estabelece padrões nos quais permite-se uma contagem máxima de  $1,0 \times 10^7$  UFC/g de micro-organismos aeróbios totais para os alimentos em geral (ICMSF, 1986).

Segundo Bartolomeu *et al.* (2011) a vida de prateleira de alimentos é afetada e diminuída por microrganismos aeróbios psicotróficos em número elevado, pois são os principais agentes deterioradores desse tipo de alimento.

Ao analisar a qualidade microbiológica da carne bovina moída comercializada em supermercados do Distrito Federal, Monteiro *et al.* (2018) identificaram contagens aceitáveis de bactérias mesófilas com amplitude variando entre  $5,1 \times 10^3$  e  $2,7 \times 10^6$  UFC/g, porém, para bactérias psicotróficas, das 15 amostras analisadas, cinco (33%) apresentaram elevadas contagens, com valores acima de  $1,0 \times 10^7$  UFC/g. No estudo realizado em supermercados e açougues de Jaboticabal-SP, verificou-se que das 30 amostras de carne bovina moída coletadas para análise, 17 (56%) apresentaram contagens de microrganismos psicotróficos acima de  $1,0 \times 10^7$  UFC/g (MARCHI *et al.*, 2012).

Lundgren *et al.* (2009) relatam que o valor médio do número de bactérias aeróbias mesófilas em amostras de carne bovina provenientes de mercados públicos e feiras livres, foi de  $3,0 \times 10^7$  UFC/g, sendo, portanto, superior à média das contagens encontradas, por Gill e Landers (2005), Devatkal *et al.* (2004), Julião e Costa (2002), Sarkis (2002) e Motta e Belmonte (2000) que foram de  $10^2$ ,  $10^6$ ,  $5,3 \times 10^6$ ,  $1,2 \times 10^5$  e  $1,5 \times 10^6$  UFC/g respectivamente.

Altas contagens de microrganismos aeróbios mesófilos e psicotróficos são resultados de possíveis inadequações higiênico-sanitárias e no armazenamento inadequado impostos a esses produtos cárneos, sem descartar a possibilidade de ter sido contaminadas devido às condições precárias de higiene dos locais de abate, processamento, exposição e comercialização, bem como dos manipuladores em geral (LUNDGREN *et al.*, 2009).

A presença de elevada população de bactérias aeróbias mesófilas indica que houve possibilidade de multiplicação microbiana no alimento, incluindo àqueles que possuem potencial risco à saúde humana, portanto, apresentando inadequações sanitárias deste alimento que de acordo com Comitê de Microbiologia para Alimentos da Associação Americana de Saúde Pública é diretamente proporcional a relação entre o crescimento desse tipo de microrganismo e a possibilidade de existirem

microrganismos patogênicos e consequente presença de toxinas resultantes do metabolismo microbiano (AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION, 2001).

#### 5.4 CONTAGEM DE *Staphylococcus* Coagulase Positiva - SCP

De acordo as análises para *Staphylococcus* coagulase positiva, 5 (31,25%) amostras apresentaram contagens superiores a  $1,0 \times 10^5$  UFC/g, portanto, impróprias para consumo (BRASIL, 2001). Todavia, em todas as amostras foram confirmadas presença de *Staphylococcus* sp., sendo confirmadas em 10 (62,5%), das 16 amostras *S. aureus*, conforme mostra a tabela 5.

**Tabela 3** Contagem total de bactérias do gênero *Staphylococcus* spp. e resultado da amplificação genômica por PCR em amostras de carne moída bovina

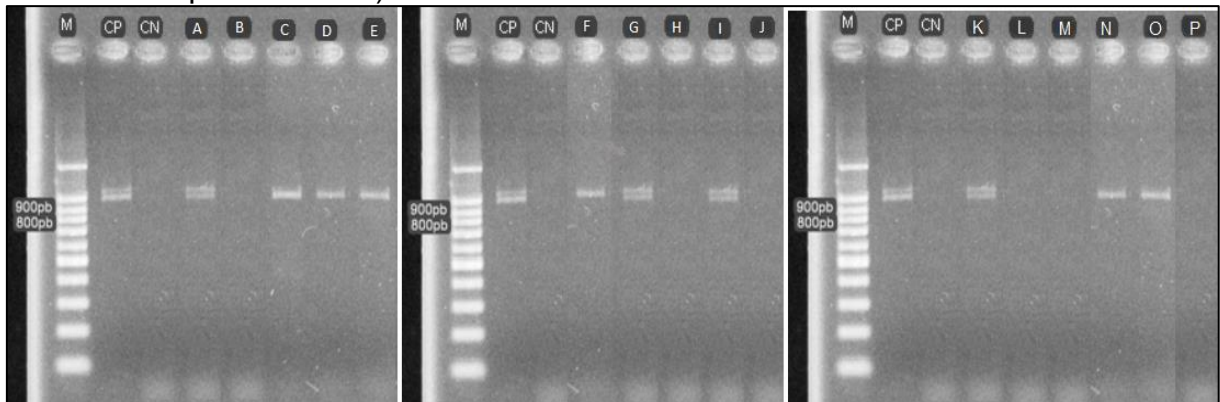
Amostras de carne moída bovina	<i>Staphylococcus</i> spp (UFC/g).	<i>S. aureus</i> ATCC 25923
A	$1,0 \times 10^4$	-
B	$1,7 \times 10^5$	+
C	$4,2 \times 10^4$	-
D	$2,4 \times 10^3$	-
E	$1,2 \times 10^3$	+
F	$3,7 \times 10^3$	-
G	$3,1 \times 10^4$	+
H	$1,1 \times 10^5$	-
I	$1,9 \times 10^5$	+
J	$2,0 \times 10^5$	-
K	$1,3 \times 10^4$	+
L	$3,2 \times 10^4$	+
M	$2,5 \times 10^3$	+
N	$1,3 \times 10^5$	+
O	$2,0 \times 10^4$	+
P	$2,8 \times 10^3$	+

Fonte: Autor (2019)

A legislação brasileira prevê contagens de  $1,0 \times 10^3$  UFC/g. para *S. aureus* em produtos cárneos crus, refrigerados ou congelados, que geralmente levam carne moída em sua composição (BRASIL, 2001), por isso as amostras foram submetidas à Reação da Cadeia da Polimerase (PCR) para confirmação da espécie bacteriana (Figura 3).



