

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

QUALIDADE DE CARNE BOVINA MOÍDA *IN NATURA*
COMERCIALIZADA EM MANAUS, AM

RODINEY MEDEIROS DOS REIS

MANAUS

2019

Rodiney Medeiros dos Reis

QUALIDADE DE CARNE BOVINA MOÍDA *IN NATURA*
COMERCIALIZADA EM MANAUS, AM

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal (PPGCAN) da Universidade Federal do Amazonas, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal, área de concentração Zootecnia e Recursos Pesqueiros.

Orientador: Prof. Felipe Faccini dos Santos, Dr.

Coorientador: Prof. Antônio José Inhamuns, Dr.

Manaus

2019

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

R375q Reis, Rodiney Medeiros dos
Qualidade de carne bovina moída in natura comercializada em
Manaus, AM / Rodiney Medeiros dos Reis. 2019
60 f.: 31 cm.

Orientador: Felipe Faccini dos Santos
Coorientador: Antônio José Inhamuns
Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade
Federal do Amazonas.

1. Coliformes. 2. Conservação. 3. Contaminação. 4. Salmonella.
5. Staphylococcus. I. Santos, Felipe Faccini dos II. Universidade
Federal do Amazonas III. Título



ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO

No dia 14 de março de 2019, às 09:00 horas, na Sala de Aula do PPGCAN, Bloco da Pós-Graduação FCA/ICB, Setor Sul do Campus Universitário da UFAM, Manaus/AM, **Rodiney Medeiros dos Reis**, realizou a Defesa de Dissertação de Mestrado intitulada “Qualidade de carne bovina moída *in natura* comercializada em Manaus, Amazonas”.

Banca Examinadora:

Membros	Parecer	Assinatura
Dr. Felipe Faccini dos Santos (IFAM) – Presidente	Aprovado (X) Reprovado ()	
Dr. Pedro Henrique Campelo Félix (UFAM) – Membro	Aprovado (X) Reprovado ()	
Dra. Isnândia Andrea Almeida da Silva (IFAM) – Membro	Aprovado (X) Reprovado ()	

Manaus, 14 de março de 2019

Resultado Final: Aprovado (X)
Reprovado ()



À minha esposa Raquel Reis, pelo amor e paciência.

Aos meus pais Reis e Valquíria, pelo apoio incondicional.

Dedico

Agradecimentos

Ao meu Deus, por me sustentar em mais uma etapa de minha vida, me dando sabedoria e sendo meu refúgio em todo tempo.

A minha esposa Márcia Raquel Reis, por me apoiar com amor, paciência e dedicação em meio às dificuldades e ausência em prol de uma conquista maior. Estamos juntos até o fim!

Ao meu pai Rosquildes Reis e minha mãe Valquíria Reis, por serem o fundamento sólido de todas as minhas conquistas. Por todo investimento, apoio, conselhos e motivação que fizeram a diferença antes, durante e ao fim de mais essa etapa.

Ao meu orientador, professor Dr. Felipe Faccini Santos, pela paciência, apoio irrestrito e por estar sempre pronto a compartilhar conhecimento durante esses dois últimos anos, me tornando melhor, tanto profissionalmente quanto como pessoa.

Ao meu co-orientador, professor Dr. Antônio José Inhamuns, pela boa vontade e pronta ajuda em disponibilizar seu laboratório e me co-orientar na fase final do experimento, para realização dos últimos ensaios, as análises físico-químicas.

À amiga, Érika Tavares Pimentel, por ser a melhor parceira de experimento, ajudando durante a etapa mais crucial das análises e pela amizade que construímos ao longo dessa jornada.

Às acadêmicas do Curso de Medicina Veterinária do Instituto Federal do Amazonas, Joziane Silva de Souza, Bianca Cristina de Oliveira e Ananda Santiago, pela amizade, companhia, apoio e consolidação do projeto e materialização dos resultados.

À amiga de longas datas, Ma. Luciene Siqueira Vasconcelos, pela amizade, apoio, conselhos e companhia durante o aprendizado na etapa de microbiologia, o qual foi fundamental no início do experimento.

À amiga Ma. Cristiane Cunha Guimarães, pelo treinamento noites afora, nas etapas de composição centesimal. Ajuda sem a qual não poderia ter sido concluído o experimento.

Ao amigo Moisés Chagas, pela parceria e apoio durante a maratona de preparo de meios.

Aos amigos Carlos Alexandre Farias e Leandro Maquiné pelo apoio, motivação e amizade construída ao longo das etapas percorridas.

Ao técnico de laboratório Carlos Ferreira pelo apoio nas análises da composição centesimal.

Aos colegas do PPGCAN, por termos vivenciado juntos esse desafio que levaremos nas lembranças ao longo dos anos.

Meus sinceros agradecimentos!

“... gloriamo-nos nas tribulações, sabendo que a tribulação produz perseverança, a perseverança produz experiência e a experiência produz esperança.”

Romanos 5: 3-4

RESUMO

A carne moída destaca-se dentre os produtos cárneos populares e oferece um elevado risco de contaminação, por apresentar maior superfície de contato, além de sofrer maior manipulação, podendo assim se tornar um grande veiculador de microrganismos, tanto deterioradores quanto patogênicos. O objetivo deste estudo foi avaliar a ocorrência de microrganismos contaminantes, bem como avaliar a qualidade físico-química e a composição centesimal da carne moída *in natura* comercializada na cidade de Manaus, Amazonas. Foram realizadas 16 coletas em duas redes de supermercados, sendo oito em cada, e coletas em oito açougues, contemplando as quatro regiões da cidade para melhor distribuição da amostragem. De cada estabelecimento, foram adquiridas duas embalagens, sendo uma proveniente de carne previamente moída e outra da carne moída no momento da aquisição, totalizando 48 amostras, analisadas entre janeiro a dezembro de 2018. As análises microbiológicas e físico-químicas seguiram a metodologia preconizada na legislação Federal. As carnes previamente moídas não apresentaram diferença com as moídas no momento da aquisição para o número de *S. aureus*, coliformes termotolerantes e bolores e leveduras, mas tendo ocorrido alta contagem em ambos os processos. Carnes previamente moídas apresentaram maiores números de mesófilos e psicrotróficos. Foi detectada a presença de *Salmonella* spp. e temperatura acima do determinado pela legislação, independentemente do tipo de apresentação da carne moída e do estabelecimento. A carne previamente moída apresentou maior teor de lipídeos, maior teor de amônia e menor teor de umidade e cinzas, sendo o processo com maior número de inconformidades quando comparado à carne moída na aquisição. A rede de supermercados A apresentou maior contagem de mesófilos que a rede de supermercados B. As contagens de mesófilos, psicrotróficos e bolores e leveduras foram elevadas em todos os estabelecimentos. Nos açougues foi observada elevadas contagens de coliformes termotolerantes e *S. aureus*. A rede de supermercados B apresentou o menor valor de pH e o maior teor de lipídeos. A carne moída comercializada em Manaus apresentou baixa qualidade microbiológica e físico-química, possuindo potencial risco ao consumidor local. É fundamental um rígido controle de higienização e sanitização nos setores de manipulação, bem como intensificação das auditorias internas e externas, pra diminuir riscos de doenças transmitidas por alimentos aos consumidores.

Palavras-chave: coliformes, conservação, contaminação. *Salmonella*, *Staphylococcus*.

ABSTRACT

The ground beef stands out as a popular meat product but offers a high risk of contamination. That brings the possibility to become a great carrier of microorganisms, both deteriorating and pathogenic, since it has a larger contact surface and suffer higher manipulation. The objective of this study was to evaluate the occurrence of contaminating microorganisms, as well as the physicochemical quality and composition of the ground beef commercialized in the city of Manaus, Amazonas. Sixteen samples were collected from two supermarket chains, with eight samples from each chain, and samples from eight butcher shops, covering the four regions of the city. From each establishment, two types of ground beef were purchased, ground at the moment of acquisition and previously ground and stored in refrigerated shelves, with a total of 48 samples analyzed from January to December 2018. Analyzes were carried out according to methodologies defined by Federal laws. There was no difference between the meat ground at the moment of acquisition and previously ground meat for *Staphylococcus aureus*, fecal coliforms and molds and yeasts numbers, although both processes showed high counts. Previously ground beef had higher numbers of mesophilic and psychrotrophic bacteria. The presence of *Salmonella* spp. and temperature above the limit determined by legislation was observed regardless of ground beef and establishment type. The previously ground beef presented higher lipid content, higher ammonia content and lower moisture and ash content, type of meat that had the greatest number of failures when compared to the ground beef in the acquisition. The market chain A had a higher count of mesophiles than the market chain B. The counts of mesophiles, psychrotrophs and molds and yeasts were high in all establishments. In the butcher shops, high counts of thermotolerant coliforms and *S. aureus* were observed. The market chain B had the lowest pH value and the highest lipid content. Ground meat commercialized in Manaus had low microbiologic and physicochemical quality, representing potential risk to local consumers. It is essential to have hygiene and sanitation control in the handling sectors, as well as intensification of internal and external audits, to reduce foodborne illness risk to consumers.

Key words: coliforms, conservation, contamination, *Salmonella*, *Staphylococcus*.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Valores médios da contagem de microrganismos mesófilos aeróbios estritos e facultativos viáveis (CM), psicrotróficos aeróbios estritos e facultativos (CP), coliformes termotolerantes (CT), <i>Staphylococcus aureus</i> (SA) e bolores e leveduras (CBL), obtidos das amostras de carne nas formas de apresentação (FA): carne moída na aquisição (CMA) e carne previamente moída (CPM)	40
Tabela 2. Valores de frequência das alterações físico-químicas na prova de Nessler, aspecto, cor e odor do filtrado e odor, consistência e cor do caldo pós prova de cocção das amostras de carne moída nos estados de conservação: carne moída na aquisição (CMA) e carne previamente moída (CPM).....	41
Tabela 3. Valores médios \pm desvio padrão (DP) da Temperatura, pH, umidade, proteína, lipídeos e cinza, obtidos das amostras de carne nas formas de apresentação (FA): carne moída na aquisição (CMA) e carne previamente moída (CPM).....	43
Tabela 4 - Valores médios da contagem de microrganismos mesófilos aeróbios estritos e facultativos viáveis (CM), psicrotróficos aeróbios estritos e facultativos (CP), coliformes termotolerantes (CT), <i>Staphylococcus aureus</i> (SA) e bolores e leveduras (CBL) obtidos das amostras de carne moída dos estabelecimentos: rede de supermercados A, rede de supermercados B e açougues.....	45
Tabela 5 – Valores de frequência das alterações físico-químicas na prova de Nessler, aspecto, cor e odor do filtrado na prova de filtração e odor e consistência na prova de cocção obtidos das amostras de carne moída dos estabelecimentos: rede de supermercado A, Rede de supermercado B e açougues.....	46
Tabela 6 - Valores médios \pm desvio padrão (DP) da Temperatura, pH, umidade, proteína, lipídeos e cinza, obtidos das amostras de carne moída amostras de carne moída dos estabelecimentos: rede de supermercados A, rede de supermercados B e açougues.....	47
Tabela 7 – Percentuais de inconformidades fora do padrão recomendado para as formas de apresentação da carne moída e entre os estabelecimentos.....	48
Tabela 8 – Qualidade geral considerando pH, amônia (IN. 20/1999), Coliformes termotolerantes, <i>Staphylococcus aureus</i> Coagulase positiva, <i>Salmonella</i> spp. (RDC 12, 2001) e Lipídeos (IN. 83/2003) entre as formas de exposição.....	48

Tabela 9 – Qualidade geral considerando pH, amônia (IN. 20/1999), Coliformes termotolerantes, <i>Staphylococcus aureus</i> Coagulase positiva, <i>Salmonella</i> spp. (RDC 12, 2001) e Lipídeos (IN. 83/2003) entre os estabelecimentos.....	49
Tabela 10 – Qualidade geral considerando pH, amônia (IN. 20/1999), Temperatura (IN. 83/2003) , Coliformes termotolerantes, <i>Staphylococcus aureus</i> Coagulase positiva, <i>Salmonella</i> spp. (RDC 12, 2001) e Lipídeos (IN. 83/2003) entre os estabelecimentos.....	49
Tabela 11 – Qualidade geral considerando pH, amônia (IN. 20/1999), Temperatura (IN. 83/2003) , Coliformes termotolerantes, <i>Staphylococcus aureus</i> Coagulase positiva, <i>Salmonella</i> spp. (RDC 12, 2001) e Lipídeos (IN. 83/2003) entre os estabelecimentos.....	50

LISTA DE SIGLAS

ABIEC - Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne
ADAF - Agência de Defesa Agropecuária e Florestal do Amazonas
BDA - Ágar batata dextrose
BHI - Brain Heart Infusion (Infusão de Cérebro Coração)
BPA - Ágar Baird-Parker
CBL - Contagem de bolores e leveduras
CDC - Centers for Disease Control and Prevention
CLA - Conjugated Linoleic Acid (Ácido linoleico conjugado)
CM - Contagem de mesófilos
CP - Contagem de psicotróficos
CT - Coliformes termotolerantes
DTAs - Doenças transmitidas por alimentos
ICMSF - International Commission on Microbiological Specifications for Foods
IN - Instrução Normativa
LIA - Lisine Iron Agar (Ágar lisina ferro)
MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
NMP - Número mais provável
PCA - Plate Count Agar (Ágar Padrão de Contagem)
RIISPOA - Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal
RV - Rappaport Vassiliadis
SA - *Staphylococcus aureus*
SC - Selenito Cistina
SIM - Ágar Sulfeto Indol Motilidade
STEC - *Shiga-toxin Escherichia coli*
TSI - Triple Sugar Iron Agar (Ágar triplo açúcar ferro)
USDA - United States Department of Agriculture
VB - Ágar Verde Brilhante
XLD - Ágar Xilose Lisina Desoxicolato

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 DESENVOLVIMENTO.....	17
2.1 REVISÃO DE LITERATURA.....	17
2.1.1 Mercado da carne bovina no Brasil.....	17
2.1.1.1 Consumo de carne moída	17
2.1.2 Produção de carne bovina no Estado do Amazonas	18
2.1.3 Composição da carne bovina e sua importância para a saúde	18
2.1.4 Transformação do músculo em carne, características físico-químicas e alterações.....	20
2.1.5 Carne moída e suas especificações.....	21
2.1.6 Microbiologia da carne moída <i>in natura</i>	22
2.1.6.1 Limites recomendados	24
2.1.6.2 Microrganismos mesófilos aeróbios.....	24
2.1.6.3 Microrganismos psicrotróficos aeróbios	25
2.1.6.4 Bolores e leveduras.....	25
2.1.6.5 Coliformes termotolerantes	26
2.1.6.6 <i>Staphylococcus aureus</i> coagulase positiva	28
2.1.6.7 <i>Salmonella</i> spp.....	29
2.2 MATERIAIS E MÉTODOS	30
2.2.1 Delineamento da pesquisa	30
2.2.2 Avaliação da qualidade microbiológica	31
2.2.2.1 Preparo das amostras	31
2.2.2.2 Contagem padrão de microrganismos mesófilos aeróbios estritos e facultativos (CM) e de microrganismos psicrotróficos aeróbios estritos e facultativos viáveis (CP).	31
2.2.2.3 Contagem de bolores e leveduras	31

2.2.2.4	Determinação do número mais provável de coliformes termotolerantes	32
2.2.2.5	Contagem de <i>Staphylococcus aureus</i> coagulase positiva.....	32
2.3.2.6	Pesquisa de <i>Salmonella</i> spp.....	33
2.2.3	Avaliação da qualidade físico-química e composição centesimal	33
2.2.3.1	Preparo das amostras	33
2.2.3.2	Prova de filtração.....	34
2.2.3.3	Prova de cocção	34
2.2.3.4	Determinação do pH (método potenciométrico).	34
2.2.3.5	Prova de amônia (Nessler).....	34
2.2.3.6	Umidade	35
2.2.3.7	Cinzas	35
2.2.3.8	Determinação de lipídeos (método de Bligh-Dyer).....	35
2.3.3.9	Proteína.....	36
2.2.4	Análise dos dados	37
2.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	38
3	CONCLUSÃO.....	51

1 INTRODUÇÃO

Com o avançar dos anos, a população tem buscado cada vez mais alternativas práticas e com economia. Esse comportamento pode ser observado em todos os segmentos da vida do ser humano. Um hábito que tem demonstrado mudanças significativas se refere à alimentação, que devido aos fortes reflexos decorrentes das crises que o País tem sofrido, favorecendo uma transição para fontes de alimento cada vez mais baratas. Entretanto, com o acesso à informação, as pessoas têm se tornado exigentes com o alimento que irá ser servido em sua mesa. Desta forma, apesar de buscar economia, a população procura também por alimentos seguros e de qualidade, que possam trazer bem-estar e prover todos os nutrientes necessários para a saúde, além de não trazer nenhum dano a saúde, por menor que seja.

