



UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS
CAMPUS DE ARAGUAINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SANIDADE ANIMAL E SAÚDE
PÚBLICA NOS TRÓPICOS

ROBERTA SAGAWA

**IMPACTO DO PERÍODO PRÉ-ABATE E DO
PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRONIZADO DA
ESFOLA DA REGIÃO DO PEITO NA QUALIDADE E
SEGURANÇA MICROBIOLÓGICA DA CARÇA DE
BOVINOS**

Araguaína/TO
2022

ROBERTA SAGAWA

**IMPACTO DO PERÍODO PRÉ-ABATE E DO
PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRONIZADO DA
ESFOLA DA REGIÃO DO PEITO NA QUALIDADE E
SEGURANÇA MICROBIOLÓGICA DA CARÇA DE
BOVINOS**

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 pela orientadora e pela Banca Examinadora.

Orientador: Prof. Dr. José Carlos Ribeiro Júnior

Coorientadora: Prof. Dra. Bruna Alexandrino

Araguaína/TO
2022

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

S129i Sagawa, Roberta.

Impacto do período pré-abate e do procedimento operacional padronizado da esola da região do peito na qualidade e segurança microbiológica da carcaça de bovinos. / Roberta Sagawa. – Araguaína, TO, 2022.

45 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, 2022.

Orientador: José Carlos Ribeiro Júnior

Coorientadora : Bruna Alexandrino

1. Boas práticas de fabricação. 2. Carne bovina. 3. Qualidade sanitária. 4. Salmonella spp. 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

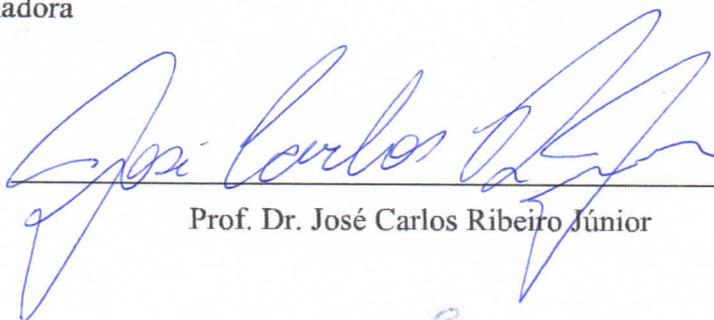
ROBERTA SAGAWA

IMPACTO DO PERÍODO PRÉ-ABATE E DO PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRONIZADO DA ESFOLA DA REGIÃO DO PEITO NA QUALIDADE E SEGURANÇA MICROBIOLÓGICA DA CARCAÇA DE BOVINOS

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 pela orientadora e pela Banca Examinadora.

Data de aprovação: 17 / 02 / 2022

Banca Examinadora



Prof. Dr. José Carlos Ribeiro Júnior



Dr. Ronaldo Tamanini

Documento assinado digitalmente
gov.br CATIA MARIA DE OLIVEIRA LOBO
Data: 09/08/2022 09:44:50 -0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Prof. Dra. Cátia Maria de Oliveira Lobo

Araguaína/TO, 2022

*Ao meu pai Yoshimasa Sagawa, meu grande
incentivador aos estudos*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha família, Francisco Pinho de Almeida, Luiza Sagawa Pinho e Vitor Sagawa Pinho, meu estímulo diário a me tornar um ser humano melhor, aos meus colegas do laboratório de microbiologia, Aelton Pereira de Sousa, Cristiane Alves Nascimento, Monike da Silva Oliveira, Yron Moreira Rodrigues, que tanto me auxiliaram no desenvolvimento desta pesquisa e ao meu orientador, José Carlos Ribeiro Júnior, impulsionador deste projeto.