**Figura 3** Amplificação do gene *coa* para *S. aureus*: M: Marcador de peso molecular; CP: controle positivo (ATCC 25923 – *S. aureus*), CN: controle negativo (água deionizada estéril); A – P (amostras de carne moída dos supermercados).



Fonte: Autor (2019)

Segundo Silva Júnior *et al.* (2018), é necessário rigor no controle higiênico-sanitário, seja nas etapas de processamento ou na educação sanitária dos manipuladores. Para que tais controles sejam observados, a contagem de SCP é extremamente importante, pois contagens superiores a  $10^5$  UFC/g indica início da produção da toxina estafilocócica (MARCHI *et al.*, 2012).

Os resultados do presente estudo corroboram com os achados por Silva Júnior *et al.* (2018), no qual, 100% das amostras analisadas estavam contaminadas por *Staphylococcus* sp., com amplitude registrada de  $2,3 \times 10^3$  a  $2 \times 10^5$  UFC/g. Em João Pessoa-PE todas as amostras analisadas foram identificadas a presença de SCP com contagem média de  $2,7 \times 10^5$  UFC/g, associando a alta incidência de SCP em carnes comercializadas em feiras livres com o demasiado processo de manipulação, além de inferir que a matéria-prima é possivelmente de origem clandestina, portanto, sem fiscalização sanitária, não podendo-se assegurar precisamente as condições higiênico-sanitárias dessas carnes e dos produtos derivados (LUNDGREN *et al.*, 2009). De igual modo, Devatkal *et al.* (2004) e Mota e Belmonte (2000) identificaram SCP em amostras de carne moída, com valores médios de  $10^2$  e  $2,0 \times 10^4$  UFC/g, respectivamente.

Monteiro *et al.* (2018) identificou que das 15 amostras de carne moída analisadas, treze amostras (87%) apresentaram contagens positivas de *S. aureus*, das quais, 5 amostras (33%) apresentaram-se com contagens superiores a  $1,0 \times 10^3$  UFC/g. Há, porém, estudos que identificaram a presença de *S. aureus* em todas as amostras de carne moída analisadas, porém em níveis inferiores a  $1,0 \times 10^3$  UFC/g

(ABREU; MERLINI; BEGOTTI, 2011; SOUSA *et al.*, 2012). Marchi *et al.* (2012), relatam que de um total de 24 amostras de carne moída analisadas, 7 amostras (29%) apresentaram contagens de *S. aureus* acima de  $1,0 \times 10^3$  UFC/g, já no trabalho de Oliveira *et al.* (2008), 100% das amostras de carne moída bovina analisadas apresentaram contagens elevadas de *S. aureus* acima de  $1,0 \times 10^3$  UFC/g.

A maioria dos estudos relatam altos índices de contaminação para SCP. Em Alexandria-RN, todas as amostras de carne moída *in natura* indicaram contaminação (SILVESTRE *et al.*, 2013). Realidade semelhante descrita por Rosina e Monego (2013) em supermercados de Canoinhas-SC, na qual, 95% das amostras apresentaram contagens superiores a  $10^3$  UFC. Contrapondo a esses índices, Gomes *et al.* (2017) relataram que apenas uma amostra apresentou valores elevados para *S. Coagulase* positiva em supermercados de Montes Claros-MG

A presença de *S. aureus* nos alimentos indica condições higiênicas inapropriadas, por se tratar de uma bactéria procedente de manipulação humana inadequada. Devido ao excesso de manipulação, a carne moída é um produto que se contamina facilmente com *S. aureus* (ALMEIDA *et al.*, 2010; OLIVEIRA *et al.*, 2008; SANTANA *et al.*, 2010).

## 5.5 PESQUISA DE *Salmonella* sp.

No presente estudo, houve crescimento presuntivo de colônias típicas em Ágar Salmonella Shigella (Ágar SS), bem como em Ágar Sulfito Bismuto (Ágar SB). Ao todo 16% das amostras (n=4) apresentaram referido crescimento, nas quais, tanto em Ágar SS quanto em Ágar SB corresponderam a mesma amostra analisada. Observado o crescimento de colônias típicas em meio de cultura sólido Ágar SS e Ágar SB, foram transferidas de forma pura para Ágar TSI para que fosse confirmado a presença de bactérias do gênero *Salmonella* spp. Apenas 12,5% das amostras (n=2) foram confirmadas, pois, em Ágar TSI, apresentaram-se, com superfície do meio vermelho e a base amarela, sem pigmento negro, características de enterobactérias não fermentadoras de lactose (ANVISA, 2010). A identificação complementar foi realizada por série bioquímica.

As análises microbiológicas evidenciaram crescimento de colônias típicas em 16% das amostras (n=4), tanto em ágar Salmonella Shigella quanto em ágar Bismuto

Sulfito, correspondendo a mesma amostra analisada, porém, apenas 12,5% das amostras (n=2) tiveram diagnóstico confirmado para *Salmonella* spp. (Tabela 4).

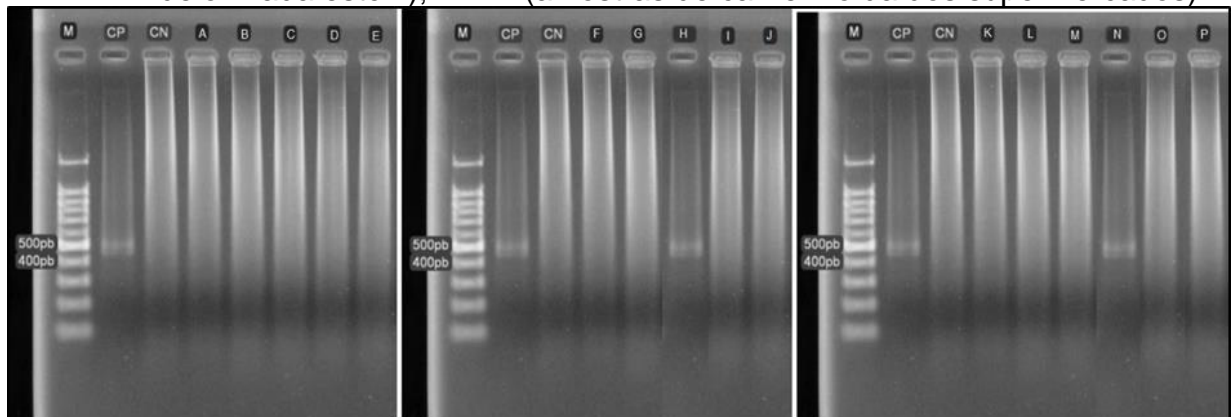
**Tabela 4** Resultado de pesquisa de *Salmonella* spp. por microbiologia convencional e PCR nas amostras de carne moída.