O alimento seguro é aquele que não traz riscos à saúde do consumidor por meio das contaminações, que podem ser de origem física, química ou microbiológica. As doenças transmitidas por alimentos de origem microbiana são muito prevalentes no Brasil e no mundo, podendo ocorrer sob a forma de surto ou individualmente. A contaminação bacteriana de alimentos representa sério problema à segurança dos alimentos, sendo responsável por mais de 92,2% das ocorrências de enfermidades transmitidas por alimentos entre os anos de 2000 e 2017 (BRASIL, 2018).

A carne bovina possui muitas propriedades nutricionais, tais como proteínas, ácidos graxos, vitaminas e minerais para o bom funcionamento do organismo. Entretanto, devido ao menor poder aquisitivo, parte significativa da população prefere carnes que também possuem bons parâmetros nutricionais, mas com menor valor de mercado, como a carne de frango e peixes. Uma forma alternativa e econômica de ter acesso aos benefícios da carne bovina é através da carne moída, que se destaca por sua popularidade, praticidade no preparo, versatilidade e disponibilidade nos variados estabelecimentos de comercialização. A carne moída é comercializada desde pequenos empreendimentos como açougues a grandes redes de supermercados e hipermercados, tendo como característica primordial o baixo custo, que favorece e estimula o consumo.

O processo produtivo consistindo no fracionamento e diminuição dos tecidos cárneos em tamanho reduzido pela moagem, torna a carne moída um produto mais exposto e passível à contaminação. Este processo de fracionamento ocasiona uma maior superfície de contato, aumentando a probabilidade de se tornar um veiculador de microrganismos patogênicos, comprometendo a segurança do produto e trazendo doenças ao consumidor. Sua

contaminação em geral pode decorrer por falhas em quaisquer etapas do processamento da cadeia produtiva. Dentre essas, a obtenção da matéria prima, o transporte, o acondicionamento em temperaturas inadequadas e a má higiene favorecem a multiplicação bacteriana. Portanto, estas falhas resultam na diminuição do prazo de validade comercial do produto, devido a deterioração da qualidade físico-química pelos microrganismos.

O Código Sanitário de Manaus descreve que nos estabelecimentos que comercializem carnes será facultada a venda de carne fresca moída, sendo feita essa operação, obrigatoriamente em presença do comprador, ficando, porém, proibido mantê-la estocada nesse estado (MANAUS, 1997). Entretanto é comum nos balcões frigorificados de açougues e supermercados em Manaus encontrarmos a carne moída exposta nas vitrines, contrariando a legislação vigente, o que aliado à temperatura e acondicionamento inadequado, maus hábitos de higiene dos manipuladores ou ainda limpeza e sanitização deficiente de equipamentos e utensílios pode se tornar um risco iminente de contaminação da carne com prejuízo à saúde do consumidor.

Com base nesse contexto, se torna de fundamental importância abordar a segurança dos alimentos, com destaque a carne bovina moída *in natura*. É importante conhecer e prevenir a presença destes microrganismos, que encontram na carne um ambiente propício para a sua proliferação. Além disto, investigar os aspectos físico-químicos que determinam a qualidade, trazendo garantias à população do fornecimento de um produto que não represente riscos à sua saúde. Por isso, o objetivo desse trabalho foi determinar o perfil da qualidade microbiológica e físico-química da carne moída *in natura* disponível para consumidores na cidade de Manaus-AM e se a forma de apresentação deste produto ao consumidor, afeta sua qualidade.

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 REVISÃO DE LITERATURA

2.1.1 Mercado da carne bovina no Brasil

O consumo de carne bovina como fonte de proteína animal é um hábito tão consolidado no Brasil que segundo os dados da ABIEC (2018), em quase uma década, o montante gerado pela cadeia produtiva da pecuária de corte aumentou mais de 80%, incluindo desde os insumos utilizados na produção do gado, passando pelo faturamento da venda dos animais, até o total comercializado pelas indústrias e varejo. Somente em 2017, a pecuária de corte movimentou R\$ 523,25 bilhões representando um crescimento de 3,6% em relação aos R\$ 504 bilhões somados em 2016.

Em 2017 o rebanho bovino brasileiro era de 221,81 milhões de cabeças (ABIEC, 2018). O número de abates foi de 30,87 milhões de cabeças com destaque ao Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Goiás, São Paulo, Pará, Minas Gerais, Rondônia e Rio Grande do Sul, que lideram os abates, com 77,6% dos abates no país (IBGE, 2018). Do total de carne produzida, 20% foi exportada e 80% abasteceu o mercado interno, garantindo um consumo de 37,5 quilos de carne bovina por habitante em 2017 (ABIEC, 2018).

Além do expressivo consumo interno, as exportações continuam crescendo em volume e importância para a balança comercial nacional. O Brasil é o maior exportador mundial de carne bovina, sendo que somente a exportação de carnes bovinas respondeu por 6,2 bilhões de dólares em 2017, com principais destinos a Hong Kong, China, União Europeia, Irã, Egito, Rússia e Estados Unidos (ABIEC, 2018).

Portanto, para que toda esta riqueza gerada durante a produção destes animais não seja desperdiçada, deve ser dispendida especial atenção para as etapas do processamento e destino até o consumidor final, último elo da cadeia.

2.1.1.1 Consumo de carne moída

O consumo de carne moída teve um grande aumento desde três décadas atrás, tanto em países desenvolvidos como nos países em desenvolvimento, dado ao fato dela ser uma forma melhor e mais conveniente de se aproveitar as carnes menos nobres, de 2ª e 3ª categorias,

além de ser de baixo preço e permitir a inclusão de substâncias mais baratas (ALMEIDA e SCHNEIDER, 1983).

Caracteriza-se como produto popular, acessível à faixa da população com menor poder aquisitivo e a utilização em refeições de maneiras práticas (MOTTA *et al.*, 2000) como sanduíches, salgadinhos e complemento de diversos pratos, podendo ainda ser adicionados de amidos, farinhas e derivados proteicos vegetais, como soja estimulam sua procura (ALMEIDA; SCHNEIDER, 1983).

2.1.2 Produção de carne bovina no Estado do Amazonas

O rebanho bovino no Estado do Amazonas era de 1.308.719 cabeças em 2017, representando 0,6% do rebanho brasileiro e os números de abate foram 257.559 cabeças (MAPA, 2017). Segundo dados da Agência de Defesa Agropecuária e Florestal do Amazonas (ADAF), ao final de 2017 o quantitativo de produção de carne bovina no Amazonas foi de 33.354.665,10 milhões de toneladas produzidas em nove abatedouros legalizados no Serviço de Inspeção Estadual (ADAF, 2017).

No Amazonas, a carne bovina tem origem principalmente nos municípios do Sul (Boca do Acre, Apuí e Manicoré) e na região central do estado (Careiro da Várzea, Parintins e Itacoatiara). Os municípios Apuí, Boca do Acre e Manicoré possuem os maiores números de abates de bovinos, representando 52% de todo o quantitativo abatido. Contudo é importante se destacar que 70% da carne bovina consumida no Amazonas vêm de outros estados na forma resfriada, como Acre, Rondônia, Roraima e Mato Grosso (CARRERO *et al.*, 2015).

2.1.3 Composição da carne bovina e sua importância para a saúde

A alimentação humana é fundamental para a manutenção da homeostasia. É através da ingestão diária de alimentos que se consegue todos os elementos necessários ao metabolismo, como proteínas, carboidratos, lipídios, sais minerais e vitaminas (MARCHI, 2006).

Dentre essas, a carne bovina se destaca por ser rica em proteínas de alta qualidade, ácidos graxos essenciais, vitaminas do complexo B (tiamina, riboflavina, niacina, biotina, ácido pantotênico, ácido fólico, B6 e B12) e alto teor de minerais (K, P, Mg, Fe, Zn) (VALLE, 2000).

Segundo o RIISPOA carnes são as massas musculares e os demais tecidos que as acompanham, incluída ou não a base óssea correspondente, procedentes das diferentes

espécies animais, julgadas aptas para o consumo pela inspeção veterinária oficial (BRASIL, 2017).

O tecido muscular esquelético representa aproximadamente 50% do peso da carcaça do gado bovino (ORDONEZ *et al.*, 2005). Os músculos que compõem a carne são estriados de contração voluntária e sua unidade estrutural é a fibra muscular. As fibras musculares são constituídas de uma membrana externa (sarcolema), de um citoplasma diferenciado (sarcoplasma), que está praticamente tomado pelas miofibrilas. O sarcômero constitui a menor unidade contrátil estrutural repetitiva da miofibrila, apresentando um papel importante no ciclo de contração e relaxamento muscular por meio das proteínas actina e miosina (ALVES e MANCIO, 2017).

A composição química da carne difere devido a fatores tais como espécie, idade, raça, sexo, tipo de alimentação, corte ou músculo analisado. Esse alimento é composto principalmente de água (65% a 80%), proteína (16% a 22%) e gordura (3% a 13%). Além dos componentes principais, também contêm cinzas e pequenas quantidades de outras substâncias, como as nitrogenadas não proteicas (aminoácidos livres, peptídeos, nucleotídeos, creatina), carboidratos, ácido láctico, minerais e vitaminas (ORDONEZ *et al.*, 2005)

Ao longo dos anos, o consumo foi visto com certa aversão por parte dos consumidores, devido ao imaginário de que a carne bovina seria fonte de colesterol e gordura em excesso e poderia contribuir para as doenças cardiovasculares (MEDEIROS, 2008; VALLE, 2000). Contudo, a carne bovina possui taxas de gordura e colesterol semelhantes às da carne de aves e suínos, sendo os teores de ferro mais elevados (TACO, 2011).

A carne bovina possui altas concentrações de ácido linoleico conjugado (CLA), também denominado ácido bovínico, que associado a vários efeitos benéficos a saúde, previne e combate o câncer. O ferro presente na sua forma heme é facilmente absorvido e atua na absorção da forma não-heme encontrada nos vegetais, além de dar suporte ao sistema imunológico e formar a hemoglobina dos glóbulos vermelhos, responsável pelo transporte de oxigênio. A alta concentração de zinco, maior na carne bovina quando comparada as demais, desempenha funções importantes no sistema imunológico (VALLE, 2000). Apenas cerca de 22% das pessoas que se abstêm de carne conseguem atender em 100% as exigências de Ferro, contra 45% daquelas que consomem cerca de 100 g de carne bovina por dia. Esses resultados são muito semelhantes para zinco (MEDEIROS, 2008).

Convém ressaltar que o consumo excessivo de gorduras, tanto de origem animal como vegetal, representa fator de risco à saúde, o que aliado a demais fatores de risco controláveis (inatividade física, estresse, fumo, pressão alta, diabete) e não controláveis (histórico familiar

e idade) favorecem o desenvolvimento das doenças crônicas degenerativas. Entretanto, quando sua ingestão ocorre de forma consciente e controlada, é altamente benéfica à saúde, conferindo sabor aos alimentos e desempenhando papel importante no transporte e absorção das vitaminas lipossolúveis A, D, E e K (VALLE, 2000).

2.1.4 Transformação do músculo em carne, características físico-químicas e alterações

A carne possui características organolépticas tais como a cor vermelha brilhante, odor e sabor típicos, suculência e maciez (PARDI *et al.*, 1993). Associadas ao seu valor nutritivo, esse produto torna-se um dos alimentos de origem animal mais valorizado pelos consumidores (ALVES; MANCIO, 2007).

Essas características estão intimamente associadas e dependentes dos processos normais da transformação do músculo em carne, que se iniciam logo após a morte do animal e interrupção do fluxo sanguíneo ao músculo. A actomiosina constitui a maior parte das proteínas fibrilares existentes no músculo *post mortem* e se forma através da integração entre a actina e a miosina, resultando num estado de rigidez e de relativa inextensibilidade muscular, denominada rigidez cadavérica (*rigor mortis*) (ALVES; MANCIO, 2007).

Um dos fatores primordiais na transformação do músculo em carne, é a queda do pH após o abate para 5,5, que decorre do acúmulo de ácido láctico pela via anaeróbica de degradação da glicólise (PARDI *et al.*, 1993). Esse processo está relacionado com a cor, textura, maciez e a capacidade de retenção de água. A velocidade e intensidade para a queda do pH irá depender da espécie animal, do nível das atividades pré-abate, temperatura e velocidade do resfriamento da carcaça (STERN, 2016).

A velocidade de queda do pH tem relação direta com a temperatura. A queda lenta de temperatura da carcaça causa uma redução mais rápida do pH, já a diminuição brusca da temperatura acarretará a lenta queda de pH. Isso ocorre devido ao fato de que a queda brusca de temperatura impede as reações bioquímicas que produzem o ácido láctico, diminuindo a velocidade de declínio do pH (ALVES; MANCIO, 2007).

Na transformação do músculo em carne, ocorre a perda da condição de homeostase, perda de proteção frente à invasão bacteriana, perda da integridade estrutural, a degradação enzimática e as modificações físico-químicas. Essas alterações traduzem-se pela degradação de proteínas, lipídeos, carboidratos e outras moléculas, que se reduzem à outras mais simples por ação de enzimas hidrolíticas endógenas presentes no músculo, assim como de enzimas ativas derivadas dos microrganismos (PARDI *et al.*, 1993).

2.1.5 Carne moída e suas especificações

Conforme o RIISPOA, produtos cárneos são aqueles obtidos de carnes, de miúdos e de partes comestíveis das diferentes espécies animais, com as propriedades originais das matérias-primas modificadas por meio de tratamento físico, químico ou biológico, ou ainda pela combinação destes métodos em processos que podem envolver a adição de ingredientes, aditivos ou coadjuvantes de tecnologia (BRASIL, 2017).

Entende-se por carne moída o produto cárneo obtido a partir da moagem das massas musculares de carcaças de bovinos, seguido de resfriamento ou congelamento (BRASIL, 2003a).

Segundo Grácia (2011), a caracterização dos conteúdos de gordura, umidade, colágeno e proteína da carne moída, bem como o estabelecimento de parâmetros são decisivos para a obtenção de preparações padronizadas, saudáveis e apetitosas, possibilitando atender às expectativas do consumidor em relação à qualidade do produto.

Quanto às suas características, a carne moída deve apresentar teor máximo 15% de lipídeos (Quadro 1), água como ingrediente opcional em teor máximo de 3%. A matéria prima a ser utilizada deve estar isenta de tecidos inferiores como ossos, cartilagens, gordura parcial, aponevroses, tendões, coágulos, nodos linfáticos (BRASIL, 2003a) e apresentar pH entre 5,8 a 6,4 (BRASIL, 1999). Conforme Grácia (2011), diferenças na composição das matérias-primas cárneas originarão produtos não padronizados em suas características organolépticas.

