



UNIVERSIDADE FEDERAL DO NORTE DO TOCANTINS
ESCOLA DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SANIDADE ANIMAL E SAÚDE
PÚBLICA NOS TRÓPICOS

JEYCY KELLE SIRQUEIRA MENDONÇA

ACOMPANHAMENTO DA MICROBIOTA INDICADORA E PATOGÊNICA
DURANTE A *SHELF LIFE* DE *Longissimus dorsi* EMBALADO À VACUO

ARAGUAÍNA/TO

2023

JEYCY KELLE SIRQUEIRA MENDONÇA

**ACOMPANHAMENTO DA MICROBIOTA INDICADORA E PATOGÊNICA
DURANTE A *SHELF LIFE* DE *Longissimus dorsi* EMBALADO À VACUO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Sanidade Animal e Saúde Pública nos Trópicos (PPGSAPT) da Universidade Federal do Norte do Tocantins como requisito para obtenção do título de Mestre em Sanidade Animal e Saúde Pública.

Orientador: Prof. Dr. José Carlos Ribeiro Júnior

ARAGUAÍNA/TO

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Tocantins

M539a Mendonça, Jeycy Kelle Sirqueira.

ACOMPANHAMENTO DA MICROBIOTA INDICADORA E
PATOGENICA DURANTE A SHELF LIFE DE *Longissimus dorsi*
EMBALADO À VACUO. / Jeycy Kelle Sirqueira Mendonça. – Araguaína,
TO, 2023.

54 f.

Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade Federal do Tocantins
– Câmpus Universitário de Araguaína - Curso de Pós-Graduação (Mestrado)
em Sanidade Animal e Saúde Pública nos Trópicos, 2023.

Orientador: José Carlos Ribeiro Júnior

1. Saúde Pública. 2. Microbiologia. 3. Inspeção. 4. Carne. I. Título

CDD 636.089

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS – A reprodução total ou parcial, de qualquer forma ou por qualquer meio deste documento é autorizado desde que citada a fonte. A violação dos direitos do autor (Lei nº 9.610/98) é crime estabelecido pelo artigo 184 do Código Penal.

Elaborado pelo sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFT com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

FOLHA DE APROVAÇÃO

JEYCY KELLE SIRQUEIRA MENDONÇA

ACOMPANHAMENTO DA MICROBIOTA INDICADORA E PATOGENICA DURANTE A *SHELF LIFE* DE *Longissimus dorsi* EMBALADO À VACUO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Sanidade Animal e Saúde Pública nos Trópicos. Foi avaliada para obtenção do título de Mestre em Sanidade Animal e Saúde Pública nos Trópicos e aprovada em sua forma final pelo orientador e pela Banca Examinadora.

Data de aprovação: 09 de março de 2023.

Banca Examinadora

Prof. Dr. José Carlos Ribeiro Júnior

Dr. Ronaldo Tamanini

Prof. Dra. Bruna Alexandrino

ARAGUAÍNA/TO, 2023.

*Dedico este trabalho a Deus e a minha mãe (in
memorian) que estaria muito feliz por mais essa
conquista.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me sustentar durante todo esse tempo e me fazer perseverar e chegar até aqui. Ao professor Dr. José Carlos que me deu a oportunidade, me ensinou e orientou com todo profissionalismo e dedicação. O senhor é referência, professor.

A minha amiga Hellen Núbia, que foi a quem primeiramente falou de mim ao professor José e durante todo o mestrado me aguentou inúmeras vezes com questionamentos infinitos, principalmente nessa reta final.

Ao Fernando Loiola que foi um dos suportes durante todo o mestrado, principalmente durante a execução do projeto e nossa estada em Araguaína.

A todos os colegas do Labma, mestrandos, estagiários do laboratório, mas em especial a Cristiane, que me ensinou muito, sempre esteve pronta a esclarecer todas as dúvidas e ajudar no dia-a-dia do laboratório.

Aos professores Bruna Alexandrino, Katyane de Sousa e Ronaldo Tamanini, por terem aceito o convite para participarem da minha qualificação e defesa e terem contribuído com melhorias no meu trabalho.

A todos que contribuíram de alguma forma para o andamento deste trabalho, meu muito obrigada.

RESUMO

O Brasil é um dos maiores produtores de carne do mundo. Teve produção estimada em 9,7 milhões de toneladas de carne bovina no ano de 2022, das quais foram exportadas 2,4 milhões de toneladas, que renderam um faturamento de US\$ 1,3 bilhões. A carne, como todo produto de origem animal, é um alimento que requer cuidado com os patógenos microbianos, pois os animais podem ser reservatórios naturais. Visando maior prazo de validade e preservação da qualidade da carne, tecnologias são aplicadas no produto *in natura*, como a embalagem a vácuo, que também contribui para a etapa de maturação úmida. O objetivo do trabalho foi acompanhar a microbiota indicadora e patogênica durante a *shelf life* de *Longissimus dorsi* bovino embalado a vácuo através de análises microbiológicas e biomoleculares. Foram coletadas cinco amostras do corte cárneo bovino contrafilé (*Longissimus dorsi*) embalados a vácuo. Cada uma das amostras foi fracionada em quatro peças e cada peça foi utilizada para compor uma parte de cada um dos *pools*, totalizando quatro *pools* mantidos à 7°C que foram analisados nos dias 0, 20, 40 e 60 após a embalagem primária. Os micro-organismos pesquisados foram aeróbios mesófilos, psicrotróficos, *Pseudomonas* spp., coliformes a 30°C, enterobactérias, *Staphylococcus* coagulase positiva, *Escherichia coli* produtora da toxina *shiga* (STEC), enteropatogênica (EPEC), enterohemorrágica (EHEC), enteroagregativa (EAEC), enterotoxigênica (ETEC) e enteroinvasiva (EIEC), *Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes*. As contagens dos micro-organismos indicadores foram aumentando progressivamente na maioria dos grupos avaliados. Todos os microrganismos patogênicos pesquisados foram identificados. Dos micro-organismos que possuem padrão definido em legislação, *Salmonella* spp. e *E. coli* se apresentaram fora do padrão definido por legislação a partir do dia 20. Mesmo com alguns padrões não definidos em lei, outros grupos de microrganismos indicadores, com reconhecida capacidade proteolítica e/ou lipolítica, que apresentaram-se com elevadas contagens, é possível que o produto analisado apresente alterações de qualidade e segurança para o consumo que podem encurtar a *shelf life*, ao mesmo tempo de poder ser veículo de patógenos direta e indiretamente relacionados com contaminação que predispõe doenças transmitidas por alimentos. Para aumento da vida útil do contra-filé embalado a vácuo e atendimento dos padrões de qualidade e segurança microbiológica, faz-se necessário que o estabelecimento realize revisões e adequações na execução e no monitoramento dos programas de autocontrole para garantir a qualidade dos produtos.

Palavras-Chave: Análises microbiológicas; Carne bovina resfriada; Doenças Transmitidas por Alimentos; Qualidade.

ABSTRACT

Brazil is one of the largest meat producers in the world. It had an estimated production of 9.7 million tons of beef in 2022, of which 2.4 million tons were exported, with invoicing of US\$ 1.3 billion. Meat, like any product of animal origin, is a food that requires care with microbial pathogens, as animals can be natural reservoirs. Aiming at longer shelf life and preserving the quality of the meat, technologies are applied to the fresh product, such as vacuum packaging, which also contributes to the wet maturation stage. The objective of this work was to monitor the indicator and pathogenic microbiota indicator during the shelf life of vacuum-packed bovine *Longissimus dorsi* through microbiological and biomolecular analyses. Five samples of vacuum-packed beef tenderloin (*Longissimus dorsi*) were collected. Each of the samples was divided into four parts and each part was used to compose a part of each of the pools, totaling four pools kept at 7°C that were analyzed on days 0, 20, 40 and 60 after primary packaging. The microorganisms searched were mesophilic aerobes, psychrotrophs, *Pseudomonas* spp., coliforms at 30°C, enterobacteria, coagulase-positive *Staphylococcus*, *Escherichia coli* shiga toxin-producing (STEC), enteropathogenic (EPEC), enterohemorrhagic (EHEC), enteroaggregative (EAEC), enterotoxigenic (ETEC) and enteroinvasive (EIEC), *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes*. Counts of indicator microorganisms increased progressively in most of the evaluated groups. All pathogenic microorganisms searched were identified. Of the microorganisms that have a standard defined in legislation, *Salmonella* spp. and *E. coli* were outside the standard defined by legislation from the 20th. Even with some standards not defined by law, other groups of indicator microorganisms, with recognized proteolytic and/or lipolytic capacity, which presented high counts, it is possible that the analyzed product presents changes in quality and safety for consumption that can shorten the shelf life, at the same time that it can be a vehicle for pathogens directly and indirectly related to contamination that predisposes foodborne illnesses. For to increase the shelf life of the vacuum-packed sirloin beef and compliance the standards of quality and microbiological safety, it is necessary for the establishment to carry out revisions and adjustments in the execution and monitoring of self-control programs to guarantee the quality of the products.

Key words: Microbiological analysis; Beef; Foodborne illnesses; Quality.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

CAPÍTULO I

Figura 1 – Fluxograma do processo de abate de bovinos 16

Figura 2 – Diferenças entre a contaminação de bactérias patogênicas e deteriorantes no processo de abate 18

CAPÍTULO II

Figura 1 – Evolução das contagens dos micro-organismos indicadores da *Shelf life* do *Longissimus dorsi* coletado de um Abatedouro Frigorífico de bovinos no norte do Tocantins no período de 25 de setembro a 06 de dezembro de 2021 40

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Exemplos de perigos físicos, químicos e microbiológicos na produção de carnes	16
Quadro 2 – Plano amostral com padrões microbiológicos aceitáveis definido pela Instrução Normativa n° 161 de 1° de julho de 2022 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária	22

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Genes e condições de amplificação das Reações em Cadeia da Polimerase	37
Tabela 2 – Pesquisa de micro-organismos indicadores durante cada etapa da <i>Shelf life</i> do <i>Longissimus dorsi</i> coletado de um Abatedouro Frigorífico de bovinos no norte do Tocantins no período de 25 de setembro a 06 de dezembro de 2021	39
Tabela 3 – Pesquisa de <i>Pseudomonas</i> spp. durante cada etapa da <i>shelf life</i> de <i>Longissimus dorsi</i> de um Abatedouro Frigorífico de bovinos no norte do Tocantins no período de 25 de setembro a 06 de dezembro de 2021	42
Tabela 4 – Pesquisa de patógenos alimentares durante cada etapa da <i>Shelf life</i> do <i>Longissimus dorsi</i> de um Abatedouro Frigorífico de bovinos no norte do Tocantins no período de 25 de setembro a 06 de dezembro de 2021	44

LISTA DE SIGLAS

ABIEC	Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carnes
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BOD	Biochemical Oxygen Demand
DTA	Doença Transmitida por Alimento
EAEC	<i>E. coli Enteroagregativa</i>
ECP	Estafilococos Coagulase Positiva
EHEC	<i>E. coli enterohemorrhagic</i>
EIEC	<i>E. coli enteroinvasiva</i>
EPEC	<i>E. coli Enteropatogênica</i>
ETEC	<i>E. coli enterotoxigênica</i>
FOB	<i>Free on Board</i>
HACCP	Hazard Analysis and Critical Control Point
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
ICMSF	Comissão Internacional de Especificações Microbiológicas em Alimentos
ISO	International Organization for Standardization
MAPA	Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento
PCA	Ágar Padrão para Contagem
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
SIF	Serviço de Inspeção Federal
STEC	<i>E. coli Shiga toxin-producing</i>

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. OBJETIVOS	14
2.1. Objetivo Geral	14
2.2. Objetivos Específicos	14
3. CAPÍTULO I – REVISÃO DE LITERATURA	15
3.1. Produção de carne bovina no Brasil.....	15
3.2. Controle sanitário da produção	15
3.3. Contaminação microbiológica da carne.....	17
3.4. Requisitos legais da carne resfriada no comércio	22
3.5. Deterioração microbiana da carne	22
3.6. Aumento da vida útil da carne	23
REFERÊNCIAS	25
4. CAPÍTULO II – ARTIGO	30
Introdução	31
Material e Métodos	32
Resultados e Discussões	36
Conclusão	45
Referências	45
5. CAPÍTULO III	53
CONSIDERAÇÕES FINAIS	53

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é um dos maiores produtores de carne do mundo. Só no ano de 2022, teve produção estimada em 9,7 milhões de toneladas de carne bovina, das quais foram exportadas 2,4 milhões toneladas, que renderam um faturamento de US\$ 1,3 bilhões FOB (*Free On Board*) (ABIEC, 2023). Sendo o Tocantins um estado com destaque, tanto na criação de bovinos como produtor e exportador de carne bovina (IBGE, 2023).

Por ser um dos maiores produtores do mundo e exportando milhões de toneladas de carne por ano, a indústria de carne se torna um setor de grande importância econômica para o país, o qual deve apresentar rigoroso controle para assegurar a qualidade higiênico sanitária e a segurança desses produtos. Para se ter esse controle é necessário avaliar vários pontos, visando os riscos físicos, químicos e biológicos dentro da indústria (PALMA, 2010). Todos os riscos devem ser controlados dentro das indústrias, no entanto, a contaminação de natureza biológica de origem microbiana é considerado o que representa maior risco a inocuidade dos alimentos, causando mais casos de infecções e/ou intoxicações alimentares (BAPTISTA; VENÂNCIO, 2003).