Amostras de carne moída bovina	Ágar SS/BS	Ágar TSI	EPM-MILi-CITRATO	<i>S. gallinarum</i> ATCC 9184
A	Ausente	-	-	-
B	Ausente	-	-	-
C	Ausente	-	-	-
D	Presente	Positivo	Positivo	+
E	Ausente	-	-	-
F	Ausente	-	-	-
G	Ausente	-	-	-
H	Ausente	-	-	-
I	Ausente	-	-	-
J	Presente	Negativo	Negativo	-
K	Ausente	-	-	-
L	Presente	Positivo	Positivo	+
M	Ausente	-	-	-
N	Ausente	-	-	-
O	Ausente	-	-	-
P	Presente	Negativo	Negativo	-

Fonte: Autor (2019).

Os resultados da análise molecular por PCR confirmam o resultado microbiológico, ou seja, 12,5 % das amostras (n=2) foram caracterizadas impróprias para consumo devido à presença desse patógeno (Figura 4).

**Figura 4** Amplificação do gene *invA*: M: Marcador de peso molecular; CP: controle positivo (ATCC 9184 – *S. gallinarum*), CN: controle negativo (água deionizada estéril); A – P (amostras de carne moída dos supermercados).



Fonte: Autor (2019).

Para bactérias do gênero *Salmonella* spp., a legislação brasileira vigente preconiza a ausência desse microrganismo em 25g de carne moída (BRASIL, 2001), pois, bactérias desse gênero são nocivas à saúde humana, devido a produção de toxinas que podem causar infecções alimentares.

Ao considerar o padrão microbiológico para *Salmonella* spp. (BRASIL, 2001), todas as amostras de carne moída de supermercados em Umuarama-PR encontram-se próprias para consumo (ABREU; MERLINI; BEGOTTI, 2011). Similarmente, 80% das amostras de carne moída bovina em supermercados de Cascavel-PR se mostraram isentas do patógeno (BECKER; KIEL, 2011). Em análises de amostras provenientes de açougues, não houve detecção de *Salmonella* spp. (OLIVEIRA *et al.*, 2017), mesmo quadro é relatado por Luz *et al.* (2015) e Marchi *et al.* (2012) quanto a ausência da bactéria. Lundgren *et al.* (2009) ao analisar amostras de carne bovina em João Pessoa-PE também não detectou a presença de *Salmonella* spp. em nenhuma das amostras. Resultados semelhantes foram encontrados em pesquisas realizadas por Mendes *et al.* (2001) e Badr (2004). Já em amostras da cidade de Barra do Garças-MT, 17% foram detectadas a presença de *Salmonella* spp. (SOUSA *et al.*, 2012). Silvestre *et al.* (2013) detectaram a presença de *Salmonella* spp. em 11,4% das amostras de carne bovina resfriada provenientes de estabelecimentos comerciais, assim como em Teresina-PI, na qual, Alves *et al.* (2011) em análise microbiológica de carne moída, verificaram que das seis amostras analisadas apenas uma apresentou presença de *Salmonella* spp.

Resultados significativos quanto à presença de *Salmonella* spp. foram observados por Monteiro *et al.* (2018) quando analisaram amostras de carne moída bovina provenientes de supermercados. Das 15 amostras de carne moída analisadas foi detectada a presença de *Salmonella* spp. em 27% das amostras (n=4).

Em estudo do perfil microbiológico da carne bovina *in natura* comercializada no município de Picos-PI, foram analisadas amostras de mercados públicos e supermercados. Das amostras provenientes de supermercados, duas (33,3%) das três amostras apresentaram *Salmonella* sp., sendo que nos boxes dos mercados público, 14 amostras (58,33%) apresentaram contaminação pelo patógeno (LUZ *et al.*, 2015).

A associação entre a manipulação excessiva e altas contagens de microrganismos deteriorantes e patogênicos é evidenciada por Almeida *et al.* (2010) que realizaram análises microbiológicas em carnes bovinas comercializadas em

Diamantina-MG. Nesse estudo, os autores detectaram ausência de *Salmonella* sp. em bifes de coxão mole expostos à venda no município, contudo, em amostras de acém moído verificaram a presença deste patógeno em 20% das amostras.

A carne bovina *in natura*, seja ela fracionada ou não fracionada, pode representar risco aos consumidores, principalmente quando a modalidade da carne solicitada requer manipulação excessiva e essa manipulação ser realizada de maneira incorreta. Quanto mais manipulada é a carne, maior é a sua susceptibilidade à contaminação (ALMEIDA *et al.*, 2010).

Bactérias do gênero *Salmonella* spp. podem causar graves distúrbios gastrintestinais em seres humanos por possuir características peculiares de fuga do sistema imunológico, impedindo sua rápida eliminação. Suínos e bovinos são fontes de infecção por serem reservatórios de *Salmonella* sp., que através das fezes podem disseminar-se de forma indireta, por contaminação cruzada entre manipuladores ou equipamentos contaminados e carcaças ou produtos derivados (KICH *et al.*, 2005; LIMA *et al.*, 2016).

## 5 CONCLUSÃO

Este trabalho evidenciou inconformidades na qualidade microbiológica da carne moída comercializada em grandes redes de supermercados de Macapá-AP, portanto, fora dos padrões estabelecidos pela RDC 12/2001, pois, identificou-se a presença de microrganismos patogênicos acima das contagens limítrofes que rege a legislação, bem como a presença de microrganismos patogênicos que não deveriam estar no alimento, mesmo em contagens mínimas, como é o caso da *Salmonella* spp.

Identificou-se inadequações na temperatura de armazenamento/exposição dos produtos, contribuindo substancialmente para o crescimento de microrganismos deteriorantes e patogênicos, pois, uma vez que este produto altamente nutritivo se encontra em temperaturas altas de armazenagem, se torna um ambiente propício para o crescimento de microrganismos deteriorantes e patogênicos. Tal fato é ratificado pelo resultado de altas contagens de microrganismos aeróbios mesófilos e psicotróficos e *Staphylococcus* coagulase positiva, muitas delas acima do permitido pela legislação específica adotada neste estudo como parâmetro.