RESUMO

O período pré-abate de bovinos é destinado ao jejum alimentar, dieta hídrica e reposição do glicogênio muscular prejudicado pelo estresse oriundo do transporte das propriedades até os abatedouros frigoríficos. Durante este período os animais são alocados em currais de observação. Neste momento a delimitação do espaço leva a um maior contato entre os animais, que pode favorecer a contaminação do couro dos mesmos. Passado o período de jejum os animais podem seguir para o banho de aspersão que antecede o abate. Neste momento a água escorre por todo o dorso do animal, convergindo na região ventral (peito e abdômen). Esta alta contaminação microbiológica do couro pré-esfola pode contaminar a carcaça durante sua manipulação e, conseqüentemente, expor o consumidor a perigos microbiológicos durante o consumo da carne. Para evitar esse tipo de contaminação da carcaça, é estabelecido um procedimento sanitário operacional (PSO) que determina o sentido e a direção da faca no procedimento de incisão/riscagem do couro e posterior esfola. O objetivo do presente estudo, portanto, foi verificar se o tempo de espera pré-abate e o sentido da faca no procedimento de riscagem do couro podem influenciar na qualidade microbiológica da carcaça. Foram amostrados 48 animais de uma mesma propriedade, divididos em grupo A com 24 animais submetidos ao período pré-abate de 13 horas e grupo B submetidos ao período pré-abate de 23 horas. Posteriormente, o grupo A foi subdividido em 12 carcaças cujo PSO foi realizado de forma correta e 12 carcaças cujo PSO foi realizado de forma errada. A mesma subdivisão foi realizada para o grupo B. Os microorganismos pesquisados foram enterobactérias, coliformes totais, *Escherichia coli* produtora de shiga toxina (STEC), enteropatogênica (EPEC) e enterohemorrágica (EHEC), aeróbios mesófilos, *Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes* por abordagens microbiológicas internacionais e biomoleculares. Não foi verificado efeito significativo ($p>0,05$) do período pré-abate nas contagens de coliformes totais, *E. coli*, enterobactérias e aeróbios mesófilos no couro ou carcaça, apesar de nas carcaças essa diferença ter sido de 93,4% para aeróbios mesófilos e enterobactérias no grupo de animais submetidos à 23h de repouso em relação à aqueles submetidos à 13h. Em relação à execução correta do PSO, também não foi verificado efeito significativo ($p>0,05$) das quantificações de indicadores, mas em relação à presença de enteropatógenos foi possível identificar, proporcionalmente, mais EPEC e STEC em carcaças submetidas ao PSO errado, assim como só foi possível identificar *Salmonella* spp. e EHEC em carcaças submetidas ao PSO errado. A execução do PSO da incisão do couro na região do peito do animal de forma correta reduziu, portanto, o risco microbiológico das carcaças para a presença de enteropatógenos e favoreceu o atendimento de padrões microbiológicos da carcaça.

PALAVRAS-CHAVE: Boas práticas de fabricação; Carne bovina; Qualidade sanitária; *Salmonella* spp.

ABSTRACT

The pre-slaughter period of cattle is intended for food restriction, water diet and replacement of muscle glycogen impaired by stress from transport from the properties to the slaughterhouses. During this period the animals are housed in observation pens. At this point, the delimitation of space leads to a greater contact between the animals, which can favor the contamination of the leather of the animals. After the fasting period, the animals can go to the sprinkling before slaughter. At this moment the water runs down the entire back of the animal, converging in the ventral region (chest and abdomen). This high contamination microbiology of pre-skinning leather can contaminate the carcass during its handling and, consequently, expose the consumer to microbiological hazards during meat consumption. To avoid this type of carcass contamination, it is established an operational health procedure (OHP) that determines the direction and the direction of the knife in the skin incision/scratching procedure and subsequent skinning. The objective of the present study, therefore, was to verify if the pre-slaughter waiting time and the knife direction in the leather scratching procedure can influence the microbiological quality of the carcass. Forty-eight animals from the same property were sampled, divided into group A with 24 animals submitted to the pre-slaughter period of 13 hours and group B submitted to the pre-slaughter period of 23 hours. Subsequently, group A was subdivided into 12 carcasses whose OHP was performed correctly and 12 carcasses whose OHP was performed incorrectly. The same subdivision was performed for group B. The microorganisms studied were enterobacteria, total coliforms, shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC), enteropathogenic (EPEC) and enterohemorrhagic (EHEC), mesophilic aerobes, *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* by international microbiological and biomolecular approaches. There was no significant effect ($p>0.05$) of the pre-slaughter period on the counts of total coliforms, *E. coli*, enterobacteria and mesophilic aerobes in the hide or carcass, although in carcasses this difference was 93.4% for mesophilic aerobics and enterobacteria in the group of animals submitted to 23h of rest in relation to those submitted to 13h. Regarding the correct execution of the OHP, there was also no significant effect ($p>0.05$) of the quantification of indicators, but in relation to the presence of enteropathogens, it was possible to proportionally identify more EPEC and STEC in carcasses submitted to the wrong OHP, just as it was only possible to identify *Salmonella* spp. and EHEC in carcasses subjected to the wrong PSO. The correct execution of the OHP of the leather incision in the breast region of the animal reduced the microbiological risk of the carcasses for the presence of enteropathogens and favored the fulfillment of microbiological standards of the carcass.

Keywords: Good manufacturing practices; Beef; Sanitary quality; *Salmonella* spp.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Genes e condições de amplificação das reações de PCR	27
Tabela 2. Quantificações de micro-organismos indicadores da qualidade no couro de bovinos submetidos à 13 e 23 horas de repouso pré-abate em um frigorífico de Araguaína, Tocantins, em 21 de julho de 2021	29
Tabela 3. Quantificações de micro-organismos indicadores da qualidade na região do peito da carcaça de 48 bovinos submetidos ao Procedimento Sanitário Operacional (PSO) correto (PSO – C) e errado (PSO – E) com 13 e 23 horas de repouso pré-abate	31
Tabela 4. Identificação e caracterização da patogenicidade de isolados sugestivos de <i>Salmonella</i> spp., <i>Listeria</i> spp. e <i>Escherichia coli</i> isolados de pools (quatro animais cada) do couro e de carcaças de animais submetidos ao procedimento operacional padronizado (PSO) realizado de forma correta (PSO-C) e errada (PSO-E) sob diferentes tempos de repouso pré-abate em um frigorífico de Araguaína, Tocantins	32