Os produtos de origem animal, em geral são potencialmente mais relacionados com doenças transmitidas por alimentos (DTA), pois a microbiota presente no próprio organismo dos animais poderá ser patogênica aos humanos (FORSYTHE, 2013). Devido a isso, na saúde pública são demandados muitos recursos financeiros e médicos para o controle dessas doenças. A terapia dessas doenças de etiologia bacteriana muitas vezes é baseada na utilização de antimicrobianos, porém, sabe-se que a resistência microbiana aos princípios ativos é um dos maiores desafios para a promoção da saúde (MORAES; CASTRO, 2014).

Para minimizar o risco dessas doenças, o consumidor deve sempre optar pelos produtos inspecionados, os quais possuem controles durante o processo que garantem a segurança alimentar. O consumo de produtos não inspecionados, sabidamente, deixa a população mais exposta a doenças (ROCHA et al., 2018). Além disso, sabe-se que podem existir falhas tecnológicas durante a produção, a obtenção, bem como estocagem dos alimentos. O tipo de embalagem a qual recebe o alimento também é de suma importância para a qualidade e inocuidade do alimento (FURLANETTO, 2020).

Acredita-se que um dos tipos de embalagem que pode aumentar a vida útil do produto é a embalagem a vácuo. Levando-se em consideração todas as características da embalagem referentes à proteção e apresentação do produto para o consumidor, é imprescindível que a qualidade microbiológica do produto esteja de acordo com os parâmetros exigidos pela legislação, garantindo, assim, que o alimento chegue com segurança ao consumidor (AUGUSTO; JORGE; MENDONÇA, 2011).

Além do aspecto tecnológico, a logística da produção até a distribuição da carne para os mercados consumidores do Brasil e do mundo precisam que o produto tenha o maior período de vida útil possível, preservando-se a inocuidade e os aspectos sensoriais e nutricionais da carne (LIMA, 2009). Dessa forma, é fundamental proporcionar medidas sanitárias para promover ou preservar a integridade do alimento, aumentando sua vida útil (*shelf life*).

Considerando a falta de conhecimento regional sobre os perigos microbiológicos de carnes embaladas a vácuo durante todo o seu período de vida de prateleira; o impacto das DTA's na saúde pública; na falta de embasamento teórico-científico para elaboração de programas profiláticos específicos de controle e vigilância epidemiológica e sanitária do risco de ocorrência de perigos microbiológicos nos alimentos de origem animal; e, também por alguns estabelecimentos que realizam a produção e comercialização deste produto alegarem reclamações de clientes sobre o aspecto do produto próximo ao final da validade, é fundamental que a qualidade microbiológica da carne seja monitorada.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Acompanhar a microbiota indicadora e patogênica durante a *shelf life* de *Longissimus dorsi* embalado a vácuo, através de análises microbiológicas e biomoleculares de caracterização de fatores de virulência de patógenos humanos, as quais podem demonstrar, respectivamente, a qualidade e a segurança do produto a ser inserido no mercado, além de aferir se medidas de controle interno dos frigoríficos precisam ser revisadas.

2.2. Objetivos Específicos

- Quantificar micro-organismos indicadores da qualidade microbiológica como aeróbios mesófilos, psicrotróficos, coliformes a 30°C, *Escherichia coli*, enterobactérias e *Staphylococcus* spp. em carne bovina resfriada embalada a vácuo produzida com inspeção sanitária;
- Quantificar e isolar micro-organismos patogênicos à saúde humana, como *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* e *Escherichia coli*;
- Identificar *Pseudomonas* spp. entre os psicrotróficos da carne bovina embalada a vácuo durante a vida útil como indicativo de potencial deterioração microbiana;
- Identificar fatores de virulência específicos em patógenos bacterianos por abordagem molecular;
- Avaliar a qualidade e segurança microbiológica de carne bovina embalada a vácuo durante a vida útil; e,
- Determinar a qualidade e segurança para fundamentar ações preventivas e corretivas nos programas de autocontrole da área da desossa de um frigorífico com inspeção sanitária.

3. CAPÍTULO I – REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Produção de carne bovina no Brasil

No agronegócio brasileiro a bovinocultura é um dos destaques. Em 2021, com um rebanho de mais de 224 milhões de cabeças de gado, o Brasil é um dos maiores produtores de carne do mundo e o principal exportador desse tipo de carne (IBGE, 2023). Segundo a Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carnes (2023), o país teve uma produção de 9,7 milhões de toneladas de carne bovina, das quais foram exportadas 2,4 milhões de toneladas, com faturamento de US\$ 1,3 bilhões FOB.

Dentre os rebanhos bovinos, o Tocantins se destaca em cenário nacional, sendo o décimo maior produtor do país e o terceiro colocado quando comparado aos estados da região norte (IBGE, 2023). Na produção de carne o Tocantins também é destaque, sendo o nono maior exportador de carne bovina, com mais de 759 mil toneladas de carnes exportadas (ABIEC, 2023), tendo grande importância econômica para o cenário do estado, sendo responsável por 19% das exportações no ano de 2022 (BRASIL, 2023).

Sendo um dos maiores produtores do mundo e exportando milhões de toneladas de carne por ano, a indústria brasileira de carne se torna um setor de grande importância econômica para o país, o qual deve apresentar rigoroso controle para assegurar a qualidade higiênico sanitária e a segurança desses produtos. Para se ter esse controle é necessário avaliar vários pontos, visando os riscos físicos, químicos e biológicos dentro da indústria (FORSYTHE, 2013).

3.2. Controle sanitário da produção

As condições higiênico-sanitárias dentro dos estabelecimentos de carne, tanto para os estabelecimentos de abate quanto aqueles que apenas realizam o processamento da mesma, devem estar de acordo com as especificações do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), o qual é o órgão que legisla sobre as condições específicas de funcionamento para os estabelecimentos de carnes e de produtos de origem animal em geral (BRASIL, 2022b).

Nos estabelecimentos de abate cada etapa do processamento pode apresentar risco físicos, químicos ou microbiológicos (Quadro 1) que poderão influenciar na qualidade da

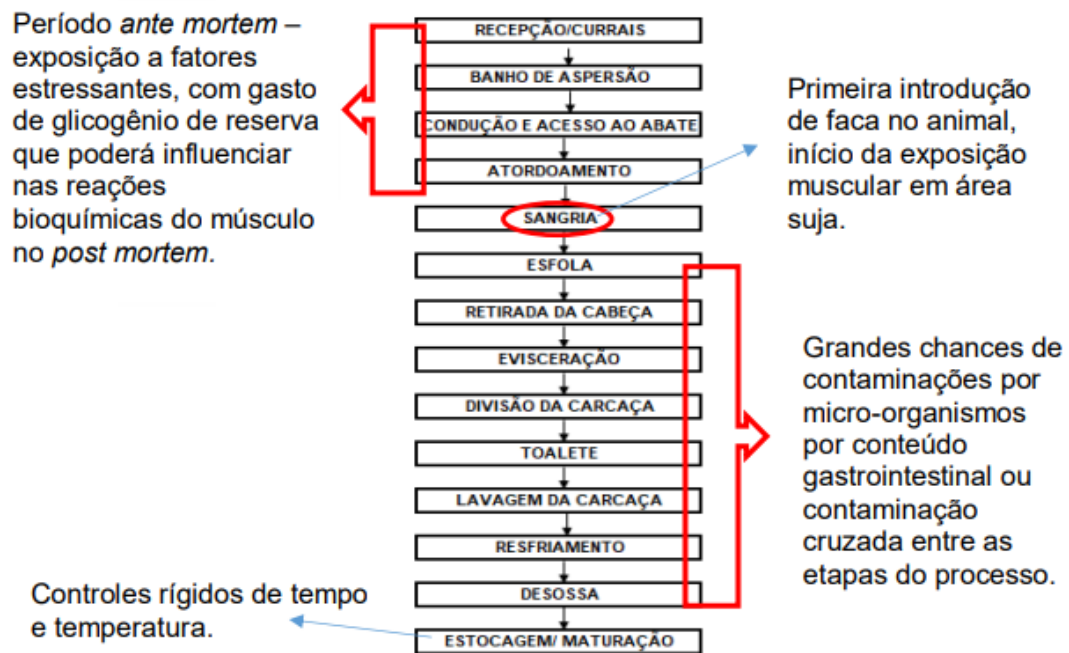
carne, seja pelo estresse *ante mortem*, pelo processamento, por contaminações microbiológicas ou por fatores externos (Figura 1) (FURLANETTO, 2020).

Quadro 1 – Exemplos de perigos físicos, químicos e microbiológicos na produção de carnes.

Perigo Físico	Perigo Químico	Perigo Biológico
Pelos	Medicamentos veterinários	<i>Salmonella spp</i>
Vidros	Produtos de limpeza/ lubrificantes	<i>Escherichia coli</i>
Madeira	Metais pesados (cobre, chumbo...)	<i>Listeria monocytogenes</i>

Fonte: Adaptado de Baptista; Venâncio (2003).

Figura 1 - Fluxograma do processo de abate de bovinos.



Fonte: FURLANETTO, 2020.

Tendo em vista todas as possibilidades de contaminação e riscos dos alimentos em comprometer a segurança para o consumo, desde o ano de 1950 ficou estabelecido, através da Lei Federal que dispõe sobre a inspeção industrial e sanitária dos produtos de origem animal, que é obrigatória a prévia fiscalização de todos os produtos de origem animal, sob o ponto de vista industrial e sanitário (BRASIL, 1950).

Posteriormente, o Ministério da Agricultura determinou, por meio do Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA), que todos os

estabelecimentos produtores de alimentos devem possuir os Programas de Autocontrole (PACs), que são programas desenvolvidos pelo estabelecimento, e consistem em procedimentos descritos, desenvolvidos, implantados, monitorados e verificados pelo estabelecimento e tem por objetivo assegurar a inocuidade, identidade, integridade e a qualidade dos seus produtos, além de garantir a adequação da produção aos regulamentos específicos (BRASIL, 2017).

Dentre os PACs para melhoria na qualidade de segurança dos alimentos destaca-se o Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (*HACCP*, do inglês *Hazard Analysis and Critical Control Point*) (PINTO; MASSON, 1998). Para efetiva implantação deste é importante se ter correta execução de monitoramento, o que é definido por uma sequência de observações, testes e/ou avaliações planejadas do desempenho do Ponto Crítico de Controle (PCC) e seu limite crítico, podendo ser através de inspeção visual, sensorial, análises microbiológicas ou testes químicos e medidas corretivas, que são ações a serem tomadas quando o resultado do monitoramento de um PCC indicar que o limite crítico encontra-se ultrapassado (LOPES, 2007). O registro e arquivamento do observado nos monitoramentos auxilia nas previsões de desvios possíveis para novos processamentos (PINTO; MASSON, 1998).

Outro importante programa é o Procedimento Sanitário Operacional (PSO), o qual consiste na descrição dos procedimentos executados durante as etapas de fabricação (BRASIL, 2005). Nos estabelecimentos de abate, esse programa, em sua totalidade, é um dos que tem relação direta com a qualidade da carcaça, portanto é de extrema importância que esses procedimentos sejam executados de forma correta com posterior monitoramento para evitar contaminações diversas nas indústrias (DOS SANTOS; TAHAM, 2016).

3.3. Contaminação microbiológica da carne

Os tecidos de animais são, órgãos das cavidades torácicas e abdominal (exceto trato digestivo, urogenital e cavidades nasofaríngeas), medula óssea, linfonodos e sangue, podem ser considerados estéreis (ROÇA, 1993). A carne, no entanto, pode ser facilmente contaminada por micro-organismos durante a manipulação e processamento através do contato com pelos, mãos de colaboradores, conteúdo gastrointestinal, equipamentos, entre outros (FORSYTHE, 2013). Esses micro-organismos contaminantes podem ser deteriorantes ou patogênicos, conforme apresentados na figura 2.

Figura 2 - Diferenças entre a contaminação de bactérias patogênicas e deteriorantes no processo de abate

CARACTERÍSTICAS	PATOGÊNICAS	DETERIORANTES
Ocorrência	Algumas carcaças	Todas as carcaças
População	Muito pequena	10^3 - 10^4 UFC/cm ²
Proliferação na carne	Difícil	Fácil
Alteração na carne	Não alteram	Deterioram a carne
Doenças	Causam	Não causam

Fonte: FURLANETTO, 2020.

Mesmo sem a carne passar por um processamento o qual sofrerá uma contaminação microbiológica dentro das indústrias de fabricação, ainda há riscos. Na comercialização e armazenamento se as condições higiênico-sanitárias não forem satisfatórias e não cumprirem com as exigências de legislações vigentes, o produto pode não ser conforme e pode oferecer algum tipo de risco ao consumo (PAULA; LACERDA, 2016). Ainda com o correto processamento das operações, se o estabelecimento não realizar a limpeza e sanitização das instalações, este pode não ter êxito na inocuidade dos alimentos, com consequente diminuição da qualidade dos produtos e redução da vida de prateleira (OLIVEIRA et al., 2006).