Tais evidências podem estar associados a falhas no processamento da carne moída comercializada nestes estabelecimentos em diferentes aspectos: assepsia inadequada da instrumentação laboral, como facas, balança e moedores, cujas superfícies são potencialmente áreas de formação de biofilmes bacterianos, caso não sejam limpas e desinfetadas corretamente. Associado a isso, a falta de critérios higiênico-sanitários por parte dos manipuladores aumenta consideravelmente o risco de contaminação das carnes, visto que os microrganismos encontrados são carreados por seres humanos, inclusive os de origem fecal. A contaminação desse produto também pode ter origem em todas as etapas da sua cadeia produtiva, inclusive no abatedouro, bem como, ter microrganismos carreados por artrópodes de diferentes espécies.

Sugere-se que técnicas moleculares, como a PCR, sejam implementadas no controle de qualidade microbiana em toda a cadeia de produção alimentar, pois, proporciona um diagnóstico mais rápido, sensível e específico, a fim de minimizar o risco de doenças de transmissão alimentar, bem como elevar a qualidade do produto importado e exportado. Ações de educação em saúde são fundamentais, principalmente no que diz respeito a capacitação dos manipuladores, pois muitas

vezes são portadores assintomáticos e negligenciam os princípios de qualidade microbiológica, resultando em contaminação da carne.

## REFERÊNCIAS

- AABO, Soren *et al.* **Salmonella identification by the polymerase chain reaction.** Depositante: U.S. Patent, n. 6,004,747. Depósito: 21 dez. 1999. Disponível em: <https://patents.google.com/patent/US6004747A/en>. Acesso em: 21 jan. 2019.
- ABREU, Cassiana Ometto; MERLINI, Luiz Sérgio; BEGOTTI, Ivan Lazzarim. Pesquisa de *Salmonella* spp, *Staphylococcus aureus*, coliformes totais e coliformes termotolerantes em carne moída comercializada no município de Umuarama-PR. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, Umuarama, v. 14, n. 1, 2011. Disponível em: <http://www.revistas.unipar.br/index.php/veterinaria/article/view/3737>. Acesso em: 24 nov. 2017
- ACOSTA, Atzel Candido *et al.* Fatores de virulência de *Staphylococcus aureus*. **Medicina Veterinária (UFRPE)**, Recife, v. 11, n. 4, p. 252-269, 2018. Disponível em: <http://www.journals.ufrpe.br/index.php/medicinaveterinaria/article/view/1955>. Acesso em: 04 nov. 2018
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Manual de Microbiologia Clínica para Serviços de Saúde**. Brasília: ANVISA, 2010. 381p. Disponível em: [http://bvsm.s.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual\\_microbiologia\\_completo.pdf](http://bvsm.s.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_microbiologia_completo.pdf). Acesso em: 05 mar. 2018.
- ALCANTARA, Marcela *et al.* Principais Microrganismos envolvidos na deterioração das características sensoriais de derivados cárneos. **Revista brasileira de higiene e sanidade animal**, Fortaleza, v. 6, n. 1, p. 1-20, 2012. Disponível em: <http://www.higieneanimal.ufc.br/seer/index.php/higieneanimal/article/view/15>. Acesso em: 20 nov. 2017.
- ALMEIDA, Anna Christina *et al.* Determinação de perigos microbiológicos em carnes bovinas resfriadas provenientes de abates clandestinos e comércio ilegal. **Acta Veterinaria Brasilica**, Brasília, v. 4, n. 4, p. 278-285, 2010. Disponível em: <https://periodicos.ufersa.edu.br/index.php/acta/article/view/1580/0>. Acesso em: 10 nov. 2017.
- ALVES, Verbena Carvalho *et al.* Coliformes e *Salmonella* spp. em carne moída comercializada em Teresina, PI. **Brazilian Journal of Veterinary Medicine**, Recife, v. 33, n. 1, p. 32-36, 2011. Disponível em: <http://rbmv.org/index.php/BJVM/article/view/773>. Acesso em: 20 abr. 2019.
- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4.ed. Washington: American Public Health Association, 2001. 676p.



ARÇARI, Antônio T. *et al.* Avaliação microbiológica da carne bovina comercializada em cinco supermercados de Vitória, ES. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 25, n. 202/203, p. 138-144, 2011. Disponível em: <http://www.repositorio.uniceub.br/bitstream/235/7228/1/20905080.pdf>. Acesso em: 20 nov. 2017.

BADR, Hesham M. Use of irradiation to control foodborne pathogens and extend the refrigerated market life of rabbit meat. **Meat Science**, [s.l.], v. 67, n. 4, p. 541-548, 2004. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0309174003003280>. Acesso em: 20 abr. 2019.

BAPTISTA, Raíssa Ivna Alquete de Arreguy *et al.* Aspectos qualitativos da carne moída comercializada na região metropolitana do Recife-PE. **Acta Veterinária Brasília**, Mossoró, v. 7, n. 1, p. 38-47, 2013. Disponível em: <https://rbmv.org/index.php/acta/article/view/3215>. Acesso em: 05 mar. 2018.

BARTOLOMEU, Dayse Aline Ferreira Silva *et al.* Contaminação microbiológica durante as etapas de processamento de filé de tilápia (*Oreochromis niloticus*). **Archives of veterinary Science**, Curitiba, v. 16, n. 1, 2011. Disponível em: <https://revistas.ufpr.br/veterinary/article/view/22788>. Acesso em: 19 mar. 2018.

BECKER, Ana Karine; KIEL, Greicy. Análise microbiológica de carne bovina *in natura* comercializada em supermercados de Cascavel-PR. **Revista Thêma et Scientia**, Cascavel, v. 1, n. 2, p. 149-155, 2011. Disponível em: <https://www.fag.edu.br/upload/arquivo/1362060757.pdf>. Acesso em 27 abr. 2019.

BONACINA, Marlice Salete; BACCIN, Marina Andréa; ROSA, Leonardo Souza. Avaliação de parâmetros indicativos da qualidade da carne bovina moída comercializada em diferentes supermercados em Erechin, Rio Grande do Sul. **Vigilância Sanitária em Debate: Sociedade, Ciência & Tecnologia**, [s.l.], v. 5, n. 4, p. 9-16, 2017. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/321509681\\_Avaliacao\\_de\\_parametros\\_indicativos\\_da\\_qualidade\\_da\\_carne\\_bovina\\_moida\\_comercializada\\_em\\_diferentes\\_supermercados\\_em\\_Erechin\\_Rio\\_Grande\\_do\\_Sul](https://www.researchgate.net/publication/321509681_Avaliacao_de_parametros_indicativos_da_qualidade_da_carne_bovina_moida_comercializada_em_diferentes_supermercados_em_Erechin_Rio_Grande_do_Sul). Acesso em: 20 fev. 2019.