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Demonstração do procedimento sanitário operacional da incisão (riscagem) do couro de bovinos realizado de forma correta (A) e errada (B).9

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
APPCC	Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle
BEA	Bem-estar Animal
BPF	Boas práticas de fabricação
DFD	Escura, firme e seca (<i>Dark, firm and dry</i>)
DTA	Doença Transmitida por Alimento
EPEC	<i>Escherichia coli</i> enteropatogênica
EHEC	<i>Escherichia coli</i> enterohemorrágica
HACCP	Análise de Perigo e Ponto Crítico de Controle (<i>Hazard Analysis and Critical Control Points</i>)
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
mL	Mililitro
OMS	Organização Mundial da Saúde
PAC	Programa de Autocontrole
POP	Procedimento operacional padronizado
PPHO	Procedimento padrão de higiene operacional
PSE	Pálida, mole e exudativa (<i>Pale, soft and exudative</i>)
PSO	Procedimento Sanitário Operacional
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
RIISPOA	Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária dos Produtos de Origem Animal
SIF	Serviço de inspeção federal
STEC	<i>Escherichia coli</i> produtora de toxina shiga
SVO	Serviço Veterinário Oficial
VISA	Vigilância Sanitária

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
1.2	OBJETIVOS	14
1.2.1	Objetivo geral	14
1.2.2	Objetivos Específicos	14
2	CAPÍTULO 1- REVISÃO DE LITERATURA	15
3	CAPÍTULO 2 - ARTIGO A.....	20
4	CAPÍTULO 3 - CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	39
5	REFERÊNCIAS.....	39

1 INTRODUÇÃO

As DTAs são doenças transmitidas por alimentos. Em virtude da natureza dinâmica que envolve as DTAs estudos e pesquisas são úteis para lidar com variáveis desconhecidas. Diante disto, a Organização Mundial da Saúde (OMS) instituiu um grupo de trabalho específico para a construção de modelos computacionais que ajudam a entender melhor o impacto global das doenças (WHO, 2013). As DTAs são também uma preocupação da saúde pública, uma vez que despende recursos públicos para tratamento da população acometida.

Pouco se conhece da real magnitude do problema, devido à precariedade das informações disponíveis e baixo diagnóstico etiológico dessas enfermidades, fazendo-se necessária à estruturação de um Sistema de Vigilância Epidemiológica das DTAs, capaz, inclusive, de detectar a introdução de novos patógenos, como *Escherichia coli* O157:H7 (BRASIL, 2001a).

Sabe-se que a carne compõe a dieta da maioria dos brasileiros, e que a produção em larga escala, alterada pelo aumento da demanda deste alimento no mundo inteiro, é determinante para o aumento de DTAs (BRASIL, 2001a), prejudicando ou colocando em risco a saúde dos consumidores. A aplicação de programas de autocontrole, como boas práticas de fabricação, procedimento padrão de higiene operacional e análise de riscos e pontos críticos de controle, são implementados em abatedouro frigorífico para garantir a segurança e a qualidade dos produtos (DOS SANTOS, 2021).

A pesquisa da qualidade microbiológica da carcaça, couro e suas correlações com o período pré-abate e execução correta do procedimento sanitário operacional (PSO) de incisão/riscagem do couro pode ser uma ferramenta para treinamentos de Boas Práticas de Fabricação (BPF) já empregados na rotina de abatedouros; promoção de bem estar animal nas instalações frigoríficas; o contrato dos fretes de bovinos e organização das escalas de abate; e, tomadas de decisão para melhorar a qualidade sanitária da carne bovina, contribuindo diretamente com a saúde dos consumidores deste alimento.

Nesse contexto, considerando que a principal fonte de contaminação da carcaça por micro-organismos patogênicos e deteriorantes advém da microbiota do próprio animal e, que práticas higiênico-sanitárias executadas de forma errônea ao longo das etapas de produção podem influenciar de forma a corroborar com a propagação dessa

contaminação, é de suma importância o desenvolvimento de trabalhos de monitoramento dessas variáveis analisando o impacto das mesmas sob o produto final.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo geral

Verificar a influência do período de repouso pré-abate na contaminação microbiológica do couro de bovinos e a da execução correta do procedimento sanitário operacional (PSO) de incisão do couro na qualidade e segurança microbiológica da carcaça.