Quadro 1. Composição centesimal da carne bovina *in natura* e do corte bovino patinho

Composição	Carne bovina <i>in natura</i>	Patinho
Umidade	65,0 a 80,0 %	72,9
Proteína	16,0 a 22,0 g	21,7 g
Lipídeos	3,0 a 13,0 g	4,5 g
Cinzas	1,0 g	1,0 g
Carboidratos	0,0 g	0,0 g

Fonte: Adaptada de ORDONEZ *et al.* (2005); TACO (2011).

As tecnologias de conservação permitidas para a carne bovina moída são a refrigeração ou congelamento, que devem ser empregados logo após o processamento. Logo após a moagem a carne deve sair do processo com uma temperatura de no máximo 7,0 °C, em local próprio para moagem com temperatura ambiente não superior a 10,0 °C, devendo ser armazenadas no máximo a 4,0 °C para carnes refrigeradas ou no mínimo a -18,0 °C para carnes congeladas, devendo ser embaladas imediatamente após a moagem (BRASIL, 2003a).

Quanto à exposição à venda, nos estabelecimentos que comercializam carnes em Manaus é proibido mantê-la exposta ou estocada previamente moída, sendo permitido a moagem somente quando essa operação é realizada obrigatoriamente na presença do consumidor (MANAUS, 1997).

2.1.6 Microbiologia da carne moída *in natura*

São consideradas doenças transmitidas por alimentos (DTAs) as enfermidades “causadas pela ingestão de um alimento contaminado por um agente infeccioso específico, ou pela toxina por ele produzida, por meio da transmissão desse agente, ou de seu produto tóxico” (BRASIL, 2001), tais como bactérias, vírus, parasitas, príons, agrotóxicos, substâncias químicas e metais pesados (BRASIL, 2018). Ao ingerir um alimento contaminado com microrganismos ou toxinas, o indivíduo pode desenvolver uma infecção e intoxicação alimentar, respectivamente (FORSYTHE, 2013).

As DTAs resultam em consequências à saúde humana bastante variáveis, dependendo de sua natureza, estágio de desenvolvimento, idade, susceptibilidade individual, patogenicidade do agente e número de organismos ingeridos (TAVARES; SERAFINI, 2006). Dependendo do microrganismo envolvido, os sintomas podem ser desde um desconforto intestinal moderado à desidratação severa, ou diarreia hemorrágica e morte (MARCHI, 2006). Esses incidentes no qual duas ou mais pessoas apresentam a mesma doença, sintomas similares ou excretam os mesmos patógenos e que possui uma associação de tempo, lugar e/ou pessoa são denominados surtos (FORSYTHE, 2013).

No Brasil, de acordo com o perfil epidemiológico das DTAs entre os anos de 2000 a 2017, obteve-se o maior percentual de agentes etiológicos dos surtos notificados foram bactérias (92,2%), seguido por vírus (6,0%), agentes químicos/outros (1,2%) e protozoários e helmintos (0,6%) (BRASIL, 2018).

A carne, por suas características intrínsecas, como composição química, elevada atividade de água e pH próximo à neutralidade, é um ótimo meio para a multiplicação de microrganismos (FONTOURA *et al.*, 2010). Por isso, um excelente meio de cultura e frequentemente está envolvida na disseminação de microrganismos patogênicos causadores de enfermidades ao homem e a outros animais (BRASIL, 1997). Dados do Ministério da Saúde descrevem que nos últimos 10 anos a carne bovina *in natura*, processados e miúdos foram o sexto principal alimento identificados isoladamente relacionados às DTAs, sendo responsáveis por 5,3% dos casos (BRASIL, 2019).

A manipulação e o armazenamento inadequados, a aquisição de carne de origem desconhecida ou duvidosa (sem identificação, prazo de validade e data de embalagem) são fatores responsáveis por surtos de origem alimentar que trazem risco à saúde do consumidor (OLIVEIRA *et al.*, 2008). Além disso, a inadequação no transporte e suas etapas posteriores tais como o processo de refrigeração, sucessivos processos de congelamento e descongelamento, subdivisão das peças, exposição ao ar e ao ambiente, condições e técnicas de manipulação, embalagem inadequada, também são consideradas importantes fontes de contaminação para a carne (EVANGELISTA, 2005).

Os tipos de deterioração em carnes podem ser classificados de acordo com a atmosfera que envolve os produtos e se são provocados por bactérias, bolores ou leveduras. A carne refrigerada será deteriorada por microrganismos que crescem nessas temperaturas, incluindo muitos daqueles capazes de produzir limosidade superficial, alterações na cor e pontos de crescimento superficial enquanto que microrganismos putrefativos requerem temperaturas mais elevadas (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

A carne moída apresenta um potencial de contaminação destacável por ser, muitas vezes, proveniente de retalhos de outras carnes e sofrer grande manipulação em seu processamento, além de, comumente, permanecerem em temperatura ambiente por longos períodos (NASCIMENTO *et al.*, 2014). Quando proveniente de vários cortes, frequentemente, apresenta uma contagem microbiológica maior que aquela proveniente de grandes cortes. Isso porque essa carne sofre maior manipulação e, um único pedaço contaminado pode espalhar sua microbiota para todo o restante. Também os moedores e os utensílios de corte dos estabelecimentos comercializadores de carnes são importantes fontes de contaminação, pois geralmente não passam por limpeza e sanitização com a frequência necessária (FERREIRA; SIMM, 2012).

Esses fatores, além de favorecerem a multiplicação de uma microbiota normal composta predominantemente por bactérias Gram-negativas da família *Enterobacteriaceae* e do gênero *Pseudomonas* e por Gram-positivas dos gêneros *Enterococcus*, *Lactobacillus* e *Staphylococcus*, propiciam o aparecimento de bactérias patogênicas como *Clostridium perfringes*, *S. aureus*, *Salmonella* spp., alguns sorotipos de *Escherichia coli* e, ocasionalmente, *Yersinia enterocolitica*, *C. botulinum*, *Bacillus cereus* (NASCIMENTO *et al.*, 2014) e *Listeria monocytogenes* (MANTILLA *et al.*, 2007).

Quando relacionados os achados microbiológicos em carne moída na cidade de Manaus, Aquino *et al.*, (1992) avaliou a presença de *Salmonella* ssp em 50 amostras obtidas de supermercados e açougues, sendo o único trabalho realizado com esse produto cárneo e

limitado somente a esse microrganismo, cuja prevalência correspondeu a 20%. São escassos dados relatados em literatura sobre microrganismos deteriorantes e patogênicos no Amazonas.

2.1.6.1 Limites recomendados

No controle de produtos de origem animal, algumas populações microbianas são utilizadas como referencia pra determinar a qualidade desses produtos. Diferentes entidades autores trazem valores que são utilizados como referencia de limites máximos para ocorrência desses microrganismos em carne *in natura* e produtos cárneos, conforme o quadro 2.

Quadro 2. Limites de contagens e presença de microrganismos em carne *in natura* e produtos cárneos

Microrganismos	RDC 12/2001	União Européia	ICMSF (2002)	Ryser e Schuman (2015)
Mesófilos	-	$5,0 \times 10^6$ UFC/g	$1,0 \times 10^7$ UFC/g	$1,0 \times 10^4$ a $1,0 \times 10^7$ UFC/g
Psicrotróficos	-	5×10^6 UFC/g	$1,0 \times 10^7$ UFC/g	-
Bolores e leveduras	-	-	-	-
Coliformes termotolerantes	$5,0 \times 10^2$ NMP/g	$5,0 \times 10^2$ NMP/g	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> coagulase +	$5,0 \times 10^3$ UFC/g	-	-	-
<i>Salmonella</i> spp	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência

2.1.6.2 Microrganismos mesófilos aeróbios

As bactérias mesófilas constituem um grupo capaz de se multiplicar entre 10°C e 45°C, com temperatura ideal em torno de 36°C. (FRAZIER; WESTHOFF, 2000). A contagem é utilizada como indicador geral de populações bacterianas em alimentos, não diferenciando tipos de bactérias. Através dessa contagem, se obtém informações gerais sobre a qualidade dos produtos, práticas de manufatura, matérias primas, condições de processamento, manipulação e vida de prateleira (SILVA *et al.*, 2017).

Quando as contagens de aeróbios mesófilos estão na faixa de 10^6 UFC/g, geralmente ocorre a descoloração da superfície da carne. Entre 10^7 e 10^8 , surgem odores estranhos; entre

10^8 e 10^9 UFC/g, ocorrem alterações indesejáveis de sabor e, em contagens por volta de 10^9 UFC/g, aparece o limo superficial, devido à presença de polissacarídeos sintetizados pelas bactérias, tais como *Alcaligenes viscolactis*, *Enterobacter aerogenes*, *Pseudomonas* spp. e *Lactobacillus* spp. (ORDONEZ *et al.*, 2005).

Quanto aos limites máximos preconizados para carne moída, a legislação brasileira não define valores máximos para mesófilos e psicrotróficos. Entretanto, a legislação europeia determina valores de até $5,0 \times 10^6$ UFC/g (BRASIL, 2001; UNIÃO EUROPÉIA, 2005). A International Commission on Microbiological Specifications for Foods, preconiza contagem de até $1,0 \times 10^7$ UFC/g (ICMSF, 2002) e Ryser e Schuman (2015) descrevem contagem total típica de mesófilos em carne moída entre $1,0 \times 10^4$ a $1,0 \times 10^7$ UFC/g.

Forsythe (2013) ressalta que contagens desses microrganismos em placas de $1,0 \times 10^7$ UFC/g promovem descoloração, alterações de textura e formação de limo na carne moída, consequentemente diminuindo seu prazo de validade comercial.

2.1.6.3 Microrganismos psicrotróficos aeróbios

São microrganismos que crescem nos alimentos em temperaturas de refrigeração (0 a 7 °C) comumente associados a deterioração, mas que têm temperatura ótima de crescimento acima de 20 °C na faixa de mesófilos (APHA, 2001).

Esses microrganismos se destacam dentre os deteriorantes de importância em carnes refrigeradas, pela capacidade de sobrevivência e atividade mesmo em temperaturas de refrigeração, independentemente da sua temperatura ótima de crescimento (JAY, 2005).

Dentre os psicrotróficos que afetam a qualidade e a vida útil desse alimento, destaca-se *Pseudomonas* spp, que são Gram-negativos, aeróbios, proteolíticos e lipolíticos relacionados com a deterioração de carnes frescas (ANJOS, 2013), bem como também os gêneros *Aeromonas*, *Lactobacillus*, *Microbacterium* e *Arthrobacter* são capazes de reduzir o tempo de conservação da carne e seus derivados (PARDI *et al.*, 1993).

A carne moída por permanecer estocada sob temperatura de refrigeração até o consumo, também possibilita o crescimento de bactérias psicrotróficas patogênicas como *Listeria monocytogenes*, capazes de ocasionar meningite e provocar abortos, uma vez que esse produto não seja submetido ao tratamento térmico adequado (MANTILLA *et al.*, 2007).

2.1.6.4 Bolores e leveduras

São microrganismos capazes de produzir uma grande variedade de enzimas que, agindo sobre os alimentos, provocam deterioração. Os bolores podem produzir metabólitos tóxicos quando estão se multiplicando nos alimentos denominado “micotoxinas”, que ao serem ingeridos com os alimentos, causam alterações biológicas prejudiciais tanto no homem como nos animais (FRANCO; LANDGRAF, 2008) e algumas leveduras de origem alimentar podem desencadear reações alérgicas (SILVA *et al.*, 2017). São conhecidas mais de 100 espécies de fungos que elaboram micotoxinas. Muitos desses fungos pertencem aos gêneros *Penicillium*, *Aspergillus* e *Fusarium* (QUINN *et al.*, 2005).

A presença de fungos filamentosos e leveduras viáveis em índices elevados nos alimentos fornecem informações sobre condições higiênicas deficientes nos equipamentos e utensílios, matéria prima contaminada, falha no processamento ou na estocagem (VELD, 1996).

Apesar de não haver limites máximos na legislação brasileira pra esses microrganismos na carne moída, sua quantificação é importante, já que números elevados levam a deterioração da carne e caracteriza-se por alterações na coloração e superfície viscosa, pegajosa (BRASIL, 2001; FRANCO; LANDGRAF, 2008).

2.1.6.5 Coliformes termotolerantes

São microrganismos bacilos Gram negativos, móveis, anaeróbios facultativos, não produzem esporos e são capazes de fermentar a lactose produzindo ácido e gás, após 48 horas em temperatura de 44,5 a 45,5 °C (APHA, 2001). A determinação do número de coliformes termotolerantes nos alimentos fornece informações sobre as condições higiênicas do produto e melhor indicação da eventual presença de enteropatógenos. Nos alimentos frescos de origem animal, a ocorrência de números elevados de *Enterobacteriaceae* pode indicar manipulação sem cuidados de higiene e/ou armazenamento inadequado (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

A *Escherichia coli* se destaca como principal representante, por fazer parte da microbiota intestinal normal do homem, sendo encontrada nas fezes de todos os indivíduos saudáveis. Esta estreita associação com as fezes do homem (e também dos animais) representa a base do teste para verificar contaminação fecal da água e dos alimentos, amplamente utilizado em saúde pública (TRABULSI; ALTHERTHUM, 2015).

Segundo a legislação brasileira, não há padrões microbiológicos de coliformes para a carne moída *in natura*, mas é determinado valor máximo de $5,0 \times 10^2$ NMP/g para produtos cárneos crus resfriados (BRASIL, 2001). A ocorrência de altos níveis desses microrganismos

em alimentos pode indicar processamento inadequado, contaminação pós-processamento e crescimento microbiano (APHA, 2001). Em açougues decorre das condições higiênicas insatisfatórias, proveniente, principalmente, dos operadores a partir do manuseio constante, matéria-prima contaminada ou por limpeza deficiente dos equipamentos (MENDONÇA; GRANADA, 1999).

Dentre as linhagens patogênicas desses microrganismos, *E. coli* entero-hemorrágicas tornaram-se conhecidas nos Estados Unidos como causa de vários surtos de doença grave. O principal fator de virulência destas bactérias é a produção da toxina Shiga, também denominadas toxina Shiga de *Escherichia coli* (STEC, de *Shiga-toxin E. coli*) cujo sorotipo usualmente isolado nos Estados Unidos é o 0157: H7 (TORTORA *et al.*, 2012). A carne bovina moída já foi o principal agente de surtos nesse País e em pela Europa, presumindo-se que a operação de moagem transfere os microrganismos da superfície para o interior da massa de carne, aumentando a área de contato para o desenvolvimento bacteriano (SILVA *et al.*, 2017).

De acordo com Quinn *et al* (2005) *E. coli* O157:H7 já vinha emergindo há quase duas décadas atrás como principal patógeno transmitido por alimentos, zoonótico em humanos, responsável pela síndrome da colite hemolítico-urêmica hemorrágica. Dados epidemiológicos recentes do Centers for Disease Control and Prevention (CDC) estimam anualmente 265.000 infecções, 3.600 hospitalizações e 30 mortes por STEC nos Estados Unidos, sendo 36% deles a partir de cepas de STEC O157 e o restante por cepas de STEC não O157. Em 2018, ocorreram dois grandes surtos com STEC 0157 em alface romana e um surto em carne moída com óbitos registrados (CDC, 2018). O United States Department of Agriculture (USDA) declarou os sorogrupos O26, O45, O103, O111, O121 e O145, além do O157:H7, como contaminantes importantes de carne bovina, destacando a importância de seu monitoramento (MCVEY *et al.*, 2017).

No Brasil, a prevalência de STEC 0157 foi descrita em fezes de bovinos por Sandrini *et al* (2007), Vicente *et al* (2010) e Freitas Filho *et al* (2014) em percentuais de 0,3%, 14,77% e 1,92% respectivamente e 0,37% em recortes da desossa de bovinos (PRATA, 2009).