BOTTONE, Edward J. A coloração de Gram: o teste de diagnóstico rápido quintessencial centenário. **Medicina Laboratorial**, [s.l.], v. 19, n. 5, p. 288-291, 1988. Disponível em: <https://academic.oup.com/labmed/article-abstract/19/5/288/2641844>. Acesso em: 20 fev. 2019.

BRASIL. **Métodos Analíticos para Controle de Produtos de Origem Animal e seus Ingredientes – LANARA**. Brasília: Ministério da Agricultura e do Abastecimento, 1989. Disponível em: [http://www.agricultura.gov.br/assuntos/laboratorios/laboratorios-credenciados/documentos-rede-nacional-de-laboratorios-agropecuarios/modelo-p\\_pag\\_poa\\_microbial\\_11\\_11\\_2016.pdf](http://www.agricultura.gov.br/assuntos/laboratorios/laboratorios-credenciados/documentos-rede-nacional-de-laboratorios-agropecuarios/modelo-p_pag_poa_microbial_11_11_2016.pdf). Acesso em: 20 mar. 2018

\_\_\_\_\_. **Resolução RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001.** Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Brasília: Diário Oficial da União, [2001]. Disponível em: [http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/RDC\\_12\\_2001.pdf/15ffddf6-3767-4527-bfac-740a0400829b](http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/RDC_12_2001.pdf/15ffddf6-3767-4527-bfac-740a0400829b). Acesso em: 20 mar. 2018.

\_\_\_\_\_. **Instrução Normativa nº 83, de 21 de novembro de 2003.** Aprova os regulamentos técnicos de identidade e qualidade de carne bovina em conserva e carne moída de bovino. Brasília: Diário Oficial da União, [2003]. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=4317>. Acesso em: 20 de mar. 2018.

\_\_\_\_\_. **A força da agricultura 1860 – 2010.** Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2010. Disponível em: <http://www.bdpa.cnptia.embrapa.br/consulta/busca?b=ad&biblioteca=vazio&busca=autoridade:%22MINIST%C3%89RIO%20DA%20AGRICULTURA,%20PECU%C3%89RIA%20E%20ABASTECIMENTO.%22>. Acesso em: 19 mar. 2018.

CASTILLO, Carmen Josefina Contreras. **Qualidade da carne.** São Paulo: Varela, 2006.

CARDOSO, A.L.S.P.; TESSARI E.N.C. Salmonela na segurança dos alimentos. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.70, n.1, p.11-13, 2008. Disponível em: [http://www.biologico.agricultura.sp.gov.br/uploads/docs/bio/v70\\_1/cardoso.pdf](http://www.biologico.agricultura.sp.gov.br/uploads/docs/bio/v70_1/cardoso.pdf). Acesso em: 30 nov. 2018.

CARVALHO, Irineide Teixeira. **Microbiologia dos Alimentos.** Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), 2010.

COHEN, Noah D. *et al.* Detection of *Salmonella enteritidis* in feces from poultry using booster polymerase chain reaction and oligonucleotide primers specific for all members of the genus *Salmonella*. **Poultry science**, [s.l.], v. 73, n. 2, p. 354-357, 1994. Disponível em: <https://academic.oup.com/ps/article-abstract/73/2/354/1522780>. Acesso em: 20 nov. 2018.

CONCEIÇÃO, Fernanda Vilares Escaleira da; GONÇALVES, Édira Castello Branco de Andrade. 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. Disponível em: <http://www.redalyc.org/pdf/3959/395940092007.pdf>. Acesso em: 21 abr. 2019.

COSTA, Francisca Neide *et al.* Avaliação microbiológica da carne bovina moída comercializada no município de Jaboticabal, SP. **Higiene e alimentação**, São Paulo, v. 22, n. 160, p. 62-65, 2008. Disponível em: <http://bases.bireme.br/cgi-bin/wxislind.exe/iah/online/?IsisScript=iah/iah.xis&src=google&base=LILACS&lang=p&nextAction=lnk&exprSearch=531980&indexSearch=ID>. Acesso em: 30 nov. 2018.

COSTA, J.N.P. *et al.* Condições de armazenamento e acondicionamento de carnes in natura comercializadas em minimercados. **Revista de Medicina Veterinária**, Recife, v. 6, n.4, p.10-15. 2012. Disponível em: <http://journals.ufrpe.br/index.php/medicinaveterinaria/article/view/607/486>. Acesso em: 30 nov. 2018.

DEVATKAL, Suresh *et al.* Physicochemical, functional and microbiological quality of buffalo liver. **Meat Science**, [s.l.], v.68, n.1, p.79-86, 2004. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0309174004000476>. Acesso em: 22 abr. 2019.

DOWNES, F. P.; ITO, K. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4. ed. Washington: American Public Health Association, 2001, 676 p.

FADL, A.A.; Nguyen, A.V.; KHAN, M.I. Analysis of *Salmonella enteritidis* isolates by arbitrarily primed PCR. **Journal of Clinical Microbiology**, [s.l.], v. 33, n. 4, p. 987-989, 1995. Disponível em: <https://jcm.asm.org/content/33/4/987.short>. Acesso em: 30 nov. 2018.

FERREIRA, Rogério Santos; SIMM, Erny Marcelo. Análise microbiológica da carne moída de um açougue da região central do município de Pará de Minas/MG. **SYNTHESIS| Revista I Digital FAPAM**, Pará de Minas, v. 3, n. 3, p. 37-61, 2016. Disponível em: <http://periodicos.fapam.edu.br/index.php/synthesis/article/view/50>. Acesso em: 30 nov. 2018.

FORSYTHE, Stephen J. **Microbiologia da segurança alimentar**. Porto Alegre: Artmed, 2000. 424 p.

FORSYTHE, Stephen J. **Microbiologia da segurança dos alimentos**. 2.ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 602 p.

FRANCO, Bernadete Dora Gombossy de Melo; LANDGRAF, Mariza. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2008. 182 p.