1.2.2 Objetivos Específicos

- Verificar se o período de repouso pré-abate de bovinos influencia na contaminação microbiológica do couro de bovinos;
- Verificar a eficiência do PSO correto na redução da contaminação microbiológica da carcaça em bovinos com repouso pré-abate de 13 e 23 horas;
- Quantificar micro-organismos indicadores da qualidade (enterobactérias, coliformes totais, *Escherichia coli* e aeróbios mesófilos) em couro e carcaça submetidas a diferentes tempos de repouso pré-abate e submetidas ao PSO de riscagem do couro correto e errado;
- Isolar e identificar por métodos microbiológicos e biomoleculares *Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes* em couro e carcaça submetidas a diferentes tempos de repouso pré-abate e submetidas ao PSO de riscagem do couro correto e errado; e,
- Identificar patótipos de *E. coli* patogênica (EPEC, STEC e EHEC) em couro e carcaça bovina submetidas a diferentes tempos de repouso pré-abate e submetidas ao PSO de riscagem do couro correto e errado.

2 CAPITULO I - REVISÃO DE LITERATURA

2.1) Bovinocultura de corte no Brasil e no Tocantins

A produção de carne bovina tem relevante importância na economia do país, sendo o Brasil o segundo maior produtor de carne bovina no mundo, atrás apenas dos Estados Unidos (USDA, 2021).

A quantidade de bovinos abatidos no primeiro trimestre de 2021 no Brasil, somam 6.560.963 de cabeças, sendo o Tocantins responsável pelo abate de 213.177 cabeças no período, ficando atrás somente dos estados do Pará e Rondônia na região Norte do país (IBGE, 2021).

Segundo a Associação Brasileira de Indústrias Exportadoras de Carne (ABIEC) o Brasil exportou 1.433.304 toneladas de carne bovina *in natura* em 2021, sendo o Tocantins responsável por 54.074 toneladas. O Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA, 2021) faz uma previsão de que o Brasil em 2030 ocupará a primeira posição na exportação de carne bovina, com 29% das exportações totais. Os grandes mercados para a carne bovina são representados por China, Estados Unidos, Japão e Coreia do Sul. Segundo o USDA (2021), o Brasil deve aumentar as suas exportações de carne bovina em 48,5% até a próxima década.

2.2) Qualidade da carne

Em vista ao aumento da produção de carne bovina e exportações, a qualidade da carne se torna imprescindível para garantir o *shelf life* (vida de prateleira) durante a distribuição e comercialização deste alimento, além de manter os padrões organolépticos característicos do produto. A importância do *shelf life* está diretamente ligada à qualidade do produto, bem como à segurança do consumidor final (FURLANETTO et al., 2020).

Visando a qualidade do alimento são implantados programas de autocontrole para prevenir a exposição do produto a perigos. De acordo com Forsythe e Stephen (2013), um perigo é definido como um agente biológico, químico ou físico ou uma condição do alimento que possam produzir um efeito adverso à saúde do consumidor. Os perigos químicos estão relacionados à contaminação do produto por detergentes, sanitizantes, graxas, lubrificantes, inseticidas, antibióticos e fármacos utilizados na produção animal.

Os perigos físicos são vidros, metais, madeira, fio de cabelo e insetos. Os perigos biológicos são aqueles causados por fungos, parasitas, bactérias e vírus.

2.3) Contaminação microbiológica da carcaça de bovinos

Devido a forma de criação dos bovinos, a pele destes animais acaba se contaminado por micro-organismos. Entre os principais contaminantes do couro, estão as enterobactérias, entre elas a *Salmonella* spp. e *Escherichia coli*, provenientes do trato gastrointestinal (FRANCO; LANDGRAF, 2002). Durante as operações dentro do abatedouro frigorífico, por meio das mãos e instrumentos de trabalho dos funcionários estes micro-organismos podem ser levados à carcaça.

Uma das etapas do processamento que merece atenção pelo potencial de contaminação microbiológica da carcaça é a operação de esfolia, na qual se retira o couro da carcaça. Neste momento é maior a chance de contaminação da musculatura a partir de micro-organismos presentes na superfície do couro, parte externa do animal.

A carne bovina se degrada naturalmente por autólise e ação de micro-organismos, que usam como fonte de nutrientes proteínas e lipídios, tornando-os impróprios para o consumo (BANDEIRA, 2009). O nível de contaminação inicial faz com que o processamento se torne potencial para o desenvolvimento e multiplicação de micro-organismos patogênicos, inclusive, alterando o tempo de vida útil do alimento e a sua segurança para o consumo (BAPTISTA; VENÂNCIO, 2003).

2.4) Perigos microbiológicos da carne à saúde pública

A ingestão de carne contaminada pode acarretar em Doenças Transmitidas por Alimentos (DTAs), prejudicando a saúde pública. As principais DTAs possuem, como características comuns, curto período de incubação e um quadro clínico gastrointestinal manifestado por diarreia, náuseas, vômitos e dor abdominal, acompanhado ou não de febre. Normalmente, possuem curta duração, havendo recuperação total dos pacientes. Todavia, em indivíduos muito jovens ou idosos e debilitados essas doenças podem originar complicações graves, conduzindo-os à morte (OLIVEIRA et al., 2010).