Nas indústrias que realizam processamento de carnes, seja para beneficiamento e elaboração de outro produto ou apenas desossa e manipulação, o risco de contaminação é ainda maior. Em estabelecimentos que realizam a desossa, por exemplo, um dos pontos críticos do processo é o condicionamento do ambiente das dependências especificamente destinadas à operação (MARRA, 2009).

Falhas nos procedimentos de higienização permitem que os resíduos aderidos aos equipamentos e superfícies transformem-se em potencial fonte de contaminação, devido a formação de biofilmes na superfície dos equipamentos (FREIRE, 2014). Qualquer falha no processo, de alguma forma, pode contribuir para um produto contaminado, podendo este chegar até o consumidor final e ser causador de uma DTA.

A formação desses biofilmes pode ser ocasionada tanto por micro-organismos deteriorantes quanto patogênicos (OLIVEIRA et al., 2006) podendo comprometer tanto a vida útil da carne quanto a segurança, respectivamente.

As etapas de limpeza e sanitização são imprescindíveis para se ter um ambiente controlado sob o ponto de vista sanitário, juntamente com a execução das Boas Práticas de Fabricação (BPF) pelos colaboradores durante a manipulação dos produtos, os quais muitas vezes estão associados a surtos de DTA's (FORSYTHE, 2013).

O objetivo da primeira etapa, que é a limpeza, é a remoção dos resíduos orgânicos e inorgânicos presentes na superfície (BRASIL, 2004), já o da sanitização, a qual ocorre após a limpeza, é remover o número de micro-organismos presentes, o qual ainda é elevado após a limpeza, para que não ocorra o desenvolvimento de biofilmes (OLIVEIRA et al., 2006), que é a adesão de micro-organismos a estruturas sólidas (COSTERTON; STEWART; GREENBERG, 1999).

3.3.1. Indicadores microbiológicos

Os micro-organismos indicadores são mais utilizados para indicar a segurança e a higiene dos alimentos, na maioria de origem intestinal, ambiental ou da manipulação (FRANCO; LANDGRAF, 2008), com correspondência direta a possível presença de patógenos. Tanto que o termo foi sugerido por Ingram, em 1977, para que na presença deste, indicasse a presença de um patógeno similar ecologicamente (FORSYTHE, 2013).

Os grupos de micro-organismos indicadores mais utilizados são Aeróbios Mesófilos, Coliformes Totais, *Escherichia. coli*, micro-organismos psicrotróficos (LOPES et al., 2007), enterobactérias (FORSYTHE, 2013) e *Staphylococcus* Coagulase Positiva (SILVA; JUNQUEIRA; SILVEIRA, 1997).

A temperatura ótima de multiplicação dos micro-organismos indica o grupo ao qual o mesmo pertence, sendo mesófilos ou psicrotróficos. Os Aeróbios Mesófilos são os micro-organismos que se multiplicam a temperatura ótima de 30 a 45°C, podendo estes se desenvolver sob períodos de abuso de temperaturas e sobreviver a refrigeração (FORSYTHE, 2013). Todos os patógenos humanos são mesófilos, estritos ou facultativos (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

Os aeróbios mesófilos são comumente empregados para se verificar a qualidade sanitária dos alimentos, demonstrando a contaminação total do produto e, conseqüentemente, a sua vida útil. Contagens elevadas desses micro-organismos, mesmo sem alterações organolépticas e na ausência de patógenos, indica que o alimento é não conforme (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

Para os psicotróficos, compreende-se por micro-organismos capazes de se multiplicar sob temperatura de refrigeração, mesmo sua temperatura ótima de desenvolvimento sendo de 25 a 30°C, estes podem se multiplicar entre 0 e 7°C (GERMANO; GERMANO, 2015). Os psicotróficos compõem a flora deteriorante de forma predominante em temperaturas abaixo de 20°C. Destes um dos principais é *Pseudomonas* spp. (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

As enterobactérias são compostas por vários gêneros de micro-organismos, incluindo os que não fermentam e os fermentadores de lactose, como *Salmonella* e *E. coli*, respectivamente, amplamente distribuídas em vegetação, solo, na água e trato intestinal de seres humanos e animais (FORSYTHE, 2013).

Já os coliformes totais são uma parte de enterobactérias que habitam o trato intestinal e podem ser encontradas em todos os ambientes como na vegetação, no solo, em ambientes aquáticos e em materiais fecais, sendo estas então indicadoras em alimentos de contaminação ambiental e potencialmente fecal (COLCLASURE et al., 2015). São bactérias Gram-negativas, fermentadoras da lactose com consequente formação de gás quando incubadas a 35°C por período de 48 horas (FORSYTHE, 2013).

Deste grupo pode-se destacar *E. coli*, anaeróbia facultativa, da família *Enterobacteriaceae*, a qual possui linhagens causadoras de surtos diarreioagênicos, podendo causar até a morte (FRANCO; LANDGRAF, 2008). Em alimentos, especificamente, indicam contaminação de origem fecal, uma vez que só se multiplicam no intestino de humanos e animais, além de indicar a segurança para o consumo pela potencial presença de cepas patogênicas (TORTORA; FUNKE; CASE, 2017).

Staphylococcus spp. são bactérias Gram-positivas, anaeróbias facultativas e seus principais reservatórios são os humanos e os animais (GERMANO; GERMANO, 2015). A identificação dos mesmos em alimentos tem por objetivo verificar o controle higiênico-sanitário dos processos de produção, sendo sua presença indicativa de contaminação de origem de colaborador e condições deficientes da sanificação das áreas de processamento (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

Um dos *Staphylococcus* mais importantes na vigilância sanitária dos alimentos devido sua frequente participação em surtos de toxinfecção é *S. aureus*, considerado coagulase positivo (GERMANO; GERMANO, 2015). Essa classificação se dá devido a este possuir a enzima coagulase, a qual atua sobre o fibrinogênio levando a formação de coágulos de fibrina (TORTORA; FUNKE; CASE, 2017). Essa espécie que habita a epiderme de mamíferos, em

geral, também é a principal produtora de toxinas estafilocócicas (CINTRA, 2015) que podem causar intoxicações se o limite para doença foi ingerido.

3.3.2. Patógenos microbianos

Vários micro-organismos podem ser causadores das DTA's, porém, nas carnes e nos produtos cárneos a multiplicação de patógenos causadores de toxinfecções alimentares, como *Salmonella*, cepas de *E. coli* produtoras de toxinas, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium perfringens* e *S. aureus* produtores de toxinas é que tornam os produtos preocupantes (FORSYTHE, 2013).

Além de indicador de qualidade, *E. coli* é um micro-organismo que contém várias linhagens patogênicas, como *E. coli* enteropatogênica (EPEC), enteroagregativa (EAEC), enterotoxigênica (ETEC), enterohemorrágica (EHEC), enteroinvasiva (EIEC) e produtora de toxina shiga (STEC), as quais as categorias são definidas por meio dos fatores de virulência (ARANDA; FAGUNDES-NETO; SCALETSKY, 2004). A *STEC* possui muitos subtipos que constituem o grupo, o mais comum é *E. coli* EHEC, este expressa simultaneamente os genes *stx* e *eae* (BRYAN; YOUNGSTER; MCADAM, 2015). Esses micro-organismos tem sua principal fonte de contaminação em alimentos de origem animal e vegetal, em especial crus ou mal cozidos e água não tratada (FORSYTHE, 2013).

Salmonella é um bacilo Gram-negativo, anaeróbia facultativa, não produtora de esporo, que pertencente à família das *Enterobacteriaceae* e sua temperatura ótima de multiplicação é de 35-37°C, mas podendo se multiplicar entre 5 e 47°C, no entanto alguns autores indicam que a temperatura máxima ou mínima depende do sorotipo (GERMANO; GERMANO, 2015). Estes micro-organismos são muito envolvidos em surtos de DTA's devido serem distribuídos amplamente na natureza, sendo fonte o trato intestinal dos animais e dos humanos, mas as aves e os suínos são seus principais reservatórios (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

L. monocytogenes é um bacilo Gram-positivo, móvel, anaeróbia facultativa, não formadora de esporo, apresenta reações de catalase positiva e oxidase negativa, encontra-se disseminada nos ambientes e tem a capacidade de multiplicação entre 2,5°C a 44°C, também sendo possível multiplicar-se a 0°C (FRANCO; LANDGRAF, 2008). Tanto o ser humano quanto os animais são fontes de infecção, enquanto o ambiente funciona como meio de transmissão, podendo estas serem isoladas dos mais diversos tipos de alimentos como produtos cárneos crus e termoprocessados, leite, queijos, carnes (bovina, suína, de aves, peixes), além de produtos vegetais (FORSYTHE, 2013).

L. monocytogenes é um agente patogênico com grande importância em saúde pública, cujas manifestações clínicas variam desde meningites e outros sintomas nervosos a abortos e natimortos em gestantes (GERMANO; GERMANO, 2015). Essa bactéria é caracterizada pela capacidade de síntese de mucoproteínas para a formação de biofilmes, tem forma resistente à ação de higienização das superfícies de utensílios e equipamentos das indústrias, podendo contaminar os alimentos processados nessas superfícies (FORSYTHE, 2013).

3.4. Requisitos legais da carne resfriada no comércio

O cuidado com toda manipulação e processamento de alimentos é indispensável para se produzir alimentos de qualidade. Tendo em vista a produção de alimentos inócuos, os estabelecimentos devem implantar as Boas Práticas de Fabricação e os Programas de Autocontrole estipulados pelos Serviços de Inspeção (RÊGO et al., 2001).

Além do controle durante os processamentos, os estabelecimentos devem realizar análises periódicas dos produtos fabricados, devendo estes estarem em conformidade a legislação vigente (BRASIL, 2017). Sendo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) quem determina os padrões microbiológicos a serem cumpridos pelos alimentos, incluindo as carnes, na Instrução Normativa nº 161 de 1º de julho de 2022 (BRASIL, 2022a), na qual se especifica que a carne bovina deve atender aos padrões microbiológicos que estão apresentados no Quadro 2:

Quadro 2 – Plano amostral com padrões microbiológicos aceitáveis definido pela Instrução Normativa nº 161 de 1º de julho de 2022 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária.

Produto	Micro-organismo	n	c	m	M
Carnes cruas, maturadas ou não, temperadas ou não, refrigeradas ou congeladas, embaladas a vácuo ou não, miúdos, toucinho e pele	<i>Salmonella</i> /25g	5	0	Ausência/25g	-
	<i>Escherichia coli</i> /g	5	2	1,0x10 ⁴ UFC/g	1,0x10 ² UFC/g
	Aeróbios Mesófilos/g	5	3	1,0x10 ⁵ UFC/g	1,0x10 ⁶ UFC/g

Fonte: BRASIL (2022a).

3.5. Deterioração microbiana da carne

A deterioração microbiana da carne se dá pela degradação de proteínas que como consequência produz compostos voláteis de cheiros desagradáveis. Já as reações lipolíticas resultam em sabor desagradável e rançoso para a carne (FORSYTHE, 2013).

As *Pseudomonas* spp. são micro-organismos Gram-negativos e, devido a sua capacidade de multiplicação durante a estocagem a frio combinada com sua capacidade de utilizar proteínas e lipídios, são considerados importantes deteriorantes de alimentos (FRANZETTI; SCARPELLINI, 2006).

A degradação proteolítica é predominante entre os psicrotróficos (COUSIN, 1981). A carne é, portanto, um alimento passível de fácil deterioração frente a sua composição, a qual é excelente meio de cultura devido a composição química, possui o pH favorável para a maioria dos micro-organismos, rico em substâncias nitrogenadas, proteínas, minerais, fatores de crescimento e possui alta atividade de água (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

A lipólise microbiana também pode ser favorecida em produtos cárneos devido a sua composição natural. Rica em lipídios, a carne oferece condições para que os micro-organismos (principalmente os psicrotróficos) sintetizem lipases de baixa energia de ativação com consequente deterioração lipídica sob baixa temperatura, como via metabólica secundária á sacarolítica predominantemente mesófila (TORRES, 1988).

3.6. Aumento da vida útil da carne

Com o aumento da vida de prateleira da carne *in natura* os estabelecimentos produtores ganham mais condições com esses produtos no que diz respeito a comercialização dos mesmos, podendo estes aumentar a gama de mercados comercializados distribuindo-os em um raio de maior abrangência (TESSER, 2009).

Um prazo de vida útil maior para os produtos cárneos resfriados, a garantia da segurança a partir dos processos bioquímicos decorrentes do abate e o conhecimento da composição microbiológica desses produtos pode resultar em aumento das exportações para empresas, com consequente ganho de receitas. A partir do prazo de validade maior e qualidade microbiológica estes produtos conseguirão alcançar lugares mais distantes sem perder a segurança e características sensoriais e nutricionais (FURLANETTO, 2020).