GERMANO, Pedro Manuel Leal; GERMANO, Maria Izabel Simões. **Higiene e vigilância sanitária de alimentos: qualidade das matérias-primas, doenças transmitidas por alimentos, treinamento de recursos humanos**. São Paulo: Manole, 2008, 986 p. Disponível em: <http://pesquisa.bvs.br/brasil/resource/pt/ses-13194>. Acesso em: 24 nov. 2018.

GILL, C. O.; LANDERS, C. Microbiological condition of horse meat prepared at a North American packing plant, and control of the temperature of product air freighted to Europe. **Meat Science**, [s.l.], v.69, n.3, p.501-507, 2005. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0309174004002414>. Acesso em: 20 abr. 2019.

GOMES, Aline de Fátima Araújo *et al.* Avaliação microbiológica de carnes moídas bovinas em diferentes estabelecimentos comerciais. **Caderno de Ciências Agrárias**, Belo Horizonte, v. 9, n. 3, p. 95-100, 2017. Disponível em: <https://periodicos.ufmg.br/index.php/ccaufmg/article/view/9647>. Acesso em: 24 nov. 2018.

HANGUI, Sabrina Ayumi Rodrigues *et al.* Análise microbiológica da carne bovina moída comercializada na cidade de Anápolis, Goiás, Brasil. **Revista Eletrônica de Farmácia**, Goiânia, v.12, n.2, p.30-38. 2015. Disponível em: <https://www.revistas.ufg.br/REF/article/view/34969>. Acesso em: 20 nov. 2018.

HENNEKINNE, Jacques-Antoine; BUYSER, Marie-Laure; DRAGACCI, Sylviane. Staphylococcus aureus e suas toxinas de intoxicação alimentar: caracterização e investigação de surtos. **Revisões de microbiologia FEMS**, [s.l.], v. 36, n. 4, p. 815-836, 2012. Disponível em: <https://academic.oup.com/femsre/article/36/4/815/520403> Acesso em: 10 mar. 2019.

HYEON, Ji-Yeon *et al.* Prevalence, antibiotic resistance, and molecular characterization of Salmonella serovars in retail meat products. **Journal of Food Protection**, [s.l.], v. 74, n. 1, p. 161-166, 2011. Disponível em: <https://academic.oup.com/femsre/article/36/4/815/520403>. Acesso em: 11 mar. 2019.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de Alimentos**. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. p. 1020.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Censo 2010**. Brasília: IBGE, 2010. Disponível em: <https://censo2010.ibge.gov.br/>. Acesso em: 30 mar. 2018.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS. **Microorganisms in Foods 2: Sampling for microbiological analysis - Principles and specific applications**. [s.l.]: Blackwell Scientific Publications, 1986. Disponível em: <https://seafood.oregonstate.edu/sites/agscid7/files/snic/sampling-for-microbiological-analysis-principles-and-specific-applications-icmsf.pdf>. Acesso em: 11 mar. 2019.

JAY, James. **Microbiologia de Alimentos**. 6. ed. São Paulo: Artmed. 2005, 2011p.

JOSEFSEN, Mathilde H. *et al.* Food-PCR. Validation and standardization of diagnostic PCR for detection of *Yersinia enterocolitica* and other foodborne pathogens. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, [s.l.], v. 529, p. 443-449, 2003. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12756806>. Acesso em: 12 mar. 2019.

JULIÃO, Alessandra Matos; COSTA, Paulo Soares. Avaliação microbiológica e controle da produção de carne resfriada homogeneizada de bovino, preparada em nível varejista no Estado do Rio de Janeiro. **Higiene Alimentar**, [s.l.], v.16, n.96, p.94-99, 2002. Disponível em: <http://www.higieneanimal.ufc.br/seer/index.php/higieneanimal/article/view/187/1717>. Acesso em: 21 abr. 2019.

JUSTÉ, A.; THOMMA, B. P. H. J.; LIEVENS, B. Recent advances in molecular techniques to study microbial communities in food-associated matrices and processes. **Food microbiology**, [s.l.], v. 25, n. 6, p. 745-761, 2008. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0740002008000786>. Acesso em: 02 abr. 2019.

KICH, Jalusa Deon *et al.* Fatores associados à soroprevalência de *Salmonella* em rebanhos comerciais de suínos. **Ciência rural**, Santa Maria. v. 35, n. 2, mar-abr, p. 398-405, 2005. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/%0D/cr/v35n2/a24v35n2.pdf>. Acesso em: 05 mar. 2018.

LIMA, A. L. *et al.* Sorovares e perfil de suscetibilidade a antimicrobianos em *Salmonella spp.* isoladas de produtos de origem suína. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 68, n. 1, p. 39-47, 2016. Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/18104>. Acesso em: 10 mar. 2018.

LIMA, Marcelo Barbosa Oliveira. **Conservação da carne bovina resfriada exposta à venda em supermercados da Cidade do Recife**. 2009. 29f. Monografia (Especialização em Gestão de Qualidade e Vigilância Sanitária) - Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró-RN, 2009. Disponível em: [https://www.equalis.com.br/arquivos\\_fck\\_editor/Monografia%20Marcela%20Barbosa%20de%20Oliveira%20Lima.pdf](https://www.equalis.com.br/arquivos_fck_editor/Monografia%20Marcela%20Barbosa%20de%20Oliveira%20Lima.pdf). Acesso em: 22 abr. 2019.

LUNDGREN, Patricia Urquiza *et al.* Perfil da qualidade higiênico-sanitária da carne bovina comercializada em feiras livres e mercados públicos de João Pessoa/PB-Brasil. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 20, n. 1, p. 113-119, 2009. Disponível em: <http://200.145.71.150/seer/index.php/alimentos/article/viewArticle/953>. Acesso em: 15 mar. 2018.

LUZ, Isabelle da Silva. **Caracterização molecular das toxinas em *Staphylococcus aureus* isolados de leite e queijo de coalho em Municípios da Região Agreste de Pernambuco**. 2008. 126f. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) – Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Recife, 2008. Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/3952>. Acesso em: 10 mar. 2018.

LUZ, Jefferson Romáryo Duarte da *et al.* Qualidade microbiológica da carne moída comercializada em Natal, Rio Grande do Norte. **Nutrivisa – Revista de Nutrição e Vigilância em Saúde**, Fortaleza, v.2, n.2, p. 86-90. 2015. Disponível em: <https://www.revistanutrivisa.com.br/artigo-original/qualidade-microbiologica-da-carne-moída-comercializada-em-natal-rio-grande-do-norte/>. Acesso em: 08 abr. 2018.