Em abatedouros, a superfície da carcaça pode ser contaminada por microrganismos de origem fecal. Geralmente as superfícies de corte da carne oriunda de carcaça contaminada são apropriadamente descontaminadas pelo cozimento. No entanto, quando a carne é moída, os microrganismos presentes na superfície penetram em todo o produto. Ainda que o cozimento apropriado destrua os microrganismos da superfície, inclusive STEC O157:H7, as bactérias presentes na parte mais interna podem não ser eliminadas (MCVEY *et al.*, 2017). Como os

bovinos de corte são considerados reservatórios de STEC, podem representar riscos significativos para a saúde dos seres humanos pela contaminação de seus produtos (HUSSEIN; BOLLINGER, 2005).

2.1.6.6 *Staphylococcus aureus* coagulase positiva

Os estafilococos são cocos Gram-positivos, com aproximadamente 1 µm de diâmetro e que tendem a formar agrupamentos em arranjos semelhantes a cachos de uva. O nome deriva das palavras gregas *staphyle* e *kokkos* para designar cachos de uva e grão, respectivamente (QUINN *et al.*, 2005).

Apresentam resistência a uma ampla gama de condições ambientais, podendo sobreviver em ambientes secos, com pH mínimo de 4,2, máximo de 9,3, com ótimo de 7,0-7,5 e, a temperatura mínima de 6 °C e máxima de 48 °C, com ótimo de 37°C. Toleram ainda altas concentrações de cloreto de sódio de até 25%, com ótimo de 7 a 10%. São anaeróbios facultativos, não móveis, e quando cultivados em meio sólido tendem a se agrupar em cachos que podem ser evidenciados por microscopia óptica através da coloração de Gram (TRABULSI; ALTHERTHUM, 2015).

Esse microrganismo é encontrado em diversas partes do corpo, como a pele, fossas nasais, garganta e intestinos de pessoas saudáveis. Entretanto pode provocar doenças, que vão desde uma simples infecção (espinhas, furúnculos e celulites) até infecções graves (pneumonia, meningite, endocardite, síndrome do choque tóxico, septicemia e outras) (SANTOS *et al.*, 2007).

Uma das doenças transmitidas por alimentos mais comuns é a intoxicação alimentar por estafilococos que resulta da ingestão de enterotoxinas estafilocócicas pré-formadas em alimentos por cepas enterotoxigênicas de *S. aureus* (HENNEKINNE *et al.*, 2012). Essas enterotoxinas são resistentes ao calor e a ação das enzimas intestinais (BROOKS *et al.*, 2000) sendo necessário para inativação da toxina de 3 a 8 minutos a 121° C (BAIRD-PARKER , 1990). Em geral, a produção dessas toxinas se limita às espécies de estafilococos coagulase positivos, o que contribui para sua predominância como causa de infecções graves (MCVEY *et al.*, 2017).

A RDC n. 12/2001 não estabelece limites para a contagem de *S. aureus* coagulase positiva pra carne moída, todavia determina para produtos cárneos crus, refrigerados ou congelados que geralmente levam carne moída em sua composição, contagem máxima de 5,0 x 10³ UFC/g (BRASIL, 2001).

2.1.6.7 *Salmonella* spp.

São bactérias da família *Enterobacteriaceae*, Gram negativas, anaeróbias facultativas, não formam endósporos e possuem a forma de bastonetes curtos (1 a 2µm). A maioria das espécies são móveis e possuem temperatura ótima de multiplicação entre 5 °C a 38 °C (FORSYTHE, 2013).

As salmonelas transmitidas por alimentos têm sido responsáveis por diversos surtos e sua presença se deve à contaminação por fezes de indivíduos doentes ou portadores (TRABULSI e ALTHERTHUM, 2015). Os produtos de origem animal têm sido os maiores responsáveis pelos surtos e seus problemas subsequentes, com grande número de hospitalizações, o que representa elevados custos econômicos e sociais. As salmonelas afetam principalmente indivíduos de faixas etárias extremas, idosos e crianças (PERESI *et al.*, 1998). Conforme os dados do CDC (2019), anualmente nos Estados Unidos ocorrem 1,2 milhões de doentes e 450 mortes. Somente no ano de 2018, 333 pessoas foram acometidas com 91 hospitalizações após consumirem carne moída. No Brasil, segundo os dados do Ministério da Saúde, os surtos notificados de *Salmonella* spp. entre 2009 e 2018 representaram 11,3% de casos confirmados (BRASIL, 2019).

Atualmente há mais de 2.500 sorotipos de *Salmonella* spp. identificados. Alguns sorotipos podem atingir tanto humanos quanto animais, causando as chamadas salmoneloses, a exemplo de *S. Typhimurium* e *S. Enteritidis* (FORSYTHE, 2013). As manifestações clínicas incluem febre, dor de cabeça, dor abdominal, diarreia transitória ou constipação e a infecção pode levar a danos respiratórios, hepáticos, no baço e/ou neurológicos fatais. Sem tratamento, a mortalidade pode chegar a 10-20%, diminuindo para <1% em pacientes tratados com antibióticos adequados (TRABULSI; ALTHERTHUM, 2015).

A prevenção depende de boas medidas de higiene para deter a contaminação e de refrigeração correta para impedir o aumento no número de bactérias. Os microrganismos são normalmente destruídos pelo cozimento, por exemplo, a 71°C para a carne moída. Contudo, o alimento pode contaminar uma superfície, como uma tábua de cortar carne. Embora o alimento inicialmente preparado na tábua possa posteriormente ser cozido e suas bactérias mortas, outro alimento preparado subsequentemente na tábua poderá sofrer contaminação cruzada e gerar problemas caso não seja cozido (TORTORA *et al.*, 2012).

Os produtos à base de carne são particularmente susceptíveis à contaminação por *Salmonella* spp. (TORTORA *et al.*, 2012). Estudos recentes identificaram linfonodos como

uma fonte potencial de contaminação pela bactéria, porque esses tecidos desempenham um papel ativo na contenção de patógenos no animal vivo e alguns linfonodos estão inevitavelmente presentes em aparas na fabricação de carne bovina ou em cortes primários que podem ser incorporados à carne moída (BAILEY *et al.*, 2017).

Considerando *Salmonella* spp em carnes e particularmente na carne *in natura* a legislação brasileira determina sua ausência em 25 gramas (BRASIL, 2001).

2.2 MATERIAIS E MÉTODOS

As análises microbiológicas e físico-químicas foram realizadas no Laboratório de Ciências Biológicas e da Saúde do Campus Manaus Zona Leste do Instituto Federal do Amazonas (IFAM) e a composição centesimal das amostras foram analisadas no Laboratório de Tecnologia do Pescado da Faculdade de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Amazonas (UFAM). As amostras consistiram de carne moída *in natura*, adquiridas diretamente de estabelecimentos comerciais em diferentes regiões da cidade de Manaus, Amazonas.

2.2.1 Delineamento da pesquisa

A pesquisa teve caráter exploratório, com metodologias que caracterizaram um estudo de caso com a análise de amostras de carne moída provenientes de duas redes de supermercados e diferentes açougues. Foram realizadas 16 coletas em duas redes de supermercados, sendo oito em cada, e coletas em oito açougues, contemplando as quatro regiões da cidade para melhor distribuição da amostragem. De cada estabelecimento, foram adquiridas duas amostras, sendo uma amostra proveniente de carne previamente moída e outra da carne moída no momento da aquisição, utilizando-se o corte bovino patinho para a carne moída no momento da aquisição. Optou-se por esse corte, por ser geralmente utilizado também na carne previamente moída nos estabelecimentos. Com isso, totalizando 48 amostras analisadas entre os meses de janeiro a dezembro de 2018.

Foram adquiridas duas embalagens para cada amostra, com aproximadamente 200g em cada. Em uma das embalagens, destinada às análises físico-químicas, foi aferida a temperatura da carne no ato da aquisição com termômetro tipo espeto. A outra amostra destinada a avaliação microbiológica foi acondicionada na sua embalagem original em caixa isotérmica com gelo reciclável em temperatura não superior a 8°C e enviadas ao laboratório, armazenadas em geladeira entre 5±3 °C por até 12 horas para processamento.

2.2.2 Avaliação da qualidade microbiológica

Todas as análises microbiológicas foram realizadas como descrito na Instrução Normativa n. 62 de 2003 do MAPA.

2.2.2.1 Preparo das amostras

Da embalagem destinada às análises microbiológicas, inicialmente foram pesadas assepticamente 25 g da carne moída e colocadas em Erlenmeyer contendo 225 mL de solução salina peptonada 1% tamponada. A homogeneização da amostra foi feita com agitação manual durante um minuto. Em seguida foram realizadas diluições subseqüentes de 10^{-2} a 10^{-7} , em solução salina peptonada 0,1%.

2.2.2.2 Contagem padrão de microrganismos mesófilos aeróbios estritos e facultativos (CM) e de microrganismos psicrotróficos aeróbios estritos e facultativos viáveis (CP).

De cada diluição (10^{-1} a 10^{-7}) foi inoculado em duplicata 1 mL em placas de Petri estéreis. Em seguida, foram adicionados às placas inoculadas, 18 mL do meio Ágar Padrão de Contagem (PCA), previamente fundido, e resfriado entre 44 e 46 °C. As placas foram homogeneizadas com movimentos suaves na forma de oito. Após a completa solidificação do ágar, as placas foram invertidas e incubadas a 36 ± 1 °C por 48 horas para mesófilos e a 7 ± 1 °C em geladeira com termostato de controle de temperatura, por dez dias para psicrotróficos. Foram consideradas para contagem, somente as placas que apresentaram entre 25 e 250 colônias. As contagens foram registradas, multiplicando a sua média aritmética pelo respectivo fator de diluição e expressando o resultado em Unidades Formadoras de Colônia/1,0 g de amostra (UFC/g) (BRASIL, 2003b).

2.2.2.3 Contagem de bolores e leveduras

Foi inoculado 0,1 mL, das diluições selecionadas (10^{-1} a 10^{-4}) em placas contendo meio Ágar Batata dextrose (BDA) acidificado em pH $3,5 \pm 0,2$ pela adição de 1,5 mL de solução de ácido tartárico 10% para cada 100 mL de meio. A alíquota foi espalhada com auxílio de alça de Drigalski, até sua completa absorção e as placas foram incubadas a temperatura ambiente (aproximadamente 25 °C) por período de 5 a 7 dias. Foram consideradas para contagem, somente as placas que apresentaram entre 15 e 150 colônias. As contagens foram registradas,

multiplicando a sua média aritmética pelo respectivo fator de diluição e expressando o resultado em Unidades Formadoras de Colônia/1,0 g de amostra (UFC/g) (BRASIL, 2003b).

2.2.2.4 Determinação do número mais provável de coliformes termotolerantes

A partir da amostra da homogeneização e das diluições, foi realizada a determinação do número mais provável (NMP) de coliformes termotolerantes (CT). Para a análise das diluições 10^{-1} a 10^{-7} , foi pipetado de cada diluição 1 mL para uma série de três tubos contendo 9 mL do Caldo Lauril Sulfato Triptose. Estes foram homogeneizados e incubados a 36 ± 1 °C por até 48 horas. Transcorrido este tempo, foi observada presença de efervescência e/ou gás nos tubos de Durham, considerados positivos presuntivamente.

Com o auxílio de uma alça de platina estéril, uma alíquota dos tubos positivos na prova presuntiva foi inoculada em Caldo EC. Esses tubos foram incubados em 45 °C por 48 horas em banho-Maria com agitação ou circulação de água constante. A presença de coliformes termotolerantes foi confirmada através da formação de gás (mínimo 1/10 do volume total do tubo de Durham) ou através da presença de efervescência quando agitado gentilmente. Os resultados foram expressos a partir da combinação de números correspondentes aos tubos que apresentaram resultado positivo nos testes confirmativos e sua posterior avaliação na tabela do Número Mais Provável (NMP). Os valores obtidos foram expressos em NMP/g. (BRASIL, 2003b).

2.2.2.5 Contagem de *Staphylococcus aureus* coagulase positiva

Foi inoculado 0,1 mL, das diluições selecionadas (10^{-1} a 10^{-4}) em placas contendo meio Ágar Baird-Parker (BPA), suplementado com emulsão de gema de ovo 5% e telurito de potássio 0,01%, e espalhado sob a superfície do meio com auxílio de alça de Drigalski até a completa absorção. As placas foram incubadas a 36 ± 1 °C por 48 horas e as placas que continham entre 20 e 200 colônias foram selecionadas para contagem, verificando a presença de colônias típicas (negras brilhantes com anel opaco, rodeadas por um halo claro, transparente e destacado sobre a opacidade do meio) e colônias atípicas (acinzentadas ou negras brilhantes, sem halo ou com apenas um dos halos) (BRASIL, 2003b).

Foram selecionadas cinco colônias, confirmadas pela técnica de Gram como cocos Gram positivos, para semeadura em tubos contendo Caldo Infusão de Cérebro e Coração (BHI), para a multiplicação das bactérias com incubação de 36 ± 1 °C por até 24 horas e realização dos testes confirmatórios de catalase e coagulase (BRASIL, 2003b).

A prova de catalase foi realizada com a utilização de uma alíquota de peróxido de hidrogênio a 3% adicionado com alíquota de igual quantidade da amostra, como prova confirmativa pra *S. aureus* (SA). Para verificar a produção de coagulase, foram adicionados 0,3 mL da cultura em tubos estéreis com 0,3 mL de plasma de coelho e incubado a 35 ou 37 °C, por 4 a 6 horas. Os tubos foram inclinados, sendo considerados positivos os testes em que o coágulo ocupava mais da metade do volume original (BRASIL, 2003b).

2.3.2.6 Pesquisa de *Salmonella* spp.

A solução com 250 mL da diluição inicial (10^{-1}) foi incubada a 36 ± 1 °C por 16 a 20 horas, para a etapa de pré-enriquecimento. Após, foram retiradas alíquotas de 1 mL e inoculadas em caldo selenito cistina (SC) e 0,1mL em caldo Rappaport-Vassiliadis (RV), incubados em banho-Maria a $41\pm 0,5$ °C por 24 a 30 horas. A partir do crescimento nos caldos de enriquecimento, procedeu-se com o auxílio da alça de platina, a semeadura por esgotamento das amostras em meio XLD (Ágar desoxicolato-lisina-xilose) e VB (Verde Brilhante), sendo a placa incubada invertida em estufa a 36 ± 1 °C por 24 horas. Foram consideradas colônias características em meio XLD, colônias negras e, em meio VB, colônias vermelhas.

A partir dos isolados de 3 a 5 colônias características nos meios seletivos, foram realizadas as seguintes provas bioquímicas: reações em ágar TSI inclinado, descarboxilação da lisina em ágar LIA inclinado, teste de motilidade em ágar SIM e utilização do Citrato sódico inclinado como única fonte e carbono. As amostras que tiveram isolados com comportamento bioquímico compatível com *Salmonella* spp. em todas as provas utilizadas foram consideradas positivas (BRASIL, 2003b).

2.2.3 Avaliação da qualidade físico-química e composição centesimal

As amostras destinadas às análises físico-químicas e composição centesimal foram separadas em quantidades suficientes para cada análise. Os métodos utilizados foram aqueles preconizados conforme a Instrução Normativa do MAPA n. 20 de 1999 e a metodologia proposta pelo Instituto Adolfo Lutz (2005), exceto para a determinação de lipídeos, que seguiu a metodologia descrita por Bligh-Dyer (1959).

2.2.3.1 Preparo das amostras

Após retiradas as alíquotas correspondentes a prova de filtração, prova de cocção, determinação do pH e a prova de amônia (Nessler), foi retirado 10,0 g para determinação de umidade e o restante secado em estufa a 105 °C durante 24 horas para as análises de proteína, lipídeos e cinza. Após secagem, a amostra foi triturada em multiprocessador e acondicionada em recipiente hermeticamente fechado, devidamente identificado com o número da amostra.