Devido a composição química da carne, esta se torna um alimento muito perecível. Com o objetivo de se comercializar as carnes em um maior raio de distribuição, foi-se trazendo a necessidade do prolongamento da vida de prateleira desses produtos (TESSER, 2009). Esse fato é relevante devido a redução da *shelf life* normalmente ser acompanhada de perdas da qualidade e riscos de contaminação aos consumidores (SOLANO et al., 2020).

A deterioração dos produtos cárneos pode ser provocada por micro-organismos aeróbios e anaeróbios, assim os fatores que influenciam a deterioração destes produtos por

esses micro-organismos relacionam-se com a atmosfera gasosa que os envolve (ALCANTARA et al., 2012).

Um dos tipos de embalagem muito utilizado hoje para cortes de carne ou outros produtos cárneos é a embalagem a vácuo. O alto teor de oxigênio de embalagens normais reduz o período de validade da carne em comparação com embalagens a vácuo, pois a presença do oxigênio produz *off-flavors* e permite a multiplicação de bactérias aeróbias (LAGERSTEDT et al., 2011)

Além da função habitual de proteção contra contaminações através de barreira física, a embalagem também tem a função “ativa”, a qual cria ambientes de proteção através do vácuo e anaerobiose parcial ao redor do alimento embalado e também faz a conservação das características organolépticas e nutritiva dos alimentos (FREITAS; FIGUEIREDO, 2000), além de prevenir a evaporação da umidade do produto, evitando perdas de peso (AUGUSTO; JORGE; MENDONÇA, 2011).

Pode-se dizer que a embalagem a vácuo também possui ação antioxidante, pois é uma das principais tecnologias de prevenção da oxidação lipídica, tendo além das demais características apresentadas, o objetivo de prolongar o prazo de validade das carnes através da prevenção ou eliminação dos radicais livres, onde a embalagem cria um ambiente desfavorável a oxidação, pois atmosferas ricas em oxigênio promovem maior oxidação da composição lipídica das carnes (LIMA JÚNIOR et al., 2013).

Durante a vida útil da carne embalada a vácuo, várias alterações autolíticas também vão tendo efeito lento com impactos sensoriais. O conjunto dessas alterações durante o período de refrigeração é conhecido como maturação, principalmente pela liberação de enzimas sarcoplasmáticas, como a calpaína e calpastatina (ALVES; GOES; MANCIO, 2005), com ação a miofibrila muscular e conseqüente amaciamento (PEREIRA, 2019). Dessa forma, além de preservar a qualidade, embalagem a vácuo também pode proporcionar condições para a maturação úmida da carne (*wet age*), conseqüentemente, incremento sensorial e financeiro (SMITH et al., 2008).

REFERÊNCIAS

ABIEC. Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carnes. **Beef Report: Perfil da Pecuária no Brasil**, 2023.

ALCANTARA, M.; MORAIS, I. C. L.; CUNHA, C. M. O. Principais Microrganismos envolvidos na deterioração das características sensoriais de derivados carnes. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal** (v.6, n.1) p.1-18 jan – jun. 2012.

ALVES, D. D.; GOES, R. H. T. B.; MANCIO, A. B. Maciez da carne bovina. **Ciência Animal Brasileira**, v.6, n.3, p. 135-149, jul./set., 2005.

ARANDA, K. R. S.; FAGUNDES-NETO, U.; SCALETSKY, I. C. A. Evaluation of multiplex PCRs for diagnosis of infection with diarrheagenic *Escherichia coli* and *Shigella* spp. **Journal of clinical microbiology**, v. 42, n. 12, p. 5849-5853, 2004.

AUGUSTO, T. R.; JORGE, P. S.; MENDONÇA, C. C. T. Benefícios do uso da embalagem a vácuo em carnes e produtos cárneos (revisão). **Research gate**. Março, 2011. Disponível em: <https://www.researchgate.net/profile/Thalita_Augusto_Obara/publication/317716076_Beneficios_do_uso_da_embalagem_a_vacu_em_carnes_e_produtos_carneos_revisao/links/59b2a891aca2728472d505e9/Beneficios-do-uso-da-embalagem-a-vacu-em-carnes-e-produtos-carneos-revisao.pdf>. Acesso em 17 de maio de 2021.

BAPTISTA, P.; VENÂNCIO, A. Os perigos para a segurança alimentar no processamento de alimentos. **Forvisão – Consultoria em formação integrada, LDA**. 2003. 1º ed. Disponível em: chrome-extension://efaidnbnmnibpcjpcglclefindmkaj/https://repositorium.sdum.uminho.pt/bitstream/1822/33398/1/document_2748_1.pdf. Acesso em: 23 de jan. 2023.

BRASIL. Lei nº 1283, de 18 de dezembro de 1950. **Dispõe sobre a inspeção industrial e sanitária dos produtos de origem animal**. Diário Oficial da União: Brasília, DF, p. 18161, 19 dez. Disponível em: https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/11283.htm. Acesso em: 14 de out. de 2022.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 216 de 15 de setembro de 2004. **Dispõe sobre Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação**. Diário Oficial da União: Brasília, DF.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Circular nº. 175, de 16 de maio de 2005.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Decreto nº 9.013 de 29 de março de 2017. **Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem**

Animal - RIISPOA. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 30 de março de 2017 e [retificado em 01 de junho de 2017](#).

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Instrução Normativa nº 161 de 1º de julho de 2022a. Estabelece as listas de padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DOU nº 126 de 6 de julho de 2022.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Registro de Estabelecimentos – SIF OU ER.** Brasília. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 14 dez. 2022b. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-animais/empresario/registro-de-estabelecimentos#:~:text=A%20inspe%C3%A7%C3%A3o%20e%20a%20fiscaliza%C3%A7%C3%A3o,Minist%C3%A9rio%20da%20Agricultura%2C%20Pecu%C3%A1ria%20e.> Acesso em: 19 de outubro de 2022.

BRASIL. Ministério da Indústria, Comércio Exterior e Serviços. *Comex Stat*. Dispõe sobre as estatísticas de comércio exterior do Brasil. 2023. Disponível em: <http://comexstat.mdic.gov.br/pt/home>. Acesso em: 14 de fevereiro de 2023.

BRYAN, A.; YOUNGSTER, I.; MCADAM, A.J. (2015) *Shiga Toxin Producing Escherichia coli*. *Clinics in Laboratory Medicine*, v. 35, n. 2, p. 247-272. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cll.2015.02.004>. Acesso em: 11 de fevereiro de 2023.

CINTRA, A. P. R. **Avaliação da presença de *Staphylococcus* coagulase positivo e negativo e de suas toxinas em carnes de frango de corte processados em sala com diferentes temperaturas ambientes.** 67 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2015. Disponível em: <http://hdl.handle.net/1843/SMOC-9V5NYH>. Acesso em: 15 de fevereiro de 2023.

COLCLASURE, V. J.; SODERQUIST, T. J.; LYNCH, T.; SCHUBERT, N.; McCORMICK, D. S.; URRUTIA, E.; KNICKERBOCKER, C.; McCORD, D.; KAVOURAS, J. H. Coliform bacteria, fabrics, and the environment. **American Journal of Infection Control**. 2015 (43), 154-8.

COSTERTON, J. W.; STEWART, P. S.; GREENBERG, E. P. Bacterial Biofilms: A Common Cause of Persistent Infections. **American Association for the Advancement of Science**. May 1999. vol. 284.

COUSIN, M.A.; BRAMLEY, A.J. 1981. The microbiology of raw milk, p.119-163. In: Robinson R.K. (Ed.), Dairy Microbiology of Milk. **Applied Science Publishers**, London.

DOS SANTOS, J. S.; TAHAM, T. **Importância dos procedimentos sanitários das operações (PSO) durante as etapas de abate bovino.** Campinas. 2016.

FORSYTHE, S.J. **Microbiologia da segurança dos alimentos**. 2 ed. Porto Alegre: Artmed, 620 p., 2013.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. Atheneu, 176 p., 2008.

FRANZETTI, L.; SCARPELLINI, M. **Characterisation of Pseudomonas spp.** isolated from foods. Dipartimento di Scienze e Tecnologie Alimentari e Microbiologiche, sezione Microbiologia Agraria Alimentare Ecologia, Università degli Studi di Milano, Via Celoria 2, 20133, Milano, Italy. 2006.

FREIRE, M. C. F. B. **Avaliação da qualidade microbiológica de cortes cárneos bovinos desossados sob diferentes temperaturas**. 71 f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2014. Disponível em: <<http://repositorio.bc.ufg.br/tede/handle/tede/4205>> Acesso em 21 de maio de 2021.

FREITAS, A. C.; FIGUEIREDO, P. **Conservação dos Alimentos**. Livro de apoio a conservação de alimentos. Lisboa, 2000.

FURLANETTO, K. H. **Avaliação da vida de prateleira e da qualidade de amostras de carne bovina resfriada embaladas à vácuo pelo período de 120 dias**. 55 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, 2020. Disponível em: <<http://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/handle/1/5196>>. Acesso em 17 de maio e 2021.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. **Higiene e vigilância sanitária de alimentos: qualidade das matérias-primas, doenças transmitidas por alimentos**. 5 ed. rev. e atual. Barueri: Manole, 2015.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Rebanho de bovinos (bois e vacas)**. 2023. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/bovinos/br>. Acesso em 13 de fevereiro de 2023.

LAGERSTEDT, A.; LUNDSTROM, K; LINDAHL, G. Influence of vacuum or high-oxygen modified atmosphere packaging on quality of beef *M. longissimus dorsi* steaks after diferente ageing times. **Meat Science**, p. 101-106. 2011.

LIMA JÚNIOR, D. M.; RANGEL, A. H. N.; URBANO, S. A.; MORENO, G. M. B. Oxidação lipídica e qualidade da carne ovina. **Acta Veterinária Brasileira**, v.7, n.1, p. 14-28, 2013.

LIMA, M.B. **Conservação de carne bovina resfriada exposta à venda em supermercados da cidade do Recife**. 2009. 29f. Monografia (Especialização em Gestão da Qualidade e Vigilância Sanitária em Alimentos) - Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, 2009.

LOPES, M.; GALHARDO, J. A.; OLIVEIRA, J. T.; TAMANINI, R.; SANCHES, S. F.; MULLER, E. E. Pesquisa de *Salmonella* spp. e microrganismos indicadores em carcaças de frango e água de tanques de pré-resfriamento em abatedouro de aves. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 28, n. 3, p. 465-476, jul. /set. 2007.

MARRA, K. N. **Dinâmica da carga microbiana da sala de desossa em um matadouro – frigorífico de Goiânia – GO, durante a jornada de trabalho.** Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2009. Disponível em: <<http://repositorio.bc.ufg.br/tede/handle/tde/918> > Acesso em 17 de maio de 2021.

MORAES, A. C.; CASTRO, F. M. M. Diarréia aguda. **Journal of Molecular Biology.** MARÇO/ABRIL, 2014. Vol. 102. N. 2 <http://files.bvs.br/upload/S/0047-2077/2014/v102n2/a4191.pdf>. Acesso em 21 de maio de 2021.

OLIVEIRA, L. M.; SARANTÓPOULOS, C. I. G. L.; CUNHA, D. G.; LEMOS, A. B. Embalagens termoformadas e termoprocessáveis para produtos cárneos processados. **SciELO. Polímeros: Ciência e Tecnologia**, vol. 16, n° 3, p. 202-210, 2006. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0104-14282006000300009>>. Acesso em 21 de maio de 2021.

PALMA, D. A. N. **Os pré-requisitos para a implementação de um HACCP num matadouro de ungulados domésticos.** 111 f. Dissertação (Mestrado em medicina veterinária) -Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 2010. Disponível em: <http://hdl.handle.net/10400.5/2268>. Acesso em: 19 de outubro de 2022.

PAULA, I. B.; LACERDA, L. M. Avaliação higienicossanitária na comercialização de carne bovina em supermercados da cidade de São Luís – MA. **Higiene Alimentar** – vol. 30. n° 252/253. Janeiro/fevereiro de 2016.

PEREIRA, T. F. Carne maturada: como é o processo de produção? In: Ifope. **Ifope Educacional.** Belo Horizonte, 10 jan. 2022. Disponível em: <<https://blog.ifopecom.br/carne-maturada/>> Acesso em: 16 de fevereiro de 2023.

PINTO, R. A.; MASSON, M. L. Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (HACCP): História e aplicação. **B. CEPPA**, Curitiba, v. 16, n.2, p. 229-246, jul./ dez. 1998.

RÊGO, J. C., STAMFORD, T.L.M., PIRES, E.M.F., SILVA JR., E. A. Proposta de um programa de Boas práticas de manipulação e processamento de alimentos para unidades de alimentação e nutrição. **Higiene Alimentar**, v.15, n. 89, p.22-27, 2001.

ROCHA, C. B.; CORREA, A. C.; BENERI, V. A.; ALVARENGO, M. C.; MIRANDA, F. M.; MENESES, M. N. Efetividade da educação sanitária na redução dos riscos no comércio de produtos cárneos. **Pubvet**, v.12, n.6, a115, p.1-5, Jun., 2018.

ROÇA, R. O. **Microbiologia da carne. Departamento de Gestão e Tecnologia Agroindustrial.** Universidade Estadual de São Paulo – UNESP. Botucatu. 1993.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A. **Contagem de Staphylococcus aureus, manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, 1997. Cap.6, p.51-58.