MALDONADO, Alessandra Grangel. **Ocorrência de *Salmonella spp.* em amostras de carcaças e miúdos de frango obtidas em uma feira e um mercado municipal na zona oeste da cidade de São Paulo: análise crítica entre a técnica convencional em meios de cultivo e reação em cadeia pela polimerase - PCR**. 2008. 75f. Dissertação (Mestrado em Epidemiologia Experimental e Aplicada a Zoonoses) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008. Disponível em:

<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/10/10134/tde-20022009-175042/pt-br.php>. Acesso em: 01 fev. 2019.

MALORNY, Burkhard *et al.* Standardization of diagnostic PCR for the detection of foodborne pathogens. **International Journal of Food Microbiology**, [s.l.], v. 83, n. 1, p. 39-48, 2003. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160502003227>. Acesso em: 02 mar. 2019.

MARCHI, Patrícia Gelli Feres de. **Estudo comparativo do estado de conservação de carne moída através de métodos microbiológicos e físico-químicos**. 2006. 90f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária Preventiva) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2006. Disponível em: <http://www.fcav.unesp.br/download/pgtrabs/mvp/m/2703.pdf>. Acesso em: 25 abr. 2019.

MARCHI, Patrícia Gelli Feres de *et al.* Avaliação microbiológica e físico-química da carne bovina moída comercializada em supermercados e açougues de Jaboticabal – SP. **Revista Eletrônica da Univar**, São Paulo, n.7 p. 81–87, 2012. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160502003227>. Acesso em: 02 mar. 2019.

MENDES, A. C. R. *et al.* Condições de comercialização de cortes cárneos em supermercados da cidade de Salvador, BA. Aspectos higiênico-sanitários e de conservação. **Higiene Alimentar**, [s.l.], v.15, n.83, p.58-62, 2001. Disponível em: <https://periodicos.utfpr.edu.br/recit/article/download/4322/>. Acesso em 24 abr. 2019.

MILLANI, Patrícia Regina; POSSAMAI, Patrícia. **Avaliação microbiológica e físico-química de carnes comercializadas em supermercados de Francisco Beltrão-PR**. 211. 42f. Monografia (Graduação em Tecnólogo em Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Francisco Beltrão, 2011. Disponível em: [http://repositorio.roca.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/270/1/FB\\_COALM\\_2011\\_2\\_13.pdf](http://repositorio.roca.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/270/1/FB_COALM_2011_2_13.pdf). Acesso em: 23 abr. 2019.

MONTEIRO, Erika da Silva *et al.* Qualidade microbiológica de carne bovina moída comercializada em supermercados do Distrito Federal, Brasil. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, Fortaleza, v. 12, n. 4, p. 520-530, 2018. Disponível em: <http://www.higieneanimal.ufc.br/seer/index.php/higieneanimal/article/view/467>. Acesso em: 20 mar. 2019.

MOTTA, Monica Regina Alves; BELMONTE, Marco Antonio. Avaliação microbiológica de amostras de carne moída comercializada em supermercados da região oeste de São Paulo. **Higiene Alimentar**, [s.l.], v.14, n.78-79, p.59-62, 2000. Disponível em: <http://bases.bireme.br/cgi-bin/wxislind.exe/iah/online/?IsisScript=iah/iah.xis&src=google&base=LILACS&lang=p&nextAction=lnk&exprSearch=278521&indexSearch=ID>. Acesso em: 23 abr. 2019.

MURRAY, Patrick R.; ROSENTHAL, Ken S.; PFALLER, Michael A. **Microbiologia Médica**. 5. ed. Rio de Janeiro: Editora Elsevier, 2006.

OECD. **OECD-FAO Agricultural Outlook 2015-2024**. Paris: The Food and Agriculture Organization (FAO) of The United Nations, 2016. 148 p. Disponível em: [https://www.oecd-ilibrary.org/agriculture-and-food/oecd-fao-agriculturaloutlook\\_19991142](https://www.oecd-ilibrary.org/agriculture-and-food/oecd-fao-agriculturaloutlook_19991142). Acesso em: 6 jan. 2018.

OLIVEIRA, S. J. **Guia Bacteriológico Prático: Microbiologia Veterinária**. Canoas: Editora Da Ulbra, 2000, 144p.

OLIVEIRA, S. de *et al.* Avaliação das condições higiênico-sanitárias de carne bovina comercializada em supermercados de João Pessoa. *Alimento e Nutrição*, v. 19, n. 1, p. 61-66, 2008. Disponível em: <http://serv-bib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/alimentos/article/viewFile/201/206>. Acesso em: 24 abr. 2019

OLIVEIRA, Maria Santos *et al.* Qualidade físico-química e microbiológica da carne moída de bovino em açougues. **REDVET Revista Electrónica de Veterinaria**, [s.l.], v. 18, n. 12, p. 1-13, 2017. Disponível em: <https://www.redalyc.org/pdf/636/63654640032.pdf>. Acesso em: 20 jan. 2019.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Foodborne disease burden epidemiology reference group**. Geneva, WHO, 2015. 268p. Disponível em: [http://http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/199350/9789241565165\\_eng.pdf;jsessionid=06013CD907CEDCBA95CD66BFF340E0B1?sequence=1](http://http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/199350/9789241565165_eng.pdf;jsessionid=06013CD907CEDCBA95CD66BFF340E0B1?sequence=1). Acesso em: 07 nov. 2018.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE. **Codex alimentarius: Higiene dos Alimentos Textos Básicos**. Brasília: OPAS, 2003. 65p. Disponível em: [http://https://acisat.pt/wp-content/uploads/2016/10/codex\\_alimentarius.pdf](http://https://acisat.pt/wp-content/uploads/2016/10/codex_alimentarius.pdf). Acesso em: 07 nov. 2018.

PARDI, Miguel Cione. Constituintes básicos da carne. *In*: PARDI, Miguel Cione *et al.* **Ciência, higiene e tecnologia da carne**. 2. ed. Goiânia: Editora CEGRAF-UFG, 2005. Cap. 3

POSTOLLEC, Florence *et al.* Recent advances in quantitative PCR (qPCR) applications in food microbiology. **Food microbiology**, [s.l.], v. 28, n. 5, p. 848-861, 2011. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0740002011000505>. Acesso em: 25 nov. 2018.