Durante a manipulação da carne, nas operações de rotina, pode ocorrer contaminações por micro-organismo tanto indicadores de qualidade quanto patogênicos. A Instrução Normativa 60, de 20 de dezembro de 2018 (BRASIL, 2018), estabelece o controle microbiológico em carcaça de bovinos em abatedouros frigoríficos, registrados no Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal (DIPOA), com objetivo de

avaliar a higiene do processo e reduzir a prevalência de agentes patogênicos. Os micro-organismos avaliados são: Enterobacteriaceae, *Salmonella* spp. e *Escherichia coli* produtora de Shiga toxina, denominada de STEC.

A carne é um alimento rico em proteínas e lipídios, sendo uma fonte de energia e nutrientes ideal ao crescimento da maioria das bactérias (FRANCO; LANDGRAF, 2002). Segundo a Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) n° 12 de 2001 (BRASIL, 2001) da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), atualizada pela Instrução Normativa n° 60 de 2019 (BRASIL, 2019), a maioria dos micro-organismos, patogênicos ou não, causam deterioração em carnes refrigeradas embaladas à vácuo, por serem mesófilos com características psicrotróficas e anaeróbias facultativas.

A contagem total de mesófilos em placas é o método mais usado como indicador geral de populações bacterianas em alimentos, e é utilizado para obter informações gerais sobre a qualidade de produtos, condições de processamento, manipulação e vida de prateleira (SILVA et al., 2012), incluindo todos os patógenos humanos. Em alimentos refrigerados, os psicrotróficos apresentam importância tão relevante quanto mesófilos para representatividade da contaminação total, além de patógenos como *Listeria* spp. e *Yersinia enterocolitica* (FRANCO; LANDGRAF, 2002).

Entre esses micro-organismos totais, estão aqueles que são relacionados aos processos de deterioração do alimento (sacarolíticos, proteolíticos e lipolíticos), intoxicação, infecção e toxinfecção alimentar, podendo levar a problemas de saúde pública (FRANCO; LANDGRAF, 2002).

2.4.1 – Micro-organismos indicadores: enterobactérias, coliformes totais, *Escherichia coli* e aeróbios mesófilos

Micro-organismos indicadores são comumente utilizados na avaliação da qualidade microbiológica dos alimentos no que tange a vida de prateleira e a segurança alimentar indicando a presença de patógenos alimentares e a origem das contaminações (SOUZA, 2012).

Os micro-organismos indicadores são grupos que, quando presentes em um alimento, podem fornecer informações sobre a ocorrência de contaminação de origem fecal, ambiental, da manipulação e sobre a provável presença de patógenos ou sobre a deterioração potencial do alimento, além de poderem indicar condições sanitárias inadequadas durante o processamento, produção ou armazenamento (FRANCO; LANDGRAF, 2002).

Os micro-organismos denominados coliformes são bastonetes Gram-negativos, utilizados como indicadores, que habitam naturalmente o trato intestinal de homens e animais. São pertencentes à família Enterobacteriaceae, incluindo muitos gêneros e espécies, dos quais se destaca a *Escherichia coli*. Dividem-se em coliformes totais e termotolerantes, dependendo de seu habitat específico e condições de multiplicação (SOUZA, 2006).

A contagem de aeróbios mesófilos indica a contaminação total, que, quando alta, poderá estar incluindo patógenos e/ou deteriorantes. A importância da detecção desses micro-organismos deve-se à característica de também serem indicadores de qualidade sanitária, de modo que se forem encontrados em grande quantidade representam insalubridade, pois a maioria dos micro-organismos patogênicos são mesófilos (se desenvolvem em temperaturas entre 20°C e 45°C) e quando presentes, deve se ficar atento pela possibilidade de multiplicação nos alimentos mal conservados e/ou preparados inadequadamente, representando assim riscos para a saúde (FRANCO, 1996) e potencial baixa vida útil.

Os alimentos envolvidos em surtos e em caso de infecção por *E. coli* são na maioria de origem animal, particularmente bovina. A contaminação da carcaça bovina pode ocorrer durante o abate. O trato gastrointestinal dos bovinos funciona como um reservatório deste micro-organismo, principalmente de estirpes patogênicas. A *E. coli* predomina na microbiota anaeróbica facultativa do trato gastrointestinal dos humanos e dos animais de sangue quente, como os bovinos (FORSYTHE, 2002).

2.4.2 Micro-organismos patogênicos: *Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes*

A *Salmonella* spp. é eliminada em grande número nas fezes, contaminando o solo e a água. A sobrevivência no meio ambiente pode ser muito longa, em particular na matéria orgânica. Pode permanecer viável no material fecal por longo período (anos), particularmente em fezes secas, podendo resistir mais de 30 meses no estrume bovino, 280 dias no solo cultivado e 120 dias na pastagem (BRASIL, 2011).