SMITH, R. D.; NICHOLSON, K. L.; NICHOLSON, J. D. W.; HARRIS, K. B.; MILLER, R. K.; GRIFFIN, D. B.; SAVELL, J. W. Dry versus wet aging of beef: Retail cutting yields and consumer palatability evaluations of steaks from US Choice and US Select short loins. **Meat Science** **79**. 2008. p. 631-639.

SOLANO, M. R.; SABORÍO, P. G.; CHAVARRÍA, F. R.; ULATE, C. C.; QUESADA, Y. A.; MORICE, A. A. Efeito do tipo de embalagem na vida de prateleira da carne moída de coelho. **Food Science and Technology International** **28**(2), 190-199. 2020.

TESSER, E. S. **O uso de diferentes tipos de embalagem na conservação de carnes bovinas**. 36 f. Monografia (Graduação em Medicina Veterinária) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

TORRES, E.A.F.S. Oxidação lipídica em carnes: uma revisão. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.22, n.1/2, p.53-71, 1988.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 12 ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

4. CAPÍTULO II – ARTIGO

ACOMPANHAMENTO DA MICROBIOTA INDICADORA E PATOGENICA DURANTE A *SHELF LIFE* DE *Longissimus dorsi* EMBALADO À VACUO

MONITORING THE INDICATOR AND PATOGENIC MICROBIOTA DURING THE *SHELF LIFE* OF *Longissimus dorsi* VACUUM PACKED

Jeycy Kelle Sirqueira Mendonça¹; Fernando Loiola Nunes¹; José Carlos Ribeiro Júnior²

RESUMO

O Brasil é um dos maiores produtores de carne do mundo. Tendo em vista essa grande produtividade e a preocupação com a qualidade da carne produzida, os estabelecimentos produtores estão buscando meios para uma maior conservação do produto, sendo a embalagem a vácuo um dos mais utilizados. O objetivo do trabalho foi acompanhar a microbiota indicadora e patogênica durante a *shelf life* de *Longissimus dorsi* bovino embalado a vácuo. Foram coletadas cinco amostras do corte cárneo bovino contrafilé (*Longissimus dorsi*). Na seção de desossa de um frigorífico sob inspeção federal, cada uma das amostras foi fracionada em quatro peças e cada peça foi utilizada para compor uma parte de cada um dos *pools*, sendo totalizado quatro *pools* mantidos à 7°C e analisados até os 60 dias de embalagem primária, com intervalo de 20 dias. Foram quantificados aeróbios mesófilos, psicrotróficos, coliformes a 30°C, enterobactérias e *Staphylococcus* spp. Através de abordagens moleculares foram confirmados os micro-organismos *Escherichia coli* produtora da toxina *shiga* (STEC), enteropatogênica (EPEC), enterohemorrágica (EHEC), enteroagregativa (EAEC), enterotoxigênica (ETEC) e enteroinvasiva (EIEC), *Pseudomonas* spp. entre os psicrotróficos, *Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes*. As quantificações dos micro-organismos indicadores foram aumentando progressivamente a cada intervalo de análise. As contagens que possuem padrão determinado por legislações vigentes tiveram seus limites ultrapassados, como *E. coli*, desde o dia 20. Todos os micro-organismos patogênicos pesquisados foram identificados em todos os intervalos de análise, exceto por *Salmonella* spp., não detectada somente na análise do dia 0. Fazem-se necessárias, portanto, revisões nos planos de

autocontrole assim como maior rigor microbiológico na produção e processamento da carne bovina para melhoria da *shelf life* do produto.

Palavras chave: Carne bovina resfriada; Conservação; Qualidade microbiológica; Vida de prateleira.

ABSTRACT

Brazil is one of the biggest meat producers in the world. In view of this high productivity and the concern with the quality of the meat produced, the producing establishments are looking for ways to improve preserve the product, with packaging being one of the most used. The objective of this work was monitoring the indicator and pathogenic microbiota during the shelf life of bovine *Longissimus dorsi* vacuum-packed. Five samples of sirloin beef (*Longissimus dorsi*) were collected. In the deboning slaughterhouse's section with federal inspection, each of the exposures was fractionated into four parts and each part was used to compose a part of each of the pools, totaling four pools kept at 7 °C and analyzed until 60 days of primary packaging, with an interval of 20 days. Mesophilic aerobes, psychrotrophs, coliforms at 30°C, enterobacteria and *Staphylococcus* spp. Through molecular approaches, the microorganisms *Escherichia coli* producing shiga toxin (STEC), enteropathogenic (EPEC), enterohemorrhagic (EHEC), enteroaggregative (EAEC), enterotoxigenic (ETEC) and enteroinvasive (EIEC), *Pseudomonas* spp. among psychrotrophs, *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes*. The quantifications of microorganism indicators gradually increased at each analysis interval. Counts that have a standard determined by current legislation have had their limits exceeded, such as *E. coli*, since the 20th. All pathogenic microorganisms researched were identified in all analysis intervals, except for *Salmonella* spp., not detected only in the analysis on day 0. Therefore, it is necessary to review the self-control plans as well as greater microbiological rigor in the production and processing of beef to improve the shelf life of the product.

Keywords: Beef; Conservation; Microbiological quality; Shelf Life.

Introdução

O Brasil é um dos maiores produtores de carne bovina do mundo, logrando a posição de segundo maior produtor e o maior exportador de carne bovina (IBGE, 2023). Em 2022 teve

produção estimada em 9,7 milhões de toneladas, movimentando mais de 1,3 bilhões de dólares em exportações (ABIEC, 2023).

Frente a essa grande produção e o aumento do interesse dos consumidores em adquirir alimentos com qualidade, toda a cadeia produtiva deve estar preparada para produzir alimentos de acordo com os padrões legais nacionais e internacionais e que atendam as expectativas dos consumidores (BEZERRA; MARTINS, 2008).

Os alimentos e água podem ser responsáveis por transmitir doenças, principalmente infecções e intoxicações. Nesse contexto, os alimentos de origem animal têm especial importância uma vez que diversos patógenos humanos fazem parte da microbiota autóctone dos animais de produção. A carne bovina pode ser contaminada por diversos patógenos humanos, da microbiota do animal, como *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, e outros enteropatógenos; e, relacionados com problemas higiênico-sanitários inerentes ao processamento, como *Listeria monocytogens* e *Staphylococcus aureus*, por exemplo (CARHUALLANQUI-PÉREZ, 2020).

Tendo em vista a preocupação com preservar a qualidade e inocuidade da carne e reduzir perdas de produtos por curto prazo de validade, se tem buscado evitar as alterações nos atributos de qualidade e deterioração microbiana do produto, com o aumento da sua vida útil (*shelf life*), optando por embalagens com atmosfera modificada, assim como a embalagem a vácuo e refrigeração (McMILLIN, 2008). Estes métodos, se utilizam de tecnologias para inibir a multiplicação microbiana, se combinando ao controle de temperaturas (REDONDO-SOLANO et al., 2020).

A legislação brasileira não estabelece a validade dos produtos cárneos, ficando a critério de cada estabelecimento produtor defini-la, direcionadas por estudos que embasem e garantam a estabilidade físico-químicas, microbiológica e sensoriais do produto (FURLANETTO, 2020). Muitos desses optam por usar embalagens a vácuo para os produtos de desossa, como único fator de promoção do aumento da vida útil do produto (AUGUSTO; JORGE; MENDONÇA, 2011).

O objetivo do trabalho foi acompanhar a microbiota indicadora e patogênica durante a *shelf life* de *Longissimus dorsi* bovino embalado a vácuo, através de análises microbiológicas e caracterização biomolecular, e identificação do predomínio da microbiota sob refrigeração e vácuo parcial da embalagem primária.

Material e Métodos

Foram coletadas cinco amostras, de um quilograma cada, do corte cárneo bovino contrafilé (*Longissimus dorsi*) embalados a vácuo. O corte foi selecionado pela demanda da indústria para fundamentar um procedimento sanitário operacional por microbiologia preditiva. As amostras foram coletadas em um abatedouro frigorífico de bovinos com registro no Serviço de Inspeção Federal (SIF), no município de Araguaína, região norte do estado do Tocantins, Brasil. Cada uma das amostras foi fracionada em quatro peças por colaborador do estabelecimento, obedecendo o fluxo normal das operações realizadas no abatedouro. Cada uma dessas quatro peças foi utilizada para compor uma parte de cada um dos *pools*, sendo totalizado quatro *pools* com cinco frações, uma de cada peça de carne. Os *pools* foram realizados no estabelecimento e embalados em embalagens a vácuo usuais do mesmo.

Ao recepcionar as amostras no laboratório, foi separada a amostra a ser realizada no mesmo dia do fracionamento, e as demais foram acondicionadas sob refrigeração (em até 7°C) em cabine *Biochemical Oxygen Demand* (BOD), seguindo as especificações indicadas na rotulagem do fabricante. Foram realizadas análises sucessivas, uma de cada *pool*, com intervalo entre análises dos *pools* de 20 dias e até 60 dias como descrito a seguir: D-0, D-20, D-40, D-60.

As amostras que compunham cada *pool* foram unidas em uma única *bag* plástica estéril e homogeneizada em *Stomacher* por 180 segundos (ALNAJRANI et al., 2018). Foram realizadas diluições decimais seriadas em solução salina (0,85%).

Para isolamento dos micro-organismos psicrotróficos e *Staphylococcus* spp. foi realizada semeadura em superfície em placas de *Plate Count Agar* (PCA) e *Ágar Baird-Parker* (BP), respectivamente. As colônias suspeitas de estafilococos foram submetidas a prova de coagulase para pesquisa de estafilococos coagulase positiva, sendo realizada conforme método 6888-1:1999/Amd 1:2003 modificado. Após isoladas, foi realizado o teste de catalase e nas colônias positivas foi realizado o teste de coagulase (COSTA et al., 2011).

Para os psicrotróficos as diluições decimais seriadas foram inoculadas em superfície em placas de ágar padrão para contagem e posteriormente incubadas a $\pm 7^\circ\text{C}$ por 10 dias (FRANK; YOUSEF, 2004).

A partir do D-40 foram diferenciadas *Pseudomonas* spp. dos outros psicrotróficos para verificar a evolução desses micro-organismos que tem importância para qualidade da carne pelo seu potencial deteriorante conhecido.

As contagens de aeróbios mesófilos, enterobactérias, coliformes totais (30°C) e *Escherichia coli* foram realizadas em *Compact Dry*® TC, ETB e EC, respectivamente, conforme as orientações do fabricante (Nissui Farmaceutical, Tokyo, Japão)

Os isolados de *E. coli* e psicrotróficos para diferenciação das *Pseudomonas* spp. foram recuperados em caldo cérebro coração (BHI) e submetidos a extração de DNA conforme Ribeiro Júnior et al., (2016). Nos isolados de *E. coli* foram pesquisados em PCR os fatores de virulência *eaeA* e *CVD432*, genes *LT* e *ST*, *stx1* e *stx2* e *ipaH* (ARANDA; FAGUNDES-NETO; SCALETSKY, 2004), apresentados na Tabela 1, para confirmação de *E. coli* enteropatogênica (EPEC), produtora de toxina shiga (STEC), enteroagregativa (EAEC), enteroinvasiva (EIEC), enterotoxigênica (ETEC) e para enterohemorrágica (EHEC), a caracterização foi realizada pela positividade simultânea aos genes que codificam STEC e EPEC, conforme Tabela 1. A pesquisa dos genes *stx1*, *stx2*, *LT*, *ST* e *ipaH* foi realizada em ensaio multiplex com cinco pares de primers e o gene *eaeA* e do alvo *CVD432* também foi em ensaio multiplex, no entanto, com dois pares de primers na mesma concentração e volume otimizado para 25 µL.

A pesquisa de *Salmonella* spp. foi realizada conforme a ISO 6579 (2005) e *Listeria* spp. conforme o método ISO 11290 (2004), ambos modificados. Após isoladas em placas, as cepas características foram recuperadas em BHI e submetidas a extração de DNA (RIBEIRO JÚNIOR et al., 2016) e submetidas a ensaio de PCR gênero e espécie-específica, conforme descrito na Tabela 1.

Para realização de todas as PCR, os produtos de extração de DNA foram aplicados (\approx 50ng) em reações de PCR s com volume final de 25 µL e as condições de elaboração dessas reações foram as mesmas descritas por Ribeiro Júnior et al., (2019).

Tabela 1. Genes e condições de amplificação das reações de PCR.