2.2.3.2 Prova de filtração

Foram colocadas 10,0 g de amostra homogeneizada em Erlenmeyer. Adicionado 100 mL de água destilada, fechado e agitado vigorosamente por 15 minutos, com intervalos e repouso. Em seguida, lançado o líquido e os fragmentos da carne, de uma só vez, em funil com capacidade não menor que 150 mL e com papel de filtro Whatman nº 1 e avaliado o aspecto do filtrado onde: O filtrado da carne límpido, róseo-claro e cheiro *sui generis* (carne sã). Filtrado turvo, de tonalidade groselha mais ou menos acentuada, e odor amoniacal ou sulfídrico (carne alterada). Foi reservado o filtrado para a prova de Nessler (BRASIL, 1999).

2.2.3.3 Prova de cocção

Em béquer de 250 mL foi colocado 20 g de amostra, coberto com água destilada e tampado o béquer com vidro de relógio. Foi aquecido em suporte com placa de amianto em bico de Bunsen e avaliado o odor dos primeiros vapores produzidos, para identificação de odor amoniacal ou sulfídrico. Após mais 5 minutos de aquecimento foi avaliado as características do caldo (odor e a consistência da carne) (BRASIL, 1999).

2.2.3.4 Determinação do pH (método potenciométrico).

Em béquer de 100 mL foi misturado 50 g de amostra homogeneizada com 10 mL de água destilada para possibilitar a penetração do eletrodo. O pHmetro foi ajustado com solução tampão pH 7 e feito a leitura da amostra: pH de 5,8 a 6,2 - carne boa para consumo; pH 6,4 - apenas para consumo imediato (limite crítico para consumo); pH acima de 6,4 - início de decomposição (BRASIL, 1999).

2.2.3.5 Prova de amônia (Nessler)

Foi colocado em tubo de ensaio, 2 mL do reagente de Nessler e acrescentado 10 gotas do filtrado obtido na prova de filtração. Prova negativa para amônia: amarelo esverdeado; Prova positiva: amarelo (BRASIL, 1999).

2.2.3.6 Umidade

Foram aquecidas cápsulas de alumínio por uma hora em estufa à 105°C e em seguida colocadas num dessecador durante 10 minutos para esfriar. Cada cápsula vazia foi pesada numa balança analítica e colocado 3 g da amostra e repetido o procedimento com as demais cápsulas para se obter a triplicata. Posteriormente, cada cápsula foi colocado na estufa a 105 °C até obter peso constante e levado ao dessecador pra esfriar completamente e novamente pesadas.

Cálculo

$(100 \times N) / P = \text{umidade por cento.}$

N= perda de peso em grama

P= n.º de gramas da amostra

2.2.3.7 Cinzas

Em balança analítica foi pesada cápsula de porcelana, previamente aquecida em mufla a 550°C e resfriada em dessecador até a temperatura ambiente durante 20 a 30 minutos. Posteriormente foi pesado 2 g de amostra seca em balança analítica e colocada a cápsula em mufla pré-aquecida a 550 °C até que o resíduo se apresentasse branco ou cinza claro. Posteriormente a cápsula foi transferida para um dessecador, deixado esfriar por cerca de 30 minutos e pesado o material frio na balança analítica.

Cálculo

$(100 \times N) / P = \text{cinzas por cento.}$

N= n.º de gramas de cinzas

P= n.º de gramas da amostra

2.2.3.8 Determinação de lipídeos (método de Bligh-Dyer).

Em balança analítica, foi pesado 3 g da amostra seca e em seguida transferida para os tubos de ensaio de 70 mL e adicionado 10 mL de clorofórmio, 20 mL de metanol e 8 mL de água destilada (1:2:0,8), e tampado hermeticamente. Os tubos foram colocados em agitador rotativo por 30 min. Em seguida adicionado exatamente 10 mL de clorofórmio e 10 mL da

solução de sulfato de sódio (1,5%) e agitado por mais 2 minutos. A adição de mais clorofórmio e água, muda a proporção para 2:2:1:8, causando a separação total do clorofórmio que carrega os lipídios (camada inferior). Os lipídios da amostra ficam dissolvidos em 20 mL de clorofórmio. Foi então sugado a camada superior (água+metanol) com um sifão, adicionado 1 g de sulfato de sódio anidro em papel de filtro com funil pequeno para tubos de 30 mL e filtrado rapidamente para obtenção de filtrado límpido. Foi medido em pipeta, 5 mL do filtrado e despejado em béquer de 50 mL, previamente pesado. Posteriormente foi colocado numa estufa à 100°C até evaporação do solvente. Em seguida colocado para esfriar em dessecador e feita a pesagem (BLIGH-DYER, 1959).

Cálculo

$$\% \text{ de lipídeos totais} = (P \times 4 / g) \times 100$$

P = peso dos lipídeos (g) contidos em 5 mL de clorofórmio (x 4 por utiliza-se 20 mL de clorofórmio);

g = Peso da amostra (g).

2.3.3.9 Proteína

Foi pesado 0,20 g de amostra seca, enrolada em pedaço de papel vegetal e colocado no interior dos tubos de digestão semi-micro Kjeldahl. Acrescentou-se 2 g de mistura catalítica (Sulfato de potássio K_2SO_4 e Sulfato de Cobre $CuSO_4$) + 5 mL de H_2SO_4 (ácido sulfúrico) nos tubos.

Em bloco digestor os tubos foram aquecidos inicialmente a 50°C-100°C e aumentado a temperatura de 50 °C a cada 15 minutos até atingir 350°/400°C. As amostras foram digeridas até que o conteúdo dos tubos ficou transparente, de cor verde-azulado e a partir daí foi aquecido mais 30 minutos. Após esfriar, foram adicionados 10 mL de água destilada por tubo.

Para destilação, foi colocado o tubo com a amostra diluída em destilador de nitrogênio Tecnal TE-0363, e em seguida neutralizado com NaOH 50% (15 mL). Foi colocado um Erlenmeyer no suporte de coleta do destilador com 10 mL de ácido bórico e recolhido 50 mL do destilado. (A cor vermelha do ácido bórico, durante a destilação muda para a cor azul).

Para titulação, utilizou-se bureta com 25 mL de HCl 0,02 N (ácido clorídrico) e titulado o destilado até que o indicador virasse da cor azul para rosa clara. (Foi anotado o volume gasto de HCl da bureta) (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2005).

A quantidade de nitrogênio total da amostra foi obtida através da seguinte equação:

$$\%P = \%N \times \text{Fator de conversão (6.25)}$$

$$\% N = \frac{(V_a - V_b) \times N \times f \times 0.014 \times 100}{PA} \text{ onde :}$$

%P = Porcentagem de proteína total em matéria seca

%N = Porcentagem de nitrogênio total

V_a = Volume de HCl gasto na titulação com a amostra.

V_b = Volume de HCl gasto na titulação do branco

N = Normalidade de HCl

f = Fator de correção da solução de HCl

PA = Peso da amostra

2.2.4 Análise dos dados

A comparação das médias entre os resultados da carne moída na aquisição com a carne previamente moída foram analisadas pelo teste de Mann-Whitney, sendo estes: contagem de mesófilos, psicrotróficos, bolores e leveduras, número mais provável (NMP/g) de coliformes termotolerantes, contagem de SA, os parâmetros físico-químicos de pH e temperatura e a composição centesimal (umidade, proteínas, lipídeos e cinzas). Para a análise dos dados da pesquisa de *Salmonella* spp. e os parâmetros físico-químicos da prova de amônia (Nessler), filtração e cocção foi utilizado o teste do Qui-quadrado.

A análise comparativa entre as médias dos resultados de carne moída dos supermercados A, B e Açougues, foram analisadas pela ANOVA/Kruskall-Wallis. Quando houve diferença significativa, o pós-teste de Dunn foi utilizado, sendo estes: contagem de mesófilos, psicrotróficos, bolores e leveduras, número mais provável (NMP/g) de coliformes termotolerantes, contagem de SA, os parâmetros físico-químicos de pH e temperatura e a composição centesimal (umidade, proteínas, lipídeos e cinzas).

As análises estatísticas foram realizadas com a utilização do software InStat 3.1 (Graphpad), todos a um nível de significância de 5%.

2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos foram analisados de modo que possibilitassem comparações entre as formas de apresentação em que a carne moída era comercializada e entre os estabelecimentos onde as amostras foram adquiridas.

2.3.1 Comparação dos resultados da forma de apresentação da carne moída

Os valores da contagem de mesófilos (CM) ($p < 0,0423$) e contagem de psicrotróficos (CP) ($p < 0,0002$) foram mais elevados na carne previamente moída, quando comparada com a carne moída no momento da aquisição (Tabela 1). Em ambos os processos os valores encontrados foram superiores aos valores recomendados pela legislação europeia, ICMSF (2002) e por Ryser e Schuman (2015), podendo provocar alterações indesejáveis e deterioração decorrentes de temperaturas inadequadas (ORDONEZ *et al.*, 2005).

Contagens elevadas desses microrganismos podem indicar abuso durante o armazenamento em relação ao binômio tempo/temperatura (FRANCO; LANDGRAF, 2008). Dados inferiores foram encontrados por Marchi (2006) que comparou os valores de mesófilos da carne moída na aquisição ($2,1 \times 10^6$ UFC/g) com a carne previamente moída ($6,3 \times 10^6$ UFC/g), não havendo diferença estatística. O mesmo ocorreu para psicrotróficos, a referida autora identificou contagens inferiores ao presente estudo, de $2,3 \times 10^7$ UFC/g para a carne moída na aquisição e $2,7 \times 10^7$ UFC/g para carne já exposta moída no balcão. Ainda assim, estes valores também foram elevados quando considerados os valores recomendados para carne moída.

Para CP tais valores indicam que houve maior tempo de estocagem em temperatura resfriada da carne previamente moída. Mesmo sendo acondicionada nessas temperaturas, não é cessado o contínuo crescimento e multiplicação deste grupo de microrganismos, diminuindo prazo de validade comercial do produto pela deterioração. Segundo Mantilla *et al* (2007), a carne moída bovina quando estocada sob temperatura de refrigeração até o consumo, por possuir maior área de superfície e ser altamente manuseada, permite o desenvolvimento de bactérias psicrotróficas patogênicas como *Listeria monocytogenes*.

Para coliformes termotolerantes (CT) não foi evidenciada diferença ($p = 0,9658$) entre os processos (Tabela 2). Contudo, foram observados valores acima de $5,0 \times 10^2$ NMP/g,

superior ao permitido pela legislação brasileira considerando valores para produtos cárneos crus resfriados e europeia para carnes moídas (BRASIL, 2001; UNIÃO EUROPEIA, 2005). Possivelmente devido à qualidade inferior da matéria-prima e às condições higiênico-sanitárias deficientes de manipuladores, equipamentos e utensílios.

Entre as contagens de *S. aureus* também não houve diferença ($p=0,2440$) (Tabela 1). A legislação brasileira não estabelece limite máximo aceitável de *S. aureus* para carne moída, contudo define que para produtos cárneos crus, refrigerados ou congelados como hambúrgueres, almôndegas, quibe e similares, que levam carne moída como ingrediente principal, o valor deve ser no máximo $5,0 \times 10^3$ UFC/g *S. aureus* coagulase positiva (BRASIL, 2001). *S. aureus* estava presente em números elevados, evidenciando assim uma baixa qualidade microbiológica nos dois processos. No entanto, a maior parte dos isolados não produzia coagulase e, portanto, apresentavam baixo risco para produção de toxinas (HENNEKINNE *et al.*, 2012).

Dentre as amostras analisadas, somente cinco amostras continham *S. aureus* coagulase positiva, duas amostras de carne moída na aquisição ($3,0 \times 10^4$ e $9,4 \times 10^3$ UFC/g) e três amostras de carne previamente moída ($2,2 \times 10^3$, $7,0 \times 10^3$ e $1,2 \times 10^5$ UFC/g). Mesmo quando presentes, somente quatro apresentaram contagens que estavam acima do permitido pela legislação (BRASIL, 2001), representando 8,33% das amostras analisadas. Embora a carne bovina moída receba tratamento térmico antes do consumo, o risco de intoxicação não pode ser descartado, pois a toxina é termoestável e um tratamento térmico de 100°C por 30 minutos nem sempre é suficiente para inativá-la.

Para a contagem de bolores e leveduras (CBL) não ocorreu diferença ($p=0,1703$) com relação aos processos, entretanto, os valores médios foram superiores a 10^5 UFC/g. Não existem parâmetros na legislação brasileira quanto a esses microrganismos para carne moída, entretanto é definido o limite máximo de 10^4 UFC/g para purês e doces em pasta ou massa e similares, incluindo geleias, não comercialmente estéreis; doces em calda, não comercialmente estéreis (a granel) (BRASIL, 2001). No presente estudo ocorreram 17 amostras de carne moída na aquisição e 19 de carne previamente moída com valores acima de 10^4 UFC/g totalizando 36 amostras, o que equivale a 75% de amostras. Resultados semelhantes foram encontrados por Oliveira *et al.*, (2008) que obtiveram contagens superiores a 10^4 UFC/g em 60% de amostras de carnes moídas comercializadas em Lavras. A ocorrência de bolores toxigênicos e leveduras nos alimentos pode se tornar um perigo à saúde devido à produção de micotoxinas e alergias alimentares respectivamente (SILVA *et al.*, 2017).

Tabela 1 - Valores médios da contagem de microrganismos mesófilos aeróbios estritos e facultativos viáveis (CM), psicrotróficos aeróbios estritos e facultativos (CP), coliformes termotolerantes (CT), *Staphylococcus aureus* (SA) e bolores e leveduras (CBL), obtidos das amostras de carne nas formas de apresentação (FA): carne moída na aquisição (CMA) e carne previamente moída (CPM).

FA	n	CM	CP	CT	AS	CBL
		UFC/g	UFC/g	NMP/g	UFC/g	UFC/g
CMA	24	4,8 ^b x 10 ⁷	1,3 ^b x 10 ⁸	2,1 ^a x 10 ³	3,0 ^a x 10 ⁵	3,0 ^a x 10 ⁵
CPM	24	9,3 ^a x 10 ⁷	7,5 ^a x 10 ⁸	1,3 ^a x 10 ³	4,9 ^a x 10 ⁵	3,4 ^a x 10 ⁵

*Médias seguidas por letras minúsculas iguais na mesma coluna, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Mann-Whitney ($p < 0,05$).

Quanto à presença de *Salmonella* spp. foram obtidas 11 amostras positivas, sete a partir de carnes moídas na aquisição e quatro de carnes pré-moídas, entretanto, a forma de apresentação da carne moída não interferiu (Qui-quadrado: $p = 0,4922$) na presença do patógeno. Considerando a totalidade das amostras analisadas, 22,9% continham a bactéria. Resultados semelhantes foram encontrados por Aquino *et al* (1992), que identificaram *Salmonella* spp. em 20% de carne moída comercializadas em Manaus; White *et al* (2001) com 20% nos Estados Unidos e Monteiro *et al* (2018) com 27% no Distrito Federal.

Considerando os resultados físico-químicos, na carne previamente moída foram obtidas 10 amostras positivas para a prova de amônia (Nessler). Na carne moída na aquisição somente duas amostras foram positivas. A chance de a carne previamente moída ser positiva na prova de amônia foi 7,86 vezes maior que da carne moída na aquisição (Odds ratio: $p = 0,0196$) (Tabela 2).

As contagens elevadas de mesófilos e psicrotróficos possivelmente favoreceram a deterioração inicial com proteólise e consequente liberação da amônia, já que dentre as 10 amostras de carne previamente moída positivas na prova de amônia, oito amostras (80%) tiveram contagens fora do padrão especificado pela legislação europeia para mesófilos e nove amostras (90%) para psicrotróficos (UNIÃO EUROPEIA, 2005). No entanto, quando os resultados foram negativos na prova de amônia, apenas 50% possuíam valores menores que o recomendado para mesófilos e 15,38% para psicrotróficos. Ainda assim, considerando as médias obtidas, o valor de mesófilos nas amostras positivas ($2,1 \times 10^8$ UFC/g) na prova de amônia apresentou diferença significativa ($p < 0,0478$) quando comparado com o valor médio

das amostras negativas ($1,0 \times 10^7$ UFC/g). De igual forma, o valor médio de psicrotróficos nas amostras positivas ($1,6 \times 10^9$ UFC/g) na prova de amônia também apresentou diferença significativa ($p < 0,0126$) quando comparado com o valor médio das amostras negativas ($1,9 \times 10^8$ UFC/g).