Considerando que a principal via de transmissão de *Salmonella* spp. está na cadeia alimentar, sua presença em animais, criados com objetivo comercial, aponta esse micro-organismo como o mais incidente e relevante agente etiológico de enteroinfecções. Isso ocasiona perdas de milhões de dólares para a indústria, particularmente de bovinos, aves e suínos (BRASIL, 2011).

A contaminação dos alimentos por *Listeria monocytogenes* pode ser tanto de natureza ambiental, considerando-se os reservatórios naturais do agente, quanto proveniente das próprias instalações agroindustriais. Nestas instalações, em particular, a bactéria devido à elevada capacidade de resistência no solo, piso, ralos, superfícies, água e alimentos, multiplica-se com relativa facilidade, mesmo sob condições adversas, como na refrigeração (GERMANO; GERMANO, 2008). Algo que traz preocupação para indústria de alimentos é justamente a capacidade de formar biofilmes e a resistência do micro-organismo a diversas situações descritas anteriormente, inclusive a resistência a desinfetantes e sanitizantes comumente empregados nas instalações industriais (RODRIGUES et al., 2017).

Mesmo sendo pouco frequente entre as DTAs, a listeriose deve ser considerada uma doença grave devido a patogenicidade do agente relacionada aos seus mecanismos de virulência, podendo causar meningites bacterianas e abortos (CORTEZ et al., 2017).

2.5) Gestão da qualidade de frigoríficos

Gestão da qualidade é um conjunto de estratégias e ações que as empresas adotam de forma coordenada e sistematizada com o objetivo de melhorar de forma contínua seus produtos e processos. É interessante ressaltar que essa gestão não se concentra apenas na parte interna da empresa, mas se estende a toda cadeia produtiva, envolvendo fornecedores, parceiros e distribuidores (LOVATTI, 2004).

A produção de boas mercadorias depende da utilização de matérias-primas de qualidade, sendo necessário um contato próximo com seus fornecedores. Além disso, produzir com qualidade não é responsabilidade apenas do setor de produção ou de qualidade, é necessário que todos os colaboradores se comprometam em entregar o produto da melhor forma. Isso é gestão da qualidade total, que utiliza diversas ferramentas para monitorar, prevenir a ocorrência de perigos e corrigir desvios da qualidade.

2.5.1 Ferramentas de gestão da qualidade

O modo mais eficiente de se reduzir a contaminação e o desenvolvimento microbiano em produtos cárneos é o estabelecimento de programas preventivos de controle de qualidade como Boas Práticas de Fabricação (BPF) e Análise de Perigo e Ponto Crítico de Controle (APPCC), que podem ser validados e verificados pela pesquisa de micro-organismos indicadores de higiene, que além de remeterem às práticas

adequadas de processamento, também sugerem a presença de patógenos e micro-organismos causadores de deterioração (JAY; LOESSNER; GOLDEN, 2005).

2.5.1.1 PPHO – Procedimento Padrão de Higiene Operacional

Define as operações de higienização de toda indústria, incluindo as ferramentas de trabalho antes de iniciar e durante a produção. A exemplo, no caso específico das facas, o processo de higienização consiste em lavar com água abundante para remover o excesso de sangue e sebo e posteriormente inserir no esterilizador, com água a temperatura mínima de 82,2 °C, por no mínimo 20 segundos.

2.5.1.2 APPCC – Análise de Perigo e Ponto Crítico de Controle

É um sistema de análise que identifica perigos específicos e medidas preventivas para seu controle, monitoramento, correção, verificação e registro, garantindo a rastreabilidade e processamento contínuo com qualidade. Baseia-se na prevenção, eliminação ou redução dos perigos, de natureza química, física ou biológica em todas as etapas da cadeia produtiva (BRASIL, 1998).

Em todo estabelecimento processador de alimentos são estabelecidos ao menos três pontos críticos de controle (PCC), cada um voltado para o monitoramento de um determinado perigo. Na indústria de carnes, o PCC para perigos químicos é realizado na plataforma e análise documental dos animais na ocasião do seu recebimento; o PCC biológico é realizado na etapa de evisceração, quando a carcaça pode se contaminar por conteúdo fecal ou bile; e, o PCC físico pode ser executado na detecção de metais no produto final da desossa, por exemplo (MORAIS; CASTRO; FARO, 2006).

2.5.1.3 PSO – Procedimento Sanitário Operacional

Determina como cada operação deve ser realizada, passo a passo, a fim de garantir a qualidade do produto. O tecido muscular é isento de micro-organismos imediatamente após o abate, podendo posteriormente ser contaminado. Essa contaminação durante uma etapa ou processo operacional é minimizada utilizando os PSOs (AZEREDO et al., 2012).