Micro-organismo	Gene	Primers (5' – 3')	Tamanho (pb)	Condições de amplificação da PCR	Referência
<i>Salmonella</i> spp.	<i>invA</i>	GTGAAATTATCGCCACGTTTCGGGCAA	284	94°C-1m	Shanmugasamy, Velayutham; Rajeswar (2011)
		TCATCGCACCGTCAAAGGAACC		35x (94°C-1m, 64°C-30s, 72°C-30s) 72°C-7m	
<i>Listeria</i> spp.	<i>iap</i>	ATGAATATGAAAAAGCAAC	1450 a	95°C-5m	Chen; Knabel (2007)
		TTATACGCGACCGAAGCCAAC	1600	40x (94°C-45s, 52°C-45s, 72°C-2m) 72°C-10m	
<i>Escherichia coli</i>	<i>eaeA</i>	CTGAACGGCGATTACGCGAA	917	95°C-5m	Aranda; Fagundes- Neto; Scaletsky (2004).
		CCAGACGATACGATCCAG		40x (95°-40s, 56°C-1m, 72°C-2m)	
	<i>CVD43</i>	CTGGCGAAAGACTGTATCAT	630	72°C-7m	
		CAATGTATAGAAATCCGCTGTT			
	<i>stx1</i>	ATAAATCGCCATTCGTTGACTAC	180		
		AGAACGCCCACTGAGATCATC			
	<i>stx2</i>	GGCACTGTCTGAAACTGCTCC	255		
		TCGCCAGTTATCTGACATTCTG			
	<i>LT</i>	GGCGACAGATTATACCGTGC	450	95°C-5m	
		CGGTCTCTATATTCCCTGTT		40x (95°C-45s, 50°C-1m, 72°C- 1m) 72°C-7m	
<i>ST</i>	ATTTTMTTTCTGTATTRTCTT	190			
	CACCCGGTACARGCAGGATT				
<i>ipaH</i>	G TTCCTTGACCGCCTTCCGATACCGT	600			
	GCCGGTCAGCCACCCTCTGAGAGTAC				
<i>Pseudomonas</i> spp.	<i>16S rRNA</i>	GACGGGTGAGTAATGCCTA CACTGGTGTTCCCTTCCTATA	618	94°C-1m 35x (94°C-1m, 58°C-1m, 72°C-1m) 72°C-10m	Spiker et al., (2004).

Resultados e Discussões

Foi observado que as contagens de micro-organismos indicadores foram proporcionais aos intervalos das análises, aumentando com o passar dos dias (Tabela 2).

O resultado apresentado pela pesquisa de micro-organismos aeróbios mesófilos foi observado fora do padrão estipulado por legislação vigente a partir do D-40 (Figura 1). A Instrução Normativa nº 161 de 2022 (BRASIL, 2022a) determina o padrão para esse grupo de micro-organismos indicadores para carne bovina crua de até $1,0 \times 10^6$ UFC/g, sendo os resultados apresentados neste trabalho de $1,2 \times 10^8$ UFC/g e $7,0 \times 10^8$ UFC/g nos dias 40 e 60, respectivamente.

Para a Resolução da Diretoria Colegiada nº 724 de 2022 (BRASIL, 2022b), a partir da terceira análise (D-40) a amostra já foi considerada insatisfatória. Visto que esta define que quando o resultado observado em qualquer unidade amostral for maior que “M”, a amostra será considerada insatisfatória com qualidade inaceitável, no plano de três classes para amostra indicativa.

De acordo com o proposto por Bomar (1985) a carne é considerada imprópria para o consumo quando apresenta contagens de aeróbios mesófilos de $3,5 \times 10^7$ UFC/g. Baseada nessas informações pode-se estimar que o músculo *Longissimus dorsi* avaliado pelo presente trabalho encontrava-se em condições insatisfatórias a partir de D-40.

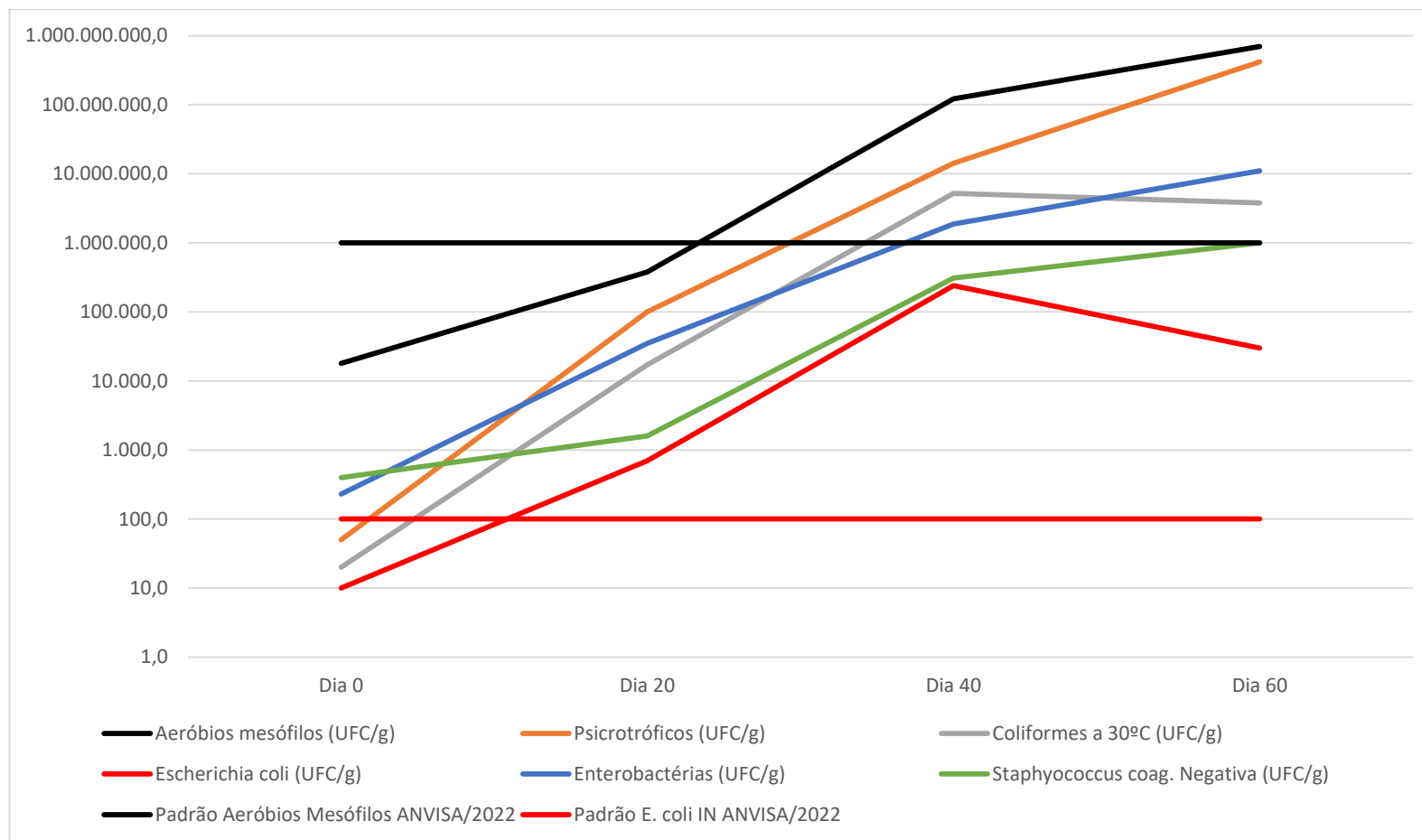
Para os micro-organismos psicrotróficos a legislação brasileira não define padrão para contagem, no entanto, a Comissão Internacional de Especificações Microbiológicas em Alimentos (ICMSF, 1986) define contagens máximas de $1,0 \times 10^7$ UFC/g.

Neste trabalho, os psicrotróficos foram aumentando de acordo com os intervalos das análises, passando de 5×10^1 no D-0 para $>10^5$, $1,4 \times 10^7$ e $4,2 \times 10^8$ no D-20, D-40 e D-60, respectivamente, conforme apresentado na Tabela 2. Esse aumento nas bactérias psicrotróficas também foi observado por Marquezini et al. (2016), sendo que aos 60 dias a amostra avaliada também ultrapassou o parâmetro estipulado pela ICMSF. Esses autores ainda relatam que isso acontece devido as condições de temperatura satisfatórias para o desenvolvimento desses micro-organismos e limitação da multiplicação de mesófilos estritos. De acordo Djordjevic' et al. (2018), as bactérias psicrotróficas são as principais responsáveis pela deterioração da carne.

Tabela 2. Pesquisa de micro-organismos indicadores durante cada etapa da *shelf life* do *Longissimus dorsi* coletado de um Abatedouro Frigorífico de bovinos no norte do Tocantins no período de 25 de setembro a 06 de dezembro de 2021.

Repetição <i>Shelf life</i>	Aeróbios Mesófilos	Psicrotróficos	Coliformes a 30°C	<i>Escherichia coli</i>	Enterobactérias	<i>Staphylococcus</i> coagulase negativa
D-0	$1,8 \times 10^4$	5×10^1	$2,0 \times 10^1$	$1,0 \times 10^1$	$2,3 \times 10^2$	$4,0 \times 10^2$
D-20	$3,8 \times 10^5$	$>10^5$	$1,7 \times 10^4$	$7,0 \times 10^2$	$3,5 \times 10^4$	$1,6 \times 10^3$
D-40	$1,2 \times 10^8$	$1,4 \times 10^7$	$5,2 \times 10^6$	$2,5 \times 10^5$	$1,9 \times 10^6$	$3,1 \times 10^5$
D-60	$7,0 \times 10^8$	$4,2 \times 10^8$	$3,1 \times 10^6$	$3,0 \times 10^4$	$1,1 \times 10^7$	$>10^6$

Figura 1 – Evolução das contagens dos micro-organismos indicadores da *Shelf life* do *Longissimus dorsi* coletado de um Abatedouro Frigorífico de bovinos no norte do Tocantins no período de 25 de setembro a 06 de dezembro de 2021.



A multiplicação microbiana em condições de refrigeração está relacionada com características metabólicas dos psicotróficos. Sabe-se que esses micro-organismos quando submetidos a refrigeração passam a sintetizar enzimas de baixa energia de ativação, acionando vias metabólicas secundárias a via sacarolítica, como a proteolítica e lipolítica, catalisada por enzimas ativas sob baixas temperaturas (ANDREATTA, 2006). Como a constituição do contrafilé e outras carnes bovinas é de 22% de proteína e 1 a 2% de gordura, é esperado que problemas tecnológicos como proteólise sensoriais e rancificação sejam observadas em cortes cárneos refrigerados com alta contagem de psicotróficos (FRANZETTI; SCARPELLINI, 2006).

Para a ICMSF, as contagens bacterianas em alimentos acima do limite estipulado por ela estabelecem que o produto já não oferece condições higiênico sanitárias próprias, ou seja, pode ter ocorrido contaminação do alimento durante seu processamento que já chegou ao limiar de comprometer a sua qualidade e potencialmente sua segurança microbiológica.

Durante a fabricação dos alimentos, a contaminação pode se dar por várias fontes, sendo as principais delas a mão de colaborador, o ambiente, os utensílios e os equipamentos mal higienizados (BOARATTI, 2004).

Um dos micro-organismos que podem indicar contaminação através de mão de colaborador e falha no processo de produção e preparo do produto é *Staphylococcus* spp. (FERREIRA DE SÁ et al., 2016). Nos resultados obtidos por este trabalho, as contagens deste micro-organismo variaram de $4,0 \times 10^2$ no dia 0 a $1,6 \times 10^3$ em D-20, $3,1 \times 10^5$ em D-40 e $>10^6$ no D-60.

Apesar do gênero presente, todos os micro-organismos isolados foram identificados como coagulase negativa, sendo estes associados a infecções hospitalares. *Staphylococcus* Coagulase Positiva (ECP) são mais associados as DTA's, sendo um dos principais destes *S. aureus*, o qual é coagulase positivo, produtor de enterotoxinas (CINTRA, 2015). Miliotis e Bier (2003) ressaltam que os ECP podem ter seu desenvolvimento limitado em carnes cruas devido a competição com micro-organismos mesofílicos, podendo esta afirmativa justificar a identificação somente dos estafilococos coagulase negativa.

Além de todos os micro-organismos indicadores pesquisados apresentarem crescente aumento conforme a evolução da *shelf life* e a detecção de todos os micro-organismos patogênicos pesquisados em todas as amostras a partir de D-20, na realização das análises do último intervalo (D-60) notou-se alterações organolépticas como odor putrefativo da amostra.

Na deterioração da carne ocorre mudanças que variam de acordo com os tipos de micro-organismos dominantes, condições de armazenamento (como por exemplo temperatura

e embalagem), composição e propriedades do produto cárneo (pH, lipídios, atividade enzimática, etc) e tempo de armazenamento (SOPHOS, 2014).

Segundo Cipriano et al. (2021), a ocorrência de odor desagradável é devido a multiplicação microbiana, a qual gera acúmulo de ácido láctico e a decomposição de proteínas constituintes da carne. Uma das grandes responsáveis por essa decomposição de proteínas são *Pseudomonas* spp., sendo as principais bactérias proteolíticas (TEIDER JÚNIOR et al., 2019). O tempo de maturação também tem influência na intensidade do odor apresentado na carne (MONSÓN; SAÑUDO; SIERRA, 2005).

No presente trabalho, estas foram detectadas nas análises de D-40 e D-60. De 100% dos isolados de psicotróficos, *Pseudomonas* spp. representaram 55% na análise de D-40 e 48% na análise de D-60, conforme apresentado em Tabela 3.

Tabela 3. Pesquisa de *Pseudomonas* spp. durante cada etapa da *shelf life* de *Longissimus dorsi* de um Abatedouro Frigorífico de bovinos no norte do Tocantins no período de 25 de setembro a 06 de dezembro de 2021.