Dentre os demais parâmetros físico-químicos não houve diferença significativa, contudo, ambos os processos apresentaram alterações quanto ao aspecto do filtrado e a cor do filtrado. Para a carne moída na aquisição, 41,67% das amostras apresentaram turbidez elevada e 66,67% a tonalidade groselha. Resultados similares foram obtidos para as carnes previamente moídas onde 45,83% apresentaram turbidez elevada e 62,50% tonalidade groselha. O aspecto turvo e a tonalidade groselha podem ser resultantes das temperaturas inadequadas observadas em ambos os processos, bem como pela multiplicação bacteriana. Quanto ao odor do filtrado na prova de filtração e cocção e a consistência da carne, foi observada pequena quantidade de amostras alteradas.

Tabela 2 – Valores de frequência das alterações físico-químicas na prova de Nessler, aspecto, cor e odor do filtrado e consistência e da carne na prova de cocção das amostras de carne moída nas formas de apresentação (FA): carne moída na aquisição (CMA) e carne previamente moída (CPM).

Análise	Alteração	CMA	CPM	Odds ratio
	Amarelo esverdeado	22 (91,67%)	14 (58,33%)	
Prova de Nessler	Amarelo	2 (4,16%)	10 (41,67%)	7,86
Aspecto do Filtrado	Límpido	14 (58,33%)	13 (54,16%)	
	Turvo	10 (41,67%)	11 (45,83%)	NS
Cor do filtrado	Róseo Claro	8 (33,34%)	9 (37,50%)	
	Groselha	16 (66,67%)	15 (62,50%)	NS
Odor do filtrado	Sui generis	24 (100%)	23 (95,83%)	
	Odor amoniacal	0 (0%)	1 (4,16%)	NS
Odor na prova de cocção	Sui generis	23 (95,83%)	21 (87,50%)	
	Odor amoniacal	1 (4,16%)	3 (12,50%)	NS
Consistência da carne	Firme	21 (87,50%)	23 (95,83%)	
	Friável	3 (12,50%)	1 (4,16%)	NS

(NS: Não significante pelo teste do Qui-quadrado)

Quanto aos valores de temperatura, quando comparados os tipos de processamento foi obtido valor mais elevado na carne moída na aquisição ($p < 0,0005$), possivelmente já pelas temperaturas elevadas nas salas de moagem dos supermercados e açougues, conseqüentemente influenciando também no ganho de temperatura no processo da moagem (Tabela 3). A carne previamente moída, por ser mantida no balcão frigorificado após a moagem, recuperava parcialmente a temperatura. Todavia, convém ressaltar que em ambos os tipos de amostras as temperaturas estavam elevadas, pois a temperatura definida na legislação em vigor para a conservação da carne moída refrigerada deve ser de 0 a 4 °C (BRASIL, 2003a). Dentre as amostras, apenas uma (4,16%) amostra da carne moída na aquisição e duas (8,33%) amostras da carne previamente apresentaram temperatura interna inferior a 4 °C.

A adequação das temperaturas por meio da padronização na cadeia de frio minimiza o comprometimento na qualidade do produto e conseqüentes contagens elevadas de microrganismos que diminuem o prazo de validade comercial, além dos patogênicos que podem trazer riscos à saúde. Ficou demonstrado no presente trabalho que estes procedimentos não estão sendo respeitados, pois as temperaturas elevadas favoreceram a multiplicação de deteriorantes e patogênicos em ambos estados de conservação. Conforme Anjos (2013), quanto maior for o tempo em que a carne estiver exposta em condições inadequadas de temperatura, maiores as chances de deterioração. Cintra *et al* (2016) relataram que embora as etapas de processamento da carne durem apenas alguns minutos, o controle contínuo da temperatura na área de processamento pode impedir a multiplicação microbiana no ambiente e nos utensílios de processamento.

Os valores de pH ($p = 0,3919$) estiveram em conformidade com a legislação, que define como pH 5,8 a 6,2 a carne boa para consumo, pH 6,4 como limite crítico e carne com pH acima de 6,4 em início de decomposição (BRASIL, 1999). Dentre as amostras, duas tiveram o pH mais elevado para a carne moída na aquisição (6,21 e 6,28) e uma amostra para carne previamente moída (6,37), ainda assim abaixo de 6,4 (Tabela 3). É importante destacar que somente a análise de pH não reflete o real estado de conservação da carne, sendo de primordial importância as demais análises microbiológicas e físico-químicas. Soares *et al* (2015) ao analisarem amostras de bifês de carne *in natura*, descreveram que esta análise realizada de forma individual não é confiável para indicar o nível de deterioração das carnes, pois apesar da maioria das amostras terem apresentado elevado nível de contaminação por microrganismos mesófilos e psicotróficos, apenas duas amostras apresentaram pH acima de 6,4. De igual forma, no presente trabalho, foram observados números elevados de mesófilos e

psicrotróficos na carne previamente moída, contudo, sem haver alterações significativas nos valores de pH.

Para a análise de umidade houve diferença, uma vez que a carne moída na aquisição apresentou maior umidade que a carne previamente moída ($p < 0,0001$) (Tabela 3). Pode ser justificado principalmente pelos elevados valores de lipídeos na carne previamente moída, mas também pela permanência por períodos maiores nos balcões frigorificados, que leva à perda da umidade. Conforme Ordonez *et al* (2005), quanto maior for a proporção de gordura, menor será o teor de umidade de um corte específico, e essa relação inversa independe dos outros fatores, como sexo, raça, idade e alimentação.

Não foi observada diferença significativa para teores de proteína ($p = 0,9068$) (Tabela 3) e os valores médios foram similares ao descrito como composição padrão do alimento (PARDI *et al.*, 1993; TACO, 2011; TORRES *et al.*, 2000). No entanto, para lipídeos foi evidenciado elevado valor pra carne previamente moída ($p < 0,0004$). Isso possivelmente ocorreu devido à escolha dos cortes cárneos com menor valor agregado, moídos na ausência do consumidor, e na maioria das vezes com utilização de aparas misturadas a cortes menos nobres com alto teor de tecido conjuntivo e gordura. Ainda assim, somente duas amostras de carne previamente moída apresentaram valores maiores que o permitido pela legislação em vigor (16,93 e 16,70%), que determina quantidade máxima de 15% de lipídios (BRASIL, 2003a). Esses dados reforçam a importância da composição nutricional dos alimentos, sejam de origem animal ou vegetal, já que o consumo excessivo de gorduras representa fator de risco ao desenvolvimento das doenças cardiovasculares (VALLE, 2000).

Houve maior índice de cinza para a carne moída na aquisição ($p < 0,0053$) (Tabela 3). Essa diferença pode ter sido relacionada com os teores de lipídeos que foram maiores na carne previamente moída. Quanto maiores os teores de lipídeos, menores os teores de cinza. Contudo, ambos os valores foram aproximados e de acordo com o parâmetro de composição da carne moída referenciado (PARDI *et al.* 1993; TACO, 2011; TORRES *et al.* 2000).

Tabela 3 - Valores médios \pm desvio padrão da temperatura, pH, umidade, proteína, lipídeos e cinza, obtidos das amostras de carne moída nas formas de apresentação (FA): carne moída na aquisição (CMA) e carne previamente moída (CPM).

FA	n	Temperatura	pH	Umidade	Proteína	Lipídeos	Cinza
CMA	24	16,1 ^a \pm 5,2	5,7 ^a \pm 0,2	74,3 ^a \pm 1,4	20,1 ^a \pm 3,6	3,8 ^b \pm 1,4	1,1 ^a \pm 0,2

CPM 24 10,7^b ± 6,3 5,8^a ± 0,2 70,0^b ± 4,1 20,0^a ± 3,1 8,0^a ± 4,3 0,9^b ± 0,2

*Médias seguidas por letras minúsculas iguais na mesma coluna, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Mann-Whitney ($p < 0,05$).

2.3.2 Comparação dos resultados dos estabelecimentos

Os valores expressos na Tabela 4 permitiram evidenciar CM elevada para os três estabelecimentos, sendo que o Supermercado A apresentou maior contagem que o supermercado B ($p < 0,0467$). Tais dados foram superiores aos de Florentino *et al* (1997), que ao analisarem a carne moída de feiras e de supermercados em Campina Grande, obtiveram contagens de mesófilos em $2,6 \times 10^6$ UFC/g e $2,5 \times 10^5$ UFC/g, respectivamente. Vale ressaltar que o Supermercado B foi o único que apresentou contagem dentro da faixa preconizada pelo ICMSF (2002) e Ryser e Schuman (2015), inferior a $1,0 \times 10^7$ UFC/g.

Quanto à CP, não houve diferença significativa entre os estabelecimentos ($p = 0,0495$), contudo, todos apresentaram contagens elevadas e em desacordo com a legislação. Apesar do acondicionamento em temperaturas de refrigeração, psicrotróficos continuam crescendo lentamente. Quanto mais próximo da temperatura ótima de crescimento, em torno de 20 °C, mais rápido é o crescimento dessas bactérias (SILVA *et al.*, 2017). Levando-se em consideração que nos supermercados A e B todas as amostras apresentaram temperaturas superiores ao recomendado pela legislação. Nos açougues, somente três amostras apresentaram temperatura conforme preconizado. As temperaturas médias foram elevadas em todos os estabelecimentos (Tabela 6). Provavelmente houve um desenvolvimento muito mais acelerado do que deveria ocorrer se a temperatura fosse mantida de 0 a 4 °C, como determina a legislação (BRASIL, 2003a).

Os valores encontrados para CT ($p < 0,0001$) e SA ($p < 0,0181$) nas amostras dos açougues foram maiores e acima do permitido pela legislação do que aqueles observados para os supermercados A e B. Entre os supermercados não foi observada diferença ($p > 0,05$) e os valores estavam abaixo do permitido pela legislação (Tabela 4) (BRASIL, 2001; UNIÃO EUROPEIA, 2005). Possivelmente isso pode ter ocorrido devido ao descumprimento dos requisitos mínimos de higiene e asseio pelos manipuladores nos açougues, como também ausência de infraestrutura compatível ao comércio de carne levando a contaminação cruzada entre as diferentes etapas do processamento. Tais condições foram observadas durante as coletas. Dentre os isolados das quatro amostras que produziam coagulase positiva, duas eram do supermercado B e duas dos açougues.

Estabelecimentos comercializadores de carne de pequeno porte, tais como casas de carne e açougues, possuem maior dificuldade na implantação de programas de qualidade de alimentos, devido à falta de recursos, conhecimento sanitário e envolvimento dos proprietários (FERREIRA, 2008). Tais fatores aliados a más condições sanitárias durante o processamento, produção ou estocagem do alimento, favorece elevada contagem de coliformes (LEITE JR., 2013) e a falta de higiene dos manipuladores, favorece a presença em níveis elevados de bactérias do gênero *Staphylococcus* (GERMANO; GERMANO, 2008).

Para CBL não houve diferença entre os estabelecimentos ($p=0,0766$), entretanto, ocorreram elevadas contagens em todos os estabelecimentos (Tabela 4). Contagens elevadas desses microrganismos ocorrem devido condições inadequadas de higiene com instalações, equipamentos e utensílios, que favorecem a germinação dos esporos. Valores semelhantes foram encontrados por Marchi (2006), que ao analisar carne moída procedente de supermercados e açougues de Jaboticabal observou a maioria das amostras (76,7%) apresentando contagens entre $1,0 \times 10^3$ e $1,0 \times 10^5$ UFC/g.

Tabela 4 - Valores médios da contagem de microrganismos mesófilos aeróbios estritos e facultativos viáveis (CM), psicrotróficos aeróbios estritos e facultativos (CP), coliformes termotolerantes (CT), *Staphylococcus aureus* (SA) e bolores e leveduras (CBL) obtidos das amostras de carne moída dos estabelecimentos (ESTAB): rede de supermercados A, rede de supermercados B e açougues.

ESTAB	n	CM	CP	CT	SA	CBL
		UFC/g	UFC/g	NMP/g	UFC/g	UFC/g
Rede A	16	$9,0^a \times 10^7$	$7,2^a \times 10^8$	$3,2^b \times 10^1$	$3,0^b \times 10^5$	$5,8^a \times 10^5$
Rede B	16	$6,0^b \times 10^6$	$1,3^a \times 10^8$	$5,7^b \times 10^1$	$2,2^b \times 10^5$	$3,1^a \times 10^5$
Açougues	16	$1,2^{a,b} \times 10^8$	$5,4^a \times 10^8$	$5,1^a \times 10^3$	$6,7^a \times 10^5$	$6,1^a \times 10^4$

*Médias seguidas por letras minúsculas iguais na mesma coluna, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Kruskal-Wallis ($p<0,05$).

Quanto a presença de *Salmonella* spp., foi verificada a presença em três amostras do supermercado A e quatro amostras do supermercado B e açougues, cada. Sendo assim, o tipo de estabelecimento não influenciou na presença da bactéria ($p=0,6740$).

Considerando os resultados físico-químicos, os três grupos de estabelecimentos estudados apresentaram alterações na prova de Nessler, com valores percentuais aproximados entre si. Quanto ao aspecto e a cor do filtrado, a rede de supermercados A obteve valores

proporcionais de turbidez e tonalidade groselha, enquanto a rede de supermercados B apresentou valores inversamente proporcionais, sendo o aspecto límpido e a cor do filtrado em tonalidade groselha em percentuais mais elevados. Possivelmente, isso ocorreu pela prática inadequada do estabelecimento ao manter os cortes cárneos não processados ou já processados (moído) maior tempo estocado. Além de favorecer a multiplicação bacteriana, essa estocagem prolongada causou maior desidratação da superfície, resultando em escurecimento da carne, visualizado na tonalidade groselha na cor do filtrado. Conforme o Instituto Adolfo Lutz (2008), a alteração na coloração da carne pode estar relacionada ao frescor e ao tempo de exposição do corte ao ambiente, pois conforme o corte envelhece há escurecimento da superfície, que se torna progressivamente escura ou acinzentada. Quanto ao odor do filtrado na prova de filtração e cocção e a consistência da carne, foi observado pequenas quantidade de amostras com alterações.

Tabela 5 – Valores de frequência das alterações físico-químicas na prova de Nessler, aspecto, cor e odor do filtrado na prova de filtração e odor e consistência na prova de cocção obtidos das amostras de carne moída dos estabelecimentos: rede de supermercado A, Rede de supermercado B e açougues.