2.5.1.3.1 PSO da incisão do couro na região do peito

Esse PSO é de grande relevância para a qualidade sanitária da carne. Trata-se de uma região onde as águas do banho de aspersão convergem e drenam a sujidade do couro, com chances de apresentarem alta carga microbiana. No momento da incisão do couro na

linha alba do animal com a lâmina da faca, previamente higienizada, deve ser direcionada para fora - sentido musculatura para couro - a fim de não levar a contaminação do couro para dentro da musculatura, conforme demonstrado na Figura 1.



Figura 1. Demonstração do procedimento sanitário operacional da incisão (riscagem) do couro de bovinos realizado de forma correta (A) e errada (B)

Fonte: Arquivo pessoal

2.5.1.3.2 Outros PSOs utilizados para garantia da qualidade

No programa de autocontrole, diversos PSOs determinam que o direcionamento da faca seja sempre no sentido de prevenir a contaminação da carcaça, contemplam também a troca das facas a cada operação evitando que a contaminação gerada em uma carcaça não seja levada a seguinte e que a faca ficará o tempo necessário no esterilizador, 20 segundos, até a próxima etapa.

2.5.1.4 BEA – Bem-estar Animal

É o programa desenvolvido, implantado, mantido, monitorado e verificado, contendo registros sistematizados e auditáveis que contemplem todas as etapas de manejo pré-abate e abate previstos na Portaria nº 365, de 16 de julho de 2021, visando a proteção e o bem-estar dos animais (BRASIL, 2021).

Nesse programa, de realização compulsória pelo estabelecimento processador de carnes, são previstas diversas ações para promoção de BEA. Entre elas, durante o repouso pré-abate, a aspersão de água para conforto térmico, fundamental em regiões mais quentes

do Brasil, como no estado do Tocantins, pode colaborar para a eliminação de sujidades da superfície do couro.

2.6) Período pré-abate de bovinos

O período pré-abate é de suma importância para determinar a qualidade da carne, além de ser uma obrigação dos abatedouros, conforme determinado pelo Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária dos Produtos de Origem Animal (RIISPOA), é proibido o abate de animais que não tenham permanecido em descanso, jejum e dieta hídrica (BRASIL, 2017). Neste momento que os animais permanecerão em repouso, não poderão ser submetidos a estresses desnecessários. Este período será crucial para a reposição do glicogênio muscular.

O pH da carne será determinado pela quantidade de ácido lático produzido a partir do glicogênio durante a glicólise anaeróbica no músculo *post mortem* e isso vai variar se o glicogênio for consumido pela fadiga, inanição, pelo medo do animal antes do abate ou não (LAWRIE, 2005).

Durante a transformação do músculo em carne, a depender do período pré-abate, poderão ocorrer defeitos tecnológicos como a carne PSE (pálida, flácida e exsudativa) e DFD (seca, firme e escura), uma relacionada com estresse agudo, e outra ao estresse crônico, sendo sua utilização prejudicada e até mesmo comprometida para consumo *in natura*, direcionada-as para produção de carnes processadas (SILVA, 2017).

2.7) Inspeção sanitária de frigoríficos de bovinos

No Brasil, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) faz a fiscalização ao nível federal, inspecionando e fiscalizando a carne bovina sob o ponto de vista industrial e sanitário, inspeção *ante* e *post mortem* dos animais, recepção, manipulação, beneficiamento, industrialização, fracionamento, conservação, acondicionamento, embalagem, rotulagem, armazenamento, expedição e o trânsito de quaisquer matérias-primas e produtos de origem animal (BRASIL, 2017).

2.7.1 Auditorias sanitárias pelo serviço veterinário oficial (SVO)

Os abatedouros frigoríficos registrados no MAPA têm por obrigação a implantação de programas de autocontrole, incluindo APPCC e BEA, contemplando

todos os possíveis pontos de contaminação de produtos, assim como as ações corretivas e preventivas a serem adotadas em caso de desvio. A efetividade da implantação dos autocontroles é avaliada por verificações oficiais pelo Serviço de Inspeção Federal (SIF) do MAPA, garantindo a qualidade e segurança dos produtos formalmente produzidos para serem comercializados, a partir do qual passam pela qualidade exigida pela ANVISA pelos serviços de vigilância sanitária.

3 CAPÍTULO II – ARTIGO A

(Submetido em 23 de novembro de 2021 na Semina. Ciências Agrárias – QUALIS B1 – Medicina Veterinária)

Impacto do período pré-abate na contaminação do couro de bovinos e do procedimento sanitário operacional da esfolagem na qualidade e segurança microbiológica da carcaça

Impact the pre-slaughter period on the contamination of bovine leather and the operational sanitary procedure of skinning on the quality and microbiological safety of the carcass

Roberta Sagawa¹; Yron Moreira Rodrigues¹, Aelton Pereira de Sousa², Monike da Silva Oliveira³, Cristiane Alves Nascimento⁴, José Carlos Ribeiro Júnior¹