Repetição <i>Shelf life</i>	<i>Pseudomonas</i> spp	
	n	Positivos (%)
D-0	-	-
D-20	-	-
D-40	20	11 (55)
D-60	50	24 (48)

A deterioração causada pela produção dessas enzimas proteolíticas dos micro-organismos psicotróficos pode representar problemas para as indústrias como a ocorrência de sabores e odores desagradáveis, desencadeando diminuição da vida de prateleira com diminuição do raio de distribuição e consequente perda dos produtos (TESSER, 2009).

Outro micro-organismo indicador de higiene dos processos de fabricação muito utilizado são de enterobactérias, visto que esses micro-organismos são amplamente distribuídos no ambiente e no trato digestivo de animais e podem ser inativadas através do uso de sanitizantes (HERVERT et al., 2016).

No presente trabalho, as contagens de enterobactérias variaram entre $2,3 \times 10^2$ e $1,1 \times 10^7$ UFC/g. Os valores encontrados são considerados elevados e fora dos padrões se comparados com o padrão apresentado em Instrução Normativa nº 60 de 2018 (BRASIL, 2019), que definia limite para interpretação dos resultados de *Enterobacteriaceae* em carcaças de bovinos em $1,0 \times 10^2$ UFC/g.

A elevação dos valores encontrados pode ter se observado devido as amostras analisadas

serem produtos com mais manipulação e etapas de processamento do que as carcaças bovinas. Sendo essas submetidas, além de todo o processo de abate, também as etapas presentes no setor de desossa. Como ressalta Sophos (2014), produtos cárneos que são triturados, moídos ou em geral não intactos, contém maior contaminação do que produtos intactos ou carcaças, devido a contaminação de utensílios e moedores, maior área de superfície e propagação da contaminação. No entanto, mesmo que as amostras são produtos mais manipulados e foram submetidas a mais processos do que as carcaças, não se pode afirmar que as mesmas estão em conformidade com os padrões para as contagens desse micro-organismo.

Ainda, a presença de enterobactérias indica que houve condições favoráveis para a presença e multiplicação de micro-organismos patogênicos, principalmente os enteropatógenos, e torna-se questionável a sanitização do ambiente (FERREIRA, 2019).

Mais restritamente às enterobactérias, outros grupos de micro-organismos utilizados para se determinar as condições higiênico-sanitárias na produção de alimentos são os coliformes totais e termotolerantes (HERVERT et al., 2016). A pesquisa de *E. coli* nos alimentos fornece, com maior segurança, informações sobre as condições higiênicas do produto e melhor indicação de eventual presença de enteropatógenos, uma vez que esse micro-organismo é um indicador de contaminação fecal, pois é encontrado no conteúdo intestinal dos homens e animais de sangue quente (MENDONÇA; SILVA, 2012).

Para a Instrução Normativa nº 161 de 2022 (BRASIL, 2022a) o limite para *E. coli* é de $1,0 \times 10^2$ UFC/g de carne bovina. Assim, a análise para isolamento de *E. coli* nesta pesquisa se apresentou dentro dos padrões somente em D-0, e ocorrendo redução em D-60, se comparado a D-40 (Figura 1).

A diminuição nas contagens de *E. coli* pode ter sido observada devido a multiplicação dos demais micro-organismos, principalmente os psicrotóxicos, que podem competir por fontes de oxigênio ou hidrogênio, nutrientes, produção de substâncias (bacteriocinas, compostos voláteis), compostos voláteis que podem restringir o desenvolvimento de outros, gerando uma interação competitiva entre os micro-organismos (TSIGARIDA; NYCHAS, 2006), não sendo descartada também a possibilidade da amostragem para análise microbiológica não ter compreendido completamente a contaminação do produto.

Os isolados sugestivos de *E. coli* durante as análises estão demonstrados na Tabela 4. De acordo o apresentado, foi possível identificar os fatores de virulência do gene *eaeA*, *ST*, *stx2* e *ipaH*, característicos de EPEC, ETEC, STEC e EIEC, respectivamente. Os genes

codificadores de fatores de virulência CVD432, LT, *stx1* e *eaeA* + *stx1* ou 2, de EAEC, ETEC, STEC e EHEC, respectivamente, não foram identificados durante as análises.

Tabela 4. Pesquisa de patógenos alimentares durante cada etapa da *shelf life* de *Longissimus dorsi* de um Abatedouro Frigorífico de bovinos no norte do Tocantins no período de 25 de setembro a 06 de dezembro de 2021.

Repetição <i>Shelf life</i>	<i>Salmonella</i> spp		<i>Listeria monocytogenes</i>		<i>Escherichia coli</i>								
					Total	<i>EPEC (eaeA)</i>	<i>STEC (stx1)</i>	<i>STEC (stx2)</i>	<i>EHEC</i>	<i>EAEC</i>	<i>EIEC (ipaH)</i>	<i>ETEC (ST)</i>	<i>ETEC (LT)</i>
	n	Positivos (%)	n	Positivos (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	
D-0	37	0 (0)	30	2 (6,7)	1	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
D-20	40	2 (5)	30	6 (20)	7	1 (14,3)	0 (0%)	2 (28,6)	0 (0%)	0 (0%)	1 (14,3)	2 (28,6)	0 (0%)
D-40	40	1 (2,5)	20	1 (5)	25	1 (4)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
D-60	35	2 (5,7)	35	3 (8,6)	3	0 (0%)	0 (0%)	1 (33,3)	0 (0%)	0 (0%)	1 (33,3)	0 (0%)	0 (0%)

Apesar de *E. coli* ser considerada um indicador de qualidade higiênico sanitária, a mesma também é considerada um micro-organismo patogênico quando apresenta fatores de virulência que podem comprometer a segurança. Sua presença também é indicadora da possível presença de outros enteropatógenos, como *Salmonella* spp.

A pesquisa de *Salmonella* spp. teve confirmação em D-20, D-40 e D-60, conforme exposto na Tabela 4. Uma possibilidade de não ter sido isolada *Salmonella* na análise do dia 0, pode ser devido a quantidade de micro-organismo ainda ser pequena na amostra, não sendo possível seu isolamento e detecção. Conforme foi passando o período de *shelf life*, ela pode se multiplicar nas amostras e detectadas nas análises posteriores. É sabido que as Salmonelas conseguem se multiplicar a temperaturas entre 5 e 48°C (ASAE, 2023).

Para a pesquisa de *Salmonella* spp. a análise é considerada qualitativa, sendo o resultado expresso em presença ou ausência, sendo tolerada somente o resultado de ausência, conforme definido na Instrução Normativa nº 161/2022 (BRASIL, 2022a).

O segundo grupo de bactérias mais frequentemente relatadas como causadoras de DTA's são *Salmonella* spp. (CARRASCO; MORALES-RUEDA; GARCIA-GIMENO, 2012). De acordo Miya et al., (2014) e Sophos (2014) a contaminação por *Salmonella* em carnes pode se dar durante as operações de abate, na preparação e desossa. A segurança pode ser comprometida, porém somente se o produto for consumido cru ou mal cozido ou incorretamente manipulado na preparação sendo um meio de transmissão resultante de contaminação cruzada (BUCHER; D'AOUST; HOLLEY, 2008).

A infecção por *Salmonella* causa diarreia aquosa, dor abdominal, febre, e tem seu período de incubação de oito a setenta e duas horas (ASAE, 2023). Seu principal *habitat* é o trato gastrointestinal de animais usados para produção de alimentos e as carnes e aves são consideradas suas principais fontes (SOPHOS, 2014).

Outro micro-organismo que também é considerado patogênico e seu resultado é expresso por sua presença ou ausência é *Listeria* spp. Segundo a Autoridade de Segurança Alimentar e Econômica – ASAE (2022), *Listeria monocytogenes* é a única espécie considerada patogênica deste gênero e pode causar infecções leves com doença gastrointestinal ou síndromes graves e invasivas causando infecções meníngeas, e em mulheres grávidas pode causar parto prematuro ou aborto espontâneo.

As embalagens de atmosfera modificada trazem uma preocupação associada a embalagem de carne, que é a multiplicação de micro-organismos psicrotóxicos, como *Listeria monocytogenes* (BORGES, 2019). Segundo Hugas et al., (1998), apenas a embalagem de atmosfera modificada não pode alcançar a inibição de *L. monocytogenes* tanto

que em todas as análises realizadas pelo presente trabalho houve confirmação da presença deste micro-organismo, independentemente do período de análise (dia 0 ao 60). Dessa forma, é possível que as peças tenham sido contaminadas por esse patógeno previamente à desossa.

De acordo os resultados observados, a partir da análise de D-40 é possível identificar um maior desenvolvimento dos micro-organismos indicadores, podendo ser justificado devido o final da sua maturação, que ocorre em condições de refrigeração por aproximadamente 30 dias após o abate do animal (MONSÓN; SAÑUDO; SIERRA, 2005), sendo neste trabalho considerada uma maturação úmida (*wet-aged*), que preserva a umidade da carne através da sua embalagem, a qual pode favorecer a manutenção de micro-organismos deteriorantes e patógenos (RIBEIRO JÚNIOR et al., 2021).

Conclusão

As análises que possuem padrão para carnes bovinas determinado por legislações vigentes (aeróbios mesófilos e *E. coli*) tiveram seus limites ultrapassados, sendo *E. coli* desde D-20. Além disso, foram detectados patógenos que podem comprometer a segurança para o consumo. Dadas as contagens dos micro-organismos indicadores fora dos padrões legais já nas primeiras análises e elevadas contagens de outros indicadores da qualidade, é esperada baixa vida útil do contra-filé analisado pelo presente estudo. Medidas de maior rigor no controle sanitário da área de desossa como adequações dos monitoramentos, ações preventivas e corretivas de higiene operacional podem ser implementadas ou aprimoradas para garantir aumento da vida útil para a carne embalada a vácuo.

Referências

ABIEC. Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carnes. **Beef Report: Perfil da Pecuária no Brasil**, 2023.

ALNAJRANI, M.; HANLON, K.; ENGLISH, A.; FERMIN, K., BRASHEARS, M. M.; ECHEVERRY, A. Comparing the Recovery of Indicator Microorganisms from Beef Trimmings Using Swabbing, Rinsing, and Grinding Methodologies. **Meat and Muscle Biology**. 2018, 2, 154-161. <https://doi.org/10.22175/mmb2017.09.0047>.

ANDREATTA, E. **Avaliação da qualidade dos queijos Minas Frescal e tipo Mussarela produzidas com leite contendo diferentes níveis de células somáticas**. 112f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2006.

ARANDA, K. R. S.; FAGUNDES-NETO, U.; SCALETSKY, I. C. A. Evaluation of multiplex PCRs for diagnosis of infection with diarrheagenic *Escherichia coli* and *Shigella* spp. **Journal of clinical microbiology**, v. 42, n. 12, p. 5849-5853, 2004.

ASAE. **Autoridade de Segurança Alimentar e Econômica. Lisboa**, 2022. Disponível em: <<https://www.asae.gov.pt/seguranca-alimentar/riscos-biologicos/listeria-monocytogenes.aspx>>. Acesso em: 18 de dez. 2022.

ASAE. **Autoridade de Segurança Alimentar e Econômica. Lisboa**, 2023. Disponível em: <<https://www.asae.gov.pt/seguranca-alimentar/riscos-biologicos/salmonella.aspx>>. Acesso em: 27 de fev. 2023.

AUGUSTO, T. R.; JORGE, P. S.; MENDONÇA, C. C. T. Benefícios do uso da embalagem a vácuo em carnes e produtos cárneos (revisão). **Research gate**. Março, 2011. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Thalita_Augusto_Obara/publication/317716076_Beneficios_do_uso_da_embalagem_a_vacu_em_carnes_e_produtos_carneos_revisao/links/59b2a891aca2728472d505e9/Beneficios-do-uso-da-embalagem-a-vacu-em-carnes-e-produtos-carneos-revisao.pdf. Acesso em 17 de maio de 2021.

BEZZERA, W. I; MARTINS, T. D. D. **Análise dos Pontos Críticos em uma unidade frigorífica de abate de suínos em Igarassu-PE**. 3ª jornada Nacional da Agroindústria. Bananeiras, Paraíba, 2008.

BOARATTI, M. F. G. **Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle para alimentos irradiados no Brasil**. **Dissertação** (Mestrado em Ciências na área de Tecnologia Nuclear) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo. 2004.

BOMAR, M. T. Rapid method for the determination of bacterial surface contamination in carcasses. **Alimenta**, Zurich, v. 24, n. 3, p. 55-57, 1985.

BORGES, C. R. S. P. **Características da carne bovina maturada em diferentes embalagens a vácuo e diferentes fontes de luz**. 43f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Animal) – Universidade Estadual de São Paulo, Dracena, 2019.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Instrução Normativa nº 60 de 23 de dezembro de 2019. Estabelece as listas de padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 26 de dezembro de 2019. Edição: 249. Seção: 1. Página: 133.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Instrução Normativa nº 161 de 1º de julho de 2022a. Estabelece as listas de padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DOU nº 126 de 6 de julho de 2022.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada nº 724 de 1º de julho de 2022b. Dispões sobre os padrões microbiológicos dos alimentos e sua aplicação. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília.