RAMOS, Eduardo Mendes; GOMIDE, Lúcio Alberto de Miranda. **Avaliação da qualidade de carnes: fundamentos e metodologias**. Viçosa: Editora UFV, 2012, 599p.

ROSINA, Angélica; MONEGO, Fernanda. Avaliação microbiológica da carne bovina moída nas redes de supermercados de Canoinhas/SC. **Saúde Meio Ambiente**, Campo Grande, v. 2, n. 2, p. 55-64, 2013. Disponível em: <https://www.unc.br/pesquisa/sipex-anais/gt-4/ANGELICA%20ROSINA%20-%20AVALIA%C3%87%C3%83O%20MICROBIOL%C3%93GICA.pdf>. Acesso em: 30 dez. 2018.

SAMBROOK, Joseph *et al.* **Molecular Cloning: A Laboratory Manual**. 3. ed. [s.l.]: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001. Disponível em: <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19901616061>. Acesso em: 30 mar. 2018.

SANTANA, E. H. W. *et al.* Estafilococos em alimentos. **Arquivo do Instituto de Biologia**, São Paulo, v. 77, n. 3, p. 545-554, 2010. Disponível em: [https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/292603/mod\\_resource/content/1/Stapgylo.pdf](https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/292603/mod_resource/content/1/Stapgylo.pdf). Acesso em: 24 abr. 2019.

SARKIS, Flávia. **Avaliação das condições microbiológicas de carnes de animais silvestres no município de São Paulo**. 2002. 70f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, USP, Piracicaba, 2002. Disponível em: <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11141/tde-16122002-135024/en.php>. Acesso em: 11 abr. 2019.

SILVA-JÚNIOR, Antônio Carlos *et al.* Análises microbiológicas de carne bovina moída comercializada em supermercados. **PUBVET**, Maringá, v. 12, p. 131-138, 2018. Disponível em: <http://www.pubvet.com.br/artigo/5161/anaacutelises-microbioloacutegicas-de-carne-bovina-moiacuteda-comercializada-em-supermercados>. Acesso em: 28 mar. 2019.

SILVA, Josyane Brasil *et al.* Avaliação higiênico-sanitária de estabelecimentos comerciais e análise de micro-organismos indicadores em amostras de carne bovina (coxão mole) in natura comercializadas em mercados públicos. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 75, p. 01-07, 2016. Disponível em: [http://www.ial.sp.gov.br/resources/insituto-adolfo-lutz/publicacoes/rial/10/rial75\\_completa/artigos-separados/1709.pdf](http://www.ial.sp.gov.br/resources/insituto-adolfo-lutz/publicacoes/rial/10/rial75_completa/artigos-separados/1709.pdf). Acesso em: 20 fev. 2019.

SHINOHARA, Neide Kazue Sakugawa *et al.* *Salmonella* spp., importante agente patogênico veiculado em alimentos. **Ciência & Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v. 13, p. 1675-1683, 2008. Disponível em: [https://www.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1413-81232008000500031](https://www.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-81232008000500031). Acesso em: 23 fev. 2019.

SILVESTRE, Maria Kaliane da Silva *et al.* Avaliação da qualidade da carne bovina in natura comercializada no município de Alexandria-RN. **Acta veterinária Brasília**, Mossoró, v. 7, n. 4, p. 327-331, 2013. Disponível em: <https://revista.crcsc.org.br/index.php/acta/article/view/3529>. Acesso em: 20 fev. 2019.



SOUSA, Consuelo L. *et al.* Avaliação da qualidade microbiológica e físico-química da carne bovina moída em açougues do Município de Macapá-AP. **Higiene e alimentar**, [s.l.], v. 14, n. 72, p. 60-5, 2000. Disponível em: <http://bases.bireme.br/cgi-bin/wxislind.exe/iah/online/?IsisScript=iah/iah.xis&src=google&base=LILACS&lang=p&nextAction=lnk&exprSearch=262335&indexSearch=ID>. Acesso em: 20 fev. 2019.

SOUSA, Tatiane Maciel *et al.* Pathogenic microorganisms and indicators of hygienic-sanitary conditions in ground beef marketed in the city of Barra do Garças, MT, **Acta Veterinária Brasileira**, Mossoró, v. 6, n. 2, p.124–130, nov. 2012. Disponível em: <https://periodicos.ufersa.edu.br/revistas/index.php/acta/article/view/2646>. Acesso em: 24 fev. 2018.

UNIÃO EUROPÉIA. **Regulamento (CE) no 2073/2005**. Relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimentícios. Londres: Diário Oficial de la Unión Europea, [2005]. Disponível em: [http://bscw.rediris.es/pub/bscw.cgi/d311306-3/\\*/\\*DOCE/Rg207305.pdf](http://bscw.rediris.es/pub/bscw.cgi/d311306-3/*/*DOCE/Rg207305.pdf). Acesso em: 17 out. 2018.

VELHO, Ana Luiza M. C. de Souza *et al.* Avaliação qualitativa da carne bovina *in natura* comercializado em Mossoró-RN. **Acta Veterinaria Brasilica**, Brasília, v. 9, n. 3, p. 212-217, 2015. Disponível em: <https://rbmv.org/index.php/acta/article/view/5329>. Acesso em: 15 out. 2018.

VIDAL-MARTINS, Ana Maria Centola *et al.* Implantação e avaliação do programa de boas práticas de manipulação em açougues do Município de São José do Rio Preto-SP. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, São Paulo, v. 8, n. 2, p. 73-86, 2014. Disponível em: <http://www.higieneanimal.ufc.br/seer/index.php/higieneanimal/article/view/147>. Acesso em: 14 out. 2018.

VIEIRA-DA-MOTTA, Olney; FOLLY, Márcio Manhães; SAKYIAMA, Cássia Camargo Hagen. Detection of different Staphylococcus aureus strains in bovine milk from subclinical mastitis using PCR and routine techniques. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 32, n. 1, p. 27-31, 2001. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1517-83822001000100007&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1517-83822001000100007&script=sci_arttext). Acesso em: 10 out. 2018.

WELKER, Cassiano Aimberê Dorneles *et al.* Análise microbiológica dos alimentos envolvidos em surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTA) ocorridos no estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 8, n. 1, 2010. Disponível em: <http://www.ufrgs.br/seerbio/ojs/index.php/rbb/article/view/1322>. Acesso em: 11 mar. 2018.