Análise realizada	Alteração	Rede A	Rede B	Açougues
Prova de Nessler	Amarelo esverdeado	12 (75%)	13 (81,25%)	11(68,75%)
	Amarelo	4 (25%)	3 (18,75%)	5 (31,25%)
Aspecto do filtrado	Límpido	5 (31,25%)	14 (87,5%)	8 (50%)
	Turvo	11 (68,75%)	2 (12,5%)	8 (50%)
Cor do filtrado	Róseo Claro	7 (43,75%)	2 (12,5%)	8 (50%)
	Groselha	9 (56,25%)	14 (87,5)	8 (50%)
Odor do filtrado	Sui generis	15 (93,75%)	16 (100%)	16 (100%)
	Odor amoniacal	1 (6,25%)	0 (0%)	0 (0%)
Odor na prova de cocção	Sui generis	13 (81,25%)	15 (93,75%)	16 (100%)
	Odor amoniacal	3 (18,75%)	1 (6,25%)	0 (0%)
Consistência da carne	Firme	16 (100%)	14 (87,5%)	14 (87,5%)
	Friável	0 (0%)	2 (12,5%)	2 (12,5%)

As temperaturas aferidas nas carnes coletadas não diferiram significativamente ($p=0,6392$), mas foram elevadas e inadequadas em todos os estabelecimentos (Tabela 6), portanto, em contradição com a legislação em vigor, que deve ser de 0 a 4° C (BRASIL, 2003a). Isso ocorre, possivelmente devido o procedimento de moagem ser realizado nas dependências da desossa ou nos setores de atendimento detrás dos balcões frigorificados dos

estabelecimentos, em condições de temperatura ambiente em desacordo com a legislação, que determina temperatura inferior igual ou inferior a 10 °C nas salas de moagem (BRASIL, 2003a). O ambiente inadequado para manipulação das carnes influenciou diretamente no aumento expressivo das temperaturas no produto, por não ter controle de temperatura ambiental nos estabelecimentos. Consequentemente favoreceu a multiplicação de microrganismos deteriorantes e patogênicos, com destaque à *Salmonella* spp., cujos todos os isolados foram provenientes de amostras que estavam em temperatura superior ao recomendado.

Quanto ao pH, o supermercado B apresentou o menor valor ($p < 0,0015$), todavia, todos os valores estavam de acordo com o preconizado na legislação (BRASIL, 1999).

Não houve diferença entre os três estabelecimentos com relação à umidade ($p = 0,1372$), proteína ($p = 0,3222$) e cinzas ($p = 0,5018$), com valores de acordo com o padrão de composição do alimento (TACO, 2011). Entretanto para lipídeos, o supermercado B apresentou o valor mais elevado ($p < 0,0074$). Provavelmente decorrente de práticas inadequadas para incorporar maior ganho de massa com produtos de qualidade inferior, consequentemente influenciando no valor final do produto ao consumidor.

Tabela 6 - Valores médios \pm desvio padrão (DP) da Temperatura, pH, umidade, proteína, lipídeos e cinza, obtidos das amostras de carne moída amostras de carne moída dos estabelecimentos (ESTAB): rede de supermercados A, rede de supermercados B e açougues.

ESTAB	N	Temperatura	pH	Umidade	Proteína	Lipídeos	Cinzas
Rede A	16	13,7 ^a \pm 4,2	5,8 ^a \pm 0,2	73,4 ^a \pm 2,3	21,1 ^a \pm 4,7	4,5 ^b \pm 2,3	1,0 ^a \pm 0,2
Rede B	16	12,6 ^a \pm 4,5	5,6 ^b \pm 0,1	70,2 ^a \pm 5,1	19,8 ^a \pm 2,9	8,5 ^a \pm 4,7	1,0 ^a \pm 0,3
Açougues	16	13,8 ^a \pm 9,3	5,8 ^a \pm 0,2	72,9 ^a \pm 2,3	19,3 ^a \pm 1,7	4,4 ^b \pm 2,3	1,0 ^a \pm 0,2

*Médias seguidas por letras maiúsculas iguais na mesma coluna, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$).

De forma geral, as formas de apresentação e os diferentes estabelecimentos apresentaram resultados inadequados em vários parâmetros de qualidade microbiológica e físico-química (Tabela 7). Não houve diferença significativa para maior parte dos parâmetros estudados e, mesmo nos casos nos quais que houve diferença, ainda assim as amostras estavam fora do padrão.

Tabela 7 – Percentuais de inconformidades fora do padrão recomendado para as formas de apresentação da carne moída e entre os estabelecimentos.

	CM	CP	CT	SA+	CBL	Salm	°C	pH	Lipídeos	Amônia	Aspecto	Tonalidade	Odor filtrado	Odor cocção	Textura
Tipos															
CMA	37,5	62,5	20,83	8,33	75	29,17	95,83	0	0	8,33	41,67	66,67	0	4,17	12,5
CPM	62,5	83,33	16,67	8,33	79,17	16,7	91,67	0	8,33	41,67	45,83	62,5	4,16	12,5	4,16
Estab															
Rede A	68,75	62,5	0	0	50	18,75	100	0	0	25	68,75	56,25	6,25	18,75	0
Rede B	37,5	62,5	0	12,5	100	25	100	0	12,5	18,75	12,5	87,5	0	6,25	12,5
Açougues	43,75	93,75	56,25	12,5	81,25	25	81,25	0	0	31,25	50	50	0	0	12,5

Analisando-se somente os dados das amostras conforme as análises especificadas na legislação brasileira (BRASIL, 2001), foi constatado que a carne previamente moída apresentou maior percentual de inconformidades (Tabela 8), representando 70,83% das amostras. Com relação aos estabelecimentos, os açougues (81,25%) apresentaram maior percentual de inconformidades, seguido pela rede de Supermercados B (62,5%) e por último a rede de Supermercados A (43,75%) (Tabela 9). Quanto ao percentual total correspondente à qualidade da carne moída comercializada em Manaus, foi constatado que 62,5% estavam em desacordo com as normas preconizadas na legislação.

Tabela 8 – Qualidade geral considerando pH, amônia (IN. 20/1999), Coliformes termotolerantes, *Staphylococcus aureus* Coagulase positiva, *Salmonella* spp. (RDC 12, 2001) e Lipídeos (IN. 83/2003) entre as formas de exposição.

Forma de apresentação	Aceitável	Não aceitável	N
Carne moída na aquisição	11 (45,83%)	13 (54,17%)	24
Carne previamente moída	7 (29,17%)	17 (70,83%)	24
Total	18 (37,5%)	30 (62,5%)	48

Tabela 9 – Qualidade geral considerando pH, amônia (IN. 20/1999), Coliformes termotolerantes, *Staphylococcus aureus* Coagulase positiva, *Salmonella* spp. (RDC 12, 2001) e Lipídeos (IN. 83/2003) entre os estabelecimentos.

Estabelecimento	Aceitável	Não aceitável	N
Rede supermercados A	9 (56,25%)	7 (43,75%)	16
Rede supermercados B	6 (37,25%)	10 (62,5%)	16
Açougues	3 (18,75%)	13 (81,25%)	16
Total	18 (37,5%)	30 (62,5%)	48

Ao se analisar esses mesmos dados embasados na legislação, incluindo os valores de temperatura obtidos no momento da coleta, não houve qualquer amostra de carne moída na aquisição com temperatura conforme determina a legislação (Tabela 10) (BRASIL, 2003a), enquanto que para a carne previamente moída só ocorreram duas amostras com a temperatura conforme preconizado, cujos estabelecimentos foram os açougues (Tabela 11). Quanto ao percentual total correspondente à qualidade da carne moída comercializada em Manaus, considerando a temperatura, foi constatado que 95,83 % estavam em desacordo com as normas preconizadas na legislação, o que traz possíveis riscos iminentes do aparecimento de doenças transmitidas por alimentos, bem como o consumo inadequado de produtos deteriorados.

Tabela 10 – Qualidade geral considerando pH, amônia (IN. 20/1999), Temperatura (IN. 83/2003) , Coliformes termotolerantes, *Staphylococcus aureus* Coagulase positiva, *Salmonella* spp. (RDC 12, 2001) e Lipídeos (IN. 83/2003) entre os estabelecimentos.

Forma de apresentação	Aceitável	Não aceitável	N
Carne moída na aquisição	0	24 (100%)	24
Carne previamente moída	2 (8,33%)	22 (91,67%)	24
Total	2 (4,16%)	46 (95,83%)	48

Tabela 11 – Qualidade geral considerando pH, amônia (IN. 20/1999), Temperatura (IN. 83/2003) , Coliformes termotolerantes, *Staphylococcus aureus* Coagulase positiva, *Salmonella* spp. (RDC 12, 2001) e Lipídeos (IN. 83/2003) entre os estabelecimentos.

Estabelecimento	Aceitável	Não aceitável	N
Rede supermercados A	0	16 (100%)	16
Rede supermercados B	0	16 (100 %)	16
Açougues	2 (12,5%)	14 (87,5%)	16
Total	2 (4,16%)	46 (95,83%)	48

Caso fossem utilizadas condições melhores de obtenção e manipulação da matéria prima, provavelmente não haveria maiores implicações na comercialização da carne previamente moída. Kang *et al.* (2018) descreveram que amostras de carnes moídas adquiridas em estabelecimentos com temperatura de processamento monitorada abaixo de 20 °C exibiram níveis mais baixos de contaminação para coliformes do que estabelecimentos com temperaturas superior.

Considerando os resultados obtidos, é possível que as variáveis analisadas, formas de apresentação da carne moída ou os tipos de estabelecimento, não tenham sido a principal causa das falhas observadas, mas possivelmente qualidade da matéria prima, procedimentos de higiene e manipulação do produto. Estes dependem de um maior monitoramento por parte de auditorias internas por técnicos dos próprios estabelecimentos e auditorias externas pelos órgãos de fiscalização. Dessa forma, será possível prevenir falhas e cumprir efetivamente as normas para obtenção de um alimento seguro, mitigando riscos à saúde do consumidor.

3 CONCLUSÃO

As carnes moídas *in natura* comercializadas em Manaus, tanto aquela previamente moída quanto a moída no momento da aquisição, não apresentaram diferença para *S. aureus*, coliformes termotolerantes e bolores e leveduras, mas tendo ocorrido alta contagem em ambos os processos. No entanto, carnes previamente moídas apresentaram maiores números de mesófilos e psicrotróficos. Foi detectada a presença de *Salmonella* spp. em ambas as formas de apresentação e em todos os estabelecimentos. Foi observada temperatura acima do determinado pela legislação, independentemente do tipo de apresentação da carne moída e do estabelecimento. A carne previamente moída apresentou maior teor de lipídeos, maior teor de amônia e menor teor de umidade e cinzas. Considerando a qualidade global do produto, a carne previamente moída teve maior número de falhas quando comparada à carne moída na aquisição.

A rede de supermercados A apresentou maior contagem de mesófilos que a rede de supermercados B. As contagens de mesófilos, psicrotróficos e bolores e leveduras foram elevadas em todos os estabelecimentos. Nos açougues foi observada elevadas contagens de coliformes termotolerantes e *S. aureus*. A rede de supermercados B apresentou o menor valor de pH e o maior teor de lipídeos.

A carne moída comercializada na cidade de Manaus, Amazonas, apresentou baixa qualidade microbiológica e físico-química, possuindo potencial risco ao consumidor local. É fundamental o cumprimento das normas, bem como incluir novos parâmetros de qualidade microbiológica pra microrganismos deteriorantes e patogênicos na legislação brasileira, realizar implantação de procedimentos eficientes de higienização e sanitização e um monitoramento eficaz por parte de auditorias internas por técnicos dos próprios estabelecimentos e auditorias externas pelos órgãos de fiscalização. Assim será possível prevenir falhas e cumprir efetivamente as normas para obtenção desse alimento com segurança, mitigando riscos à saúde do consumidor.

4 REFERÊNCIAS

ABIEC. Perfil da Pecuária no Brasil. **Associação Brasileira de Indústria Exportadora de Carne Bovina**. 2018. Disponível em: <<http://abiec.siteoficial.ws/images/upload/sumario-pt-010217.pdf>> Acesso em: 10 Fevereiro 2019.

ADAF. Secretaria de Estado da Produção Rural. **Ofício n. 1184/2017/ADAF-AM**. Manaus, 4 p. Dados não publicados. 2017.

ALMEIDA, R. C. C.; SCHNEIDER, I. S. Aspectos microbiológicos e químicos de produtos alimentícios elaborados com carnes moídas, vendidas no varejo no município de Campinas. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v.2, n.1-2, p.37-41, 1983.

ALVES, D. D.; MANCIO, A. B. Maciez da carne bovina: uma revisão. **Revista da Faculdade de Zootecnia, Veterinária e Agronomia**, Uruguaiana, v.14, n.1, p. 193-216. 2007. Disponível em:<<http://revistaseletronicas.pucrs.br/ojs/index.php/fzva/article/view/2488>> Acesso em 29 janeiro 2019.

ANJOS, L. D. **Modelos de crescimento de psicrotróficos em diferentes temperaturas e pH**. 2013. 126 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Curso de Pós Graduação em Ciências de Alimentos, Universidade Federal de Lavras, Lavras.

APHA. AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. Committee on Microbiological Methods for Foods. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4.ed. Washington, 2001. 676p.

AQUINO, J. S.; VASCONCELOS, J. C.; SILVA, M. S. B. Ocorrência de bactérias do gênero *Salmonella* em carne moída comercializada na cidade de Manaus (AM). **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**. Curitiba, v. 10, n. 2, p 194-200, 1992.

Disponível em: <<https://revistas.ufpr.br/alimentos/article/view/14436/9701>> Acesso em: 04 Abril 2017.

BAILEY, G.; HUYNH, L.; GOVENLOCK, L.; JORDAN, D.; JENSON, I. Low Prevalence of *Salmonella* and Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* in Lymph Nodes of Australian Beef Cattle. **Journal of Food Protection**. v. 80, n. 12, p. 2105-2111, dec. 2017. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29166174>> Acesso em 28 janeiro 2019.

BAIRD-PARKER, A. C. The Staphylococci: na introduction. **Journal of Applied Bacteriology. Supplement**, Oxford, v. 19, p. 1S-8S, 1990.

BLIGH, E.G.; DYER, W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v. 37, n. 8, p. 911-917, 1959.

Disponível em: <<http://www.nrcresearchpress.com/doi/pdf/10.1139/o59-099>> Acesso em: 08 Fevereiro 2019.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Decreto nº 9.013, de 29 de março de 2017. Regulamenta a inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal, que disciplina a fiscalização e a inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal. **Diário Oficial da União**. Brasília, 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos no Brasil. 2018.** Disponível em: <<http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2018/julho/02/Apresentacao-Surtos-DTA-Junho-2018.pdf>> Acesso em: 23 Janeiro 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos no Brasil. 2019.** Disponível em: <<http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2019/fevereiro/15/Apresenta----o-Surtos-DTA---Fevereiro-2019.pdf>> Acesso em: 03 março 2019.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n. 20, de 21 de julho de 1999. Oficializar os métodos analíticos físico-químicos, para controle de produtos cárneos e seus ingredientes. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 1999. Disponível: <http://www.consultaesic.cgu.gov.br/busca/dados/Lists/Pedido/Attachments/470907/RESPOSTA_PEDIDO_Instrucao%20Normativa%20SDAMAPA%2020%20de%2021.7.1999.pdf> Acesso em: 04 Abril 2017.

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC n. 12 de 02 de janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 2001. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/RDC_12_2001.pdf/15ffddf6-3767-4527-bfac-740a0400829b> Acesso em: 04 Abril 2017.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa n. 83, de 21 de novembro de 2003. Regulamento técnico de carne moída de bovino, **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Brasília, 2003a. Disponível em: <<https://www.defesa.agricultura.sp.gov.br/legislacoes/instrucao-normativa-sda-83-de-21-11-2003,666.html>> Acesso em: 30 Janeiro 2019.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. Oficializa os métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e água. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 2003b. Disponível em: <<https://www.defesa.agricultura.sp.gov.br/legislacoes/instrucao-normativa-sda-62-de-26-08-2003,665.html>> Acesso em: 30 Janeiro 2019.

BROOKS, G. F.; BUTEL, J. S.; MORSE, S. A. **Microbiologia Médica**. 21a ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2000. 612 p.

CARRERO, C.; ALBUJA, G.; FRIZO, P.; HOFFMANN, E. K.; ALVES, C.; BEZERRA, C. **S. A Cadeia Produtiva da Carne Bovina no Amazonas**. Manaus: IDESAM, 2015. 44 p.

CDC. Centers for Disease Control and Prevention. **Reports of Selected E. coli Outbreak Investigations**. Department of Health and Human Services, CDC. Atlanta, Georgia: USA, 2018. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/ecoli/outbreaks.html>> Acesso em: 22 fevereiro 2019.