BUCHER, O.; D'AOUST, J. Y.; HOLLEY, R. A. Thermal resistance of Salmonella serovars isolated from raw, frozen Chicken nuggets/strips, nugget meat and pelleted broiler feed. **International Journal of Food Microbiology**. 2008; 124(2), 195-198.

CARHUALLANQUI-PÉREZ, A. **Evaluación del efecto combinado bactericida del aceite esencial del ajo (*Allium sativum*) y orégano (*Origanum vulgare*) sobre *Listeria monocytogenes* (ATCC) y *Staphylococcus aureus* (ATCC) em carne de res empacada al vacío y almacenada em refrigeración (4°C)**. (Tesis de maestría). Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina Veterinaria, Unidade de Posgrado, 2020.

CARRASCO, E.; MORALES-RUEDA, A.; GARCIA-GIMENO, R. M. Cross-contamination and recontamination by *Salmonella* in foods: A review. **Food Research International**. 2012; 45(2):545-556.

CHEN, Y.; KNABEL, S.J. Multiplex PCR for simultaneous detection of bacteria of the genus *Listeria*, *Listeria monocytogenes*, and major serotypes and epidemic clones of *L. monocytogenes*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 73, n. 19, p. 6299-6304, 2007.

CINTRA, A. P. R. **Avaliação da presença de *Staphylococcus* coagulase positivo e negativo e de suas toxinas em carnes de frango de corte processados em sala com diferentes temperaturas ambientes**. 67 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2015. Disponível em: <http://hdl.handle.net/1843/SMOC-9V5NYH>. Acesso em: 15 de fevereiro de 2023.

CIPRIANO, L. C.; SOUSA, L. B.; SIQUEIRA, H. P. G.; LIMA, E. F.; MESSIAS, C. T.; MARCHI, P. G. F.; MEDEIROS, E. S.; HOPPE, I. B. A. L.; SIQUERA, A. B. Vida útil de carne bovina moída comercializada no município de Boa vista – Roraima. **Research, Society and Development**, v. 10, n.2, 2021.

COSTA, G. M.; PEREIRA, U. P.; CUSTODIO, D. A. C.; SILVA, N. Caracterização de *Staphylococcus* coagulase-positiva utilizando plasmas de diferentes espécies animais. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 70, n. 4, p. 584-588, 2011.

DJORDJEVIC', J.; BOSKOVI, M.; STARCEVI, M.; IVANOVIC, J.; KARABASIL, N.; DIMITRIJEVIC, M.; LAZIC, I. B.; BALTIC, M. Z. Survival of *Salmonella* spp. in ground meat packed in vacuum and modified atmosphere. **Brazilian Journal of Microbiology**. 2018. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2017.09.009>.

FERREIRA DE SÁ, M. J.; MACEDO, R. O.; LEANDRO, L. M. G.; ALMEIDA, B. S.; FONSECA, F. L. A. Avaliação microbiológica do presunto fatiado comercializado na cidade de Juazeiro do Norte – CE. **Higiene Alimentar**. Vol. 30, n°258/259, jul/ago. de 2016.

FERREIRA, R. C. **Avaliação da qualidade microbiológica do presunto cozido fatiado e das condições higiênico-santárias do ambiente industrial.** Dissertação (Mestrado em Ciência Animal). Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 2019. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/1843/46086>>. Acesso em 27 de fevereiro de 2023.

FRANZETTI, L.; SCARPELLINI, M. **Characterisation of Pseudomonas spp. isolated from foods.** Dipartimento di Scienze e Tecnologie Alimentari e Microbiologiche, sezione Microbiologia Agraria Alimentare Ecologia, Università degli Studi di Milano, Via Celoria 2, 20133, Milano, Italy. 2006.

FRANK, J.F.; YOUSEF, A.E. Test for groups of microorganisms. In: WEHR, H.M.; FRANK, J.K (Eds.), **Standard Methods for the Examination of Dairy Products**, 17th Ed. American Public Health Association, Washington, D.C., 2004. Chapter 8, Section 8.090 an 8.100, p. 239-242.

FURLANETTO, K. H. **Avaliação da vida de prateleira e da qualidade de amostras de carne bovina resfriada embaladas à vácuo pelo período de 120 dias.** 55 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, 2020. Disponível em: <<http://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/handle/1/5196>>. Acesso em 17 de maio e 2021.

HERVERT, C. J.; ALLES, A. S.; MARTIN, N. H.; BOOR, K. J.; WIEDMANN, M. Evaluation of different methods to detect microbial hygiene indicators relevant in the dairy industry. **Journal Dairy Science**, v. 99, p. 7033±7042, 2016.

HUGAS, M.; PAGÉS, F.; GARRIGA, M.; MONFORT, J.M. Application of the bacteriocinogenic *Lactobacillus sakei* CTC 494 to prevent growth of *Listeria* in fresh and cooked meat products packed with different atmospheres. **Food Microbiol.**, 15, 639-650, 1998.

ICMSF. INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS. **Microorganisms in foods.2. Sampling for microbiological analysis:**

Principles and specific applications (2nd ed). Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1986.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Rebanho de bovinos (bois e vacas)**. 2023. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/bovinos/br>. Acesso em 13 de fevereiro de 2023.

ISO 11290-1. Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs - Horizontal Method for the Detection and Enumeration of *Listeria monocytogenes* e Part 1: Detection Method. **International Organization for Standardization**, 1996, Amendment 1:2004.

ISO 6579. Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs – Horizontal Method for Detection of *Salmonella* spp. 4th ed., **International Organization for Standardization**, 2002, Amendment 1:2007.

ISO 6888-1. Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs – Horizontal Method for the Enumeration of Coagulase-Positive Staphylococci (*Staphylococcus aureus* and Other Species) – Part 1: Technique Using Baird-Parker Agar Medium, **International Organization for Standardization**, 1999, Amendment 1:2003.

MARQUEZINI, M. G.; ORLANDO, E. A.; YOTSUYANAGI, S. E.; BROMBERG, R. Analysys of vacuum packed beef regarding psychrotrophic bacteria growth na biogenic amines contente. **Procedia Food Science** 7. 2016. p. 141-144.

McMILLIN, K. W. Where is MAP Going? A review and future potential of modified atmosphere packaging for meat. **Meat Science** 80. 2008. p. 43-65.

MENDONÇA B. S.; SILVA C.S. Qualidade microbiológica da carne moída comercializada na cidade Cariacica, ES. **Higiene Alimentar**. São Paulo, v. 26, n.208/209, maio/jun. p. 101-105, 2012.

MILIOTIS, M.D.; BIER, J.W. **International Handbook of Foodborne Pathogens**. Edição. Nova Iorque: Marcel Dekker, 2003. 809 p.

MIYA, S.; TAKAHASHI, H.; HASHIMOTO, M.; NAKAZAWA, M.; KUDA, T.; KOISO, H.; KIMURA, B. Development of a controlling method for *Escherichia coli* O157: H7 and *Salmonella* spp in fresh market beef by using polylysine and modified atmosphere packaging. **Food Control**, 2014. 37: 62-67.

MONSÓN, F.; SAÑUDO, C.; SIERRA, I. Influence of breed and ageing time on the sensory meat quality and consumer acceptability in intensively reared beef. **Meat Science**, v. 71, n. 3, p. 471-479, 2005.

REDONDO-SOLANO, M.; GUZMÁN-SABORÍO, P.; RAMÍREZ-CHAVARRÍA, F.; CHAVES-ULATE, C.; ARAYA-QUESADA, Y.; ARAYA-MORICE, A. Effect of the type of packaging on the shelf life of ground rabbit meat. **Food Science and Technology International**. 28(2) 190-199, 2020. Doi: 10.1177/10820132211003705.

RIBEIRO JÚNIOR, J.C.; TAMANINI, R.; SOARES, B.F.; OLIVEIRA, A.M.; SILVA, F.G.; SILVA, F.F.; AUGUSTO, N.A.; BELOTI, V. Efficiency of boiling and four other methods for genomic DNA extraction of deteriorating spore-forming bacteria from milk. **Semina Ciências Agrárias**, v. 7, p. 3069–3078, 2016.

RIBEIRO JÚNIOR, J.C.; SILVA, F.F.; LIMA, J.B.A.; OSSUGUI, E.H.; TEINDER JUNIOR, P.I.; CAMPOS, A.C.L.P.; NAVARRO, A.; TAMANINI, R.; RIBEIRO, J.; ALFIERI, A.A.; BELOTI, V. (2019). Short communication: Molecular characterization and antimicrobial resistance of pathogenic *Escherichia coli* isolated from raw milk and Minas Frescal cheeses in Brazil. **Journal of Dairy Science**, 102(12):10850-10854. <<https://doi.org/10.3168/jds.2019-16732>>.

RIBEIRO JÚNIOR, J.C.; SANTOS, I. G. C.; DIAS, B. P.; NASCIMENTO, C. A.; LOBO, C. M. O. Qualidade e Segurança Microbiológica de Longissimus Dorsi In Natura e evolução das contagens de aeróbios mesófilos e psicrotróficos de ao longo de 30 dias de maturação a seco (Dry-Aged). **Brazilian Journal of Development**. v. 7, n.4, p. 39347-39361, apr. 2021.

SHANMUGASAMY, M.; VELAYUTHAM, T.; RAJESWAR, J. (2011). *InvA* gene specific PCR for detection of *Salmonella* from broilers. **Veterinary World**. 4(12):562-564. <<https://doi.org/10.5455/vetworld.2011.562-564>>.

SOPHOS, J. N. Meat and Meat Products. **Food Safety Management**. 2014, p. 119-162. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-381504-0-00006-8> Acesso em: 16 de janeiro de 2023.

SPIKER, T.; COENYE, T.; VANDAMM, P.; LIPUMA, J. J. PCR-based assay for differentiation of *Pseudomonas aeruginosa* from other *Pseudomonas* species recovered from cystic fibrosis patients. **J. Clin. Microbiol.** 2004. 42(5):2074-2079. <<http://dx.doi.org/10.1128/JCM.42.5.2074-2079.2004>> <PMid:15131172>.

TEIDER JÚNIOR, P. I.; RIBEIRO JÚNIOR, J. C.; OSSUGUI, E. H.; TAMANINI, R.; RIBEIRO, J.; SANTOS, G. A.; ALFIERI, A. A.; BELOTI, V. *Pseudomonas* spp e outros microrganismos psicrotróficos em queijo Minas Frescal brasileiro inspecionado e não inspecionado: potencial de produção proteolítica, lipolítica e AprX1. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. Out. 2019.

TESSER, ELISA, SCHEID. **O uso de diferentes tipos de embalagem na conservação de carnes bovinas**. 36 f. Monografia (Graduação em Medicina Veterinária) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

TSIGARIDA, E.; NYCHAS, G. J. E. Effect of High-Barrier Packaging Films with Different Oxygen Transmissin Rates on the Growt of *Lactobacillus* sp. On Meat Fillets. **Journal of Food Protection**. Vol.69, n.4, 2006. p. 943-947.

5. CAPÍTULO III

CONSIDERAÇÕES FINAIS

As contagens de indicadores microbiológicos mostraram-se superiores ao padrão após vinte dias de armazenamento a 7°C. Durante o período de vida de prateleira avaliado foram identificados todos os patógenos a saúde humana que foram pesquisados e vários fatores de virulência específicos, demonstrando alto risco para o consumo se o produto for incorretamente processado e contaminação ampla e diversa da carne por patógenos bacterianos.

A legislação brasileira ainda é deficiente com relação a definição dos padrões e limites aceitáveis ou não para uma maior quantidade de indicadores da qualidade. Mesmo após atualizações seguidas em pouco período de tempo a qual incluiu mais gêneros de micro-organismos, outros foram excluídos da sua gama de pesquisas com determinação dos limites, continuando assim ainda deficiente devido à grande variabilidade de micro-organismos que podem ser causadores de perda da qualidade e comprometer a segurança. Sob o ponto de vista da vida útil, principalmente, os psicrotróficos devem ser considerados.

Mesmo com alguns padrões não definidos, devido às elevadas contagens de micro-organismos identificados no produto, tanto indicadores de qualidade, conhecidamente deteriorantes, quanto patogênicos, pode se indicar que o produto analisado está susceptível à alterações nas suas características sensoriais, como o odor, reafirmando o comprometimento da sua qualidade, segurança e vida útil.

A observação dos resultados apresentados também leva a questionamentos sobre a correta aplicação das medidas de controle interno do estabelecimento, as quais devem garantir a inocuidade e a segurança dos produtos durante todas as etapas de produção. Revisões e adequações dos monitoramentos, ações preventivas e corretivas são necessárias para um controle mais eficiente na garantia da qualidade dos produtos, podendo estas serem desde melhora na execução dos procedimentos de higienização industrial e operacional, com verificação da efetividade dos produtos aplicados, monitoramento dos colaboradores para verificação quanto a correta execução dos procedimentos sanitários operacionais, intensificação nas análises dos produtos e de amostragens superficiais com *swabs* de equipamentos, para verificação da efetividade das ações aplicadas.