CDC. Centers for Disease Control and Prevention. **Reports of Selected Salmonella Outbreak Investigations**. Department of Health and Human Services, CDC. Atlanta, Georgia: USA, 2019. Disponível em <<https://www.cdc.gov/salmonella/outbreaks.html>> Acesso em: 24 fevereiro 2019.

CINTRA, A. P. R.; ANDRADE, M. C. G.; LAZARINI, M. M.; ASSIS, D. C. S.; SILVA, G. R.; MENEZES, L. D. M.; ORNELLAS, C. B. D.; FIGUEIREDO, T. C.; CANCADO, S. V. Influence of cutting room temperature on the microbiological quality of chicken breast meat. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.68, n.3, p.814-820, 2016. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/abmvz/v68n3/0102-0935-abmvz-68-03-00814.pdf>> Acesso em 01 março 2019.

EVANGELISTA, J. **Tecnologia de Alimentos**. 2 ed. São Paulo: Atheneu, 2005. 712p

FERREIRA, I. F. **Riscos relacionados à contaminação microbiana de carne moída bovina**. 2008. 62 p. Dissertação (Mestrado em produção animal) - Curso de Pós Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia.

FERREIRA, R. S., SIMM, E. M. Análise Microbiológica da carne moída de um açougue da região central do município de Pará de Minas/MG. **Revista Digital FAPAM**. v. 3, n. 3, p. 37-61, abr. 2012. Disponível em: <<http://periodicos.fapam.edu.br/index.php/synthesis/article/view/50/46>> Acesso em: 08 abril 2017.

FLORENTINO, E. R.; LEITE JR., A. F.; SÁ, S. N.; ARAÚJO, M. S. O.; MARTINS, R. S. Avaliação da qualidade microbiológica da carne moída comercializada em Campina Grande, PB. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v.11, n.47, p.38-41, 1997.

FONTOURA, C. L. E.; ROSSI JÚNIOR, O. D.; MARTINELLI, T.M.; CERESER, N. D. Estudo microbiológico em carcaças bovinas e influencia da refrigeração sobre a microbiota contaminante. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 77, n. 2, p. 189-193, abril/jun.

2010. Disponível em: <http://www.biologico.sp.gov.br/uploads/docs/arq/v77_2/fontoura.pdf>
Acesso em: 28 fevereiro 2019

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da Segurança dos alimentos**. 2ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 573 p.

FRAZIER, W. C.; WESTHOFF, D. C. **Microbiología de los alimentos**. 4. ed. Zaragoza: Editorial Acribia, 2000. 681 p.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Ed. Atheneu, 2008. 182 p.

FREITAS FILHO, E. G. I.; FERREIRA, M. R. A.; PINTO, J. F. N.; CONCEIÇÃO, F. R.; MOREIRA, C. N. Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157: H7 from healthy dairy cattle in Mid-West Brazil: occurrence and molecular characterization. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 34, n. 1, p. 24-28, Jan. 2014. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100736X2014000100004&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 24 fevereiro 2019.

GERMANO, P.; GERMANO, M.: **Higiene e vigilância sanitária de alimentos**. 2. ed. São Paulo: Varela. 2001. 629 p.

GRÁCIA, M. A. **Parâmetros indicadores de qualidade de carne moída utilizada em restaurantes de coletividade**. 2011. 138 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Curso de Pós-graduação em Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

HENNEKINNE, J-A.; BUYSER, M-L.; DRAGACCI, S. *Staphylococcus aureus* and its food poisoning toxins: characterization and outbreak investigation. **Federation of european microbiological societies/FEMS microbiology**. v. 36, n. 4, p. 815-836, 2012. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22091892>> Acesso em: 03 Junho 2018.

HUSSEIN, H. S.; BOLLINGER, L. M. Prevalence of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in beef cattle. **Journal of Food Protection**. v. 68, n. 10, p. 2224-41, oct. 2005. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16245735>> Acesso em: 29 janeiro 2019.

IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 2018. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/tabela/1092#resultado>> Acesso em 24 fevereiro 2019.

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

LEITE-JÚNIOR, B. R. C. Qualidade microbiológica de alimentos de origem animal comercializados na região de Minas Gerais. **Vértices**, v. 15, n. 2, p. 49-59, 2013.

ICMSF. International Committee on Microbiological Specification for Food Microorganisms in food. **Their significance and methods of enumeration**. 2ed. Toronto: University Press, 2000. 439 p.

ICMSF, Internacional Comissão on Microbiological Specifications for Foods. **Microorganisms in Foods 7: microbiological testing in food safety management**. New York: Kluwer Academic, 2002. 362 p.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. (Coord.) ZENÉBON, O.; PASCUET, N. S.; TIGLEA, P. 4. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. 1020 p. Disponível em: <http://www.ial.sp.gov.br/resources/ediorinplace/ial/2016_3_19/analisedealimentosial_2008.pdf?attach=true> Acesso em 3 Junho 2018.

KANG, I. B.; KIM, D. H.; JEONG, D.; KIM, H.; SEO, K. H. Contamination Level of Hygiene Indicator and Prevalence of Foodborne Pathogens in Retail Beef in Parallel with Market Factor. **Korean Journal for Food Science of Animal Resources**. v. 38, n. 6, p 1237-1245, dec. 2018. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6335133/>> Acesso em 01 março 2019.

MANAUS, Código Sanitário do Município de Manaus. Lei n° 392, de 27 de junho de 1997 e decreto n. 3910 de 27 de agosto de 1997. Prefeitura Municipal de Manaus. **Secretaria Municipal de Saúde – SEMSA. Departamento de Vigilância à saúde – COVISA**. Manaus: s. n, 1997. 111 p. Disponível em: < <https://leismunicipais.com.br/a2/am/m/manaus/lei-ordinaria/1997/40/392/lei-ordinaria-n-392-1997-dispoe-sobre-a-competencia-e-campo-de-acao-da-secretaria-municipal-de-saude>> Acesso em: 26 Janeiro 2019.

MANTILLA, S. P. S.; FRANCO, R. B.; OLIVEIRA, L. A. T.; SANTOS, E. B.; GOUVEA R. Ocorrência de *Listeria* spp. em amostras de carne bovina moída comercializadas no município de Niterói, RJ, Brasil. **Ciência e agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 4, p. 1225-1230, jul/ago. 2007. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cagro/v31n4/42.pdf>> Acesso em: 13 Janeiro 2019.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Dados de rebanho bovino e bubalino no Brasil. **Secretaria de Defesa Agropecuária Departamento de Saúde Animal**. 2017. Disponível em: < http://www.agricultura.gov.br/assuntos/sanidade-animal-e-vegetal/saude-animal/programas-de-saude-animal/febre-aftosa/documentos-febre-aftosa/DadosderebanhobovinoebubalinodoBrasil_2017.pdf> Acesso em: 28 janeiro 2019.

MARCHI, P.G.F. **Estudo comparativo do estado de conservação de carne moída através de métodos microbiológicos e físico-químicos**. 2006. 72 p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Curso de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

MCVEY, S.; KENNEDY, M.; CHENGAPPA, M. M. **Microbiologia veterinária**. 3. ed, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017, 932 p.

MEDEIROS, S. R. **Valor nutricional da carne bovina e suas implicações para a saúde humana**. Embrapa Gado de Corte, Campo Grande, MS. 2008. 31 p. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CNPGC-2009-09/12406/1/DOC171.pdf>> Acesso em: 28 janeiro 2019

MENDONÇA, C. R.; GRANADA, G. G. Coliformes em açougues de pelotas, RS. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 5, n. 1, p 75-76, jan/abril, 1999. Disponível em: <<https://periodicos.ufpel.edu.br/ojs2/index.php/CAST/article/view/244>> Acesso em 29 janeiro 2019.

MONTEIRO, E. S.; COSTA, P. A.; MANFRIN, L. C.; FREIRE, D. O. SILVA. I. C.; ORSI, D. C. Qualidade microbiológica de carne bovina moída comercializada em supermercados do Distrito Federal, Brasil. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 12, n. 4, p. 520-530, 2018. Disponível em: <<http://www.higieneanimal.ufc.br/seer/index.php/higieneanimal/article/view/467>> Acesso em: 26 janeiro 2019.

MOTTA, M. R. A., BELMONTE, M. A., PANETTA, J. C. Avaliação microbiológica de amostras de carne moída comercializada em supermercados da região Oeste de São Paulo. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 14, n. 78/79, p. 59-62, 2000.

NASCIMENTO, M. V. D.; UEDES, A. T. L.; SILVA, H. A.; SANTOS, V. E. P.; PAZ, M. C. F. Avaliação microbiológica de carne moída fresca comercializada no mercado central em Campina Grande, PB. **Revista Saúde e Ciência**, v. 3, n. 1, p. 56-68, 2014. Disponível em: <<http://www.ufcg.edu.br/revistasauedeeciencia/index.php/RSC-UFCG/article/view/85/76>> Acesso em: 29 janeiro 2019.

OLIVEIRA, M. M. M.; BRUGNERA, D. F.; MENDONÇA, A. T.; PICOLLI, R. H. Condições higiênico-sanitárias de máquinas de moer carne, mãos de manipuladores e qualidade microbiológica da carne moída. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 6, p. 1893-1898, 2008. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cagro/v32n6/v32n6a31.pdf>> Acesso em: 26 janeiro 2019.

ORDONEZ, J. A.; RODRIGUEZ, M. I. C.; ÁLVAREZ, L. F.; SANZ, M. L. G.; MINGUILLÓN, G. D. G. F.; PERALES, L. H.; CORTECERO, M. D. S. **Tecnologia de Alimentos**. Porto Alegre: Artmed, v. 2, 2005.

PARDI, M. C.; SANTOS, I. F.; SOUZA, E. R.; PARDI, H. S. **Ciência, higiene e tecnologia da carne**. Goiânia: EDUFF UFG, v. 1, 1993. 586 p.

PERESI, J. T. M.; ALMEIDA, I. A. Z. C.; LIMA, S. I.; MARQUES, D. F.; RODRIGUES, C. A. FERNANDES, S. A.; GELLI, D. S.; IRINO, K. Surtos de enfermidades transmitidas por alimentos causados por *Salmonella enteritidis*. **Revista Saúde Pública**, São Paulo, v. 32, n. 5, p. 477-83, 1998.

PRATA, C. B. **Ocorrência de *Escherichia coli* O157:H7 em bovinos abatidos em estabelecimento habilitado à exportação na cidade de Barretos, SP.** 2009. 88 p. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agropecuária) – Curso de Pós-graduação em Microbiologia Agropecuária, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal

QUINN, P. J.; MARKEY, B. K.; CARTER, M. E.; DONNELLY, W. J.; LEONARD, F. C. **Microbiologia veterinária e doenças infecciosas.** Porto Alegre: Artmed, 2005. 512 p.

RYSER, E. T.; SCHUMAN, J. D. Mesophilic aerobic plate count. In: SALFINGER, Y.; TORTORELLO, M. L. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods.** American Public Health Association, Washington, 5. ed. Chapter 8, p. 95-101, 2015.

SANDRINI, C. N. M.; PEREIRA, M. A.; BROD, C. S.; CARVALHAL J. B.; ALEIXO J. A. G. *Escherichia coli* verotoxigênica: isolamento e prevalência em 60 propriedades de bovinos de leite da região de Pelotas, RS, Brasil. **Ciência Rural**, v. 37, n. 1, p. 175-182, jan/fev. 2007. Disponível em: < <http://www.scielo.br/pdf/cr/v37n1/a28v37n1.pdf>> Acesso em 29 jan 2019.

SANTOS, A. L.; SANTOS, D. O.; FREITAS, C. C.; FERREIRA, B. L. A.; AFONSO, I. F.; RODRIGUES, C. R.; CASTRO, H. C. *Staphylococcus aureus*: Visitando uma cepa de importância hospitalar. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, Rio de Janeiro, v. 43, n. 6, p. 413-423, Dec. 2007. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S167624442007000600005&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 24 fevereiro 2019.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; GOMES, R. A. R.; OKAZAKI, M. M. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos.** 5. ed, São Paulo: Blucher, 2017. 560 p.

SOARES, K. M. P.; SILVA, J. B. A.; SOUZA, L. B.; MENDES, C. G.; ABRANTES, M. R.; CAMPELO, M. C. S.; SOUZA, A. S. Qualidade microbiológica de carne bovina comercializada na forma de bife. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 22, n. 3-4, p. 206-210, jul/dez. 2015. Disponível em: <<http://doi.editoracubo.com.br/10.4322/rbcv.2016.016>> Acesso em: 26 janeiro 2019.

STERN, G. G. **Parâmetros físico-químicos e composição centesimal dos músculos de bovinos holandeses alimentados com dietas de alto concentrado.** 2016. 69 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Curso de Pós-graduação em Zootecnia, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga.

TACO, Tabela brasileira de composição de alimentos. **NEPA-0UNICAMP**. 4. ed. revisada e ampliada. Campinas: NEPA-UNICAMP, 2011. 161 p. Disponível em: <http://www.cfn.org.br/wp-content/uploads/2017/03/taco_4_edicao_ampliada_e_revisada.pdf> Acesso em: 03 Junho 2018.

TAVARES, T. M. SERAFINI, A. B. Carnes de hambúrgueres prontas para consumo: Aspectos legais e riscos bacterianos. **Revista Patologia Tropical**, Goiânia, v. 35, n. 01, p. 1-21, jan/abr. 2006. Disponível em: <<https://repositorio.bc.ufg.br/bitstream/ri/11733/5/Artigo%20%20Talissa%20de%20Moraes%20Tavares%20-%202006.pdf>> Acesso em 03 Junho 2018.

TORRES, E. A. F. S.; CAMPOS, N. C.; DUARTE, M.; GARBELOTTI, M. L.; PHILIPPI, S. T. RODRIGUES, R. S. M. Composição centesimal e valor calórico de alimentos de origem animal, **Food Science and Technology**, Campinas, v. 20, n. 2 maio/ago. 2000. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-206120000002000003> Acesso em 29 janeiro 2019.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. Microbiologia. 10. ed. Porto Alegre: Artmed, 2012. 964 p.

TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. 6ª edição, São Paulo: Editora Atheneu. 2015. 888p.

UNIÃO EUROPÉIA. Regulamento n.º 2073 da Comissão de 15 de Novembro de 2005, relativo a critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios. **Jornal Oficial da União Européia**, JO L 338 de 22.12.2005, p. 1-26, 2005.

VALLE, E. R. **Mitos e realidades sobre o consumo de carne bovina**. Embrapa Gado de corte, Campo Grande, 2000. 33 p. disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/105102/1/DOC100-DOC100.pdf>> Acesso em 29 janeiro 2019.

VELD, J. H. Microbial and biochemical spoilage of foods: an overview. **International Journal of Food Microbiology**, v. 33, n. 1, p. 1-18, nov. 1996. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8913806>> Acesso em: 28 jan 2019.

VICENTE, H. I. G.; AMARAL, L. A.; NUNES, A. P.; LORENZON, C. S. *Escherichia coli*, produtoras de shigatoxinas detectadas em fezes de bovinos leiteiros. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 77, n. 4, p. 567-573, out/dez. 2010. Disponível em: <http://www.biologico.sp.gov.br/uploads/docs/arq/v77_4/vicente.pdf> Acesso em 15 fevereiro 2019.

WHITE, D. G.; SHAOHUA ZHAO, D. V. M.; ROBERT SUDLER, M. S.; SHERRY AYERS, S. F. B. A.; SHENG CHEN, D. V. M.; MCDERMOTT, P. F. SHAWN

MCDERMOTT, B. S.; WAGNER, D. D.; JIANGHONG MENG, D.V.M. The isolation of antibiotic-resistant Salmonella from retail ground meats. **The New England Journal of Medicine**, v. 345, n. 16, p. 1147-1154, oct. 2001. Disponível em: <<https://www.nejm.org/doi/pdf/10.1056/NEJMoa010315>> Acesso em: 03 junho 2018.