Highlights

- Redução de enterobactérias > 90% em animais submetidos à 23 h de repouso
- Alta recuperação de STEC e *Salmonella* spp. Em couro de bovinos
- PSO da esfolagem minimiza enteropatógenos na carcaça
- PSO da esfolagem colabora para o atendimento dos padrões microbiológicos

RESUMO

Procedimentos sanitários são fundamentais no processamento de abate de bovinos para minimizar perigos microbiológicos ao consumo da carne. Esse trabalho teve por objetivo verificar a influência do período pré-abate e da execução correta do procedimento sanitário operacional (PSO) da esfolagem na região do peito nas contagens de microrganismos indicadores e na ocorrência de enteropatógenos no couro e carcaça de bovinos. Foram avaliados 48 animais, divididos em 12 pools, dos quais metade foi mantido em 13 e os demais em 23 horas de jejum pré-abate. Foram avaliados indicadores

¹ Programa de Pós-Graduação em Sanidade Animal e Saúde Pública nos Trópicos, Universidade Federal do Norte do Tocantins, Araguaína, TO, Brasil.

² Graduando em Medicina Veterinária, Universidade Federal do Norte do Tocantins, Araguaína, TO, Brasil.

³ Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical e Saúde Pública, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO, Brasil.

⁴ Laboratório de Microbiologia de Alimentos (LabMA), Universidade Federal do Norte do Tocantins, Araguaína, TO, Brasil.

microbiológicos e pesquisados *Salmonella* spp., *Listeria* spp. e *Escherichia coli* produtora de toxina shiga (STEC), enteropatogênica (EPEC) e enterohemorrágica (EHEC), em amostragens superficiais de couro e carcaça nos quais foi executado o PSO da esfola do peito de forma correta e não conforme. Não foi verificado efeito significativo ($p>0,05$) do período pré-abate nas contagens de coliformes totais, *E. coli*, enterobactérias e aeróbios mesófilos no couro ou carcaça, apesar de nas carcaças essa diferença ter sido de 93,4% para aeróbios mesófilos e enterobactérias no grupo de animais submetidos à 23h de repouso em relação à aqueles submetidos à 13h. Em relação à execução correta do PSO da esfola, também não foi verificado efeito significativo ($p>0,05$) das quantificações de indicadores, mas em relação à presença de enteropatógenos foi possível identificar, proporcionalmente, mais EPEC, STEC e EHEC em carcaças submetidas ao PSO errado, assim como só foi possível identificar *Salmonella* spp. Em carcaças submetidas ao PSO errado. A execução do PSO da incisão do couro na região do peito do animal de forma correta reduziu, portanto, o risco microbiológico das carcaças para a presença de enteropatógenos e favoreceu o atendimento de padrões microbiológicos da carcaça.

Palavras-chave: *Escherichia coli* diarreiogênica, PSO, qualidade microbiológica, *Salmonella* spp.,

ABSTRACT

Sanitary procedures are essential in cattle slaughter processing to minimize microbiological hazards to meat consumption. This study aimed to verify the influence of the pre-slaughter period and the correct execution of the operational sanitary procedure (OSP) of skinning in the breast region on the counts of indicator microorganisms and the occurrence of enteropathogens in the hide and carcass of cattle. Forty-eight animals were evaluated, divided into 12 clusters, half of which were kept in 13 and the others in 23 hours of pre-slaughter jujum. Microbiological indicators were evaluated and researched *Salmonella* spp., Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC), enteropathogenic (EPEC) and enterohemorrhagic (EHEC), in addition to *Listeria* spp., in superficial samples of leather and carcass in which the OSP of skinning was performed of the chest in a correct and non-conforming way. There was no significant effect ($p>0.05$) of the pre-slaughter period on the counts of total coliforms, *E. coli*, Enterobacteriaceae and mesophilic aerobics in the hide or carcass, although in the carcasses this difference was 93.4% for mesophilic aerobics and Enterobacteriaceae in the group of animals submitted to 23h of rest in relation to those submitted to 13h. Regarding the correct execution of the skinning OSP, there was also no significant effect ($p>0.05$) of the indicator quantifications, but in relation to the presence of enteropathogens it was possible to proportionally identify more EPEC, STEC and EHEC in submitted carcasses to the wrong OSP, as it was possible to identify *Salmonella* spp. in carcasses subjected to the wrong OSP. The execution of the OSP of the leather incision in the chest region of the animal correctly reduced, therefore, the microbiological risk of the carcasses for the presence of enteropathogens and favored the fulfillment of microbiological standards of the carcass.

Keywords: Diarrheagenic *Escherichia coli*, microbiological quality, OSP, *Salmonella* spp.

Introdução

Garantir a qualidade e segurança microbiológica de produtos de origem animal na indústria de proteína animal é fundamental para minimizar o risco à saúde dos consumidores, além de permitir a biossegurança da cadeia produtiva incrementando seu potencial econômico pelo avanço de barreiras internacionais de qualidade.

O abate e demais etapas da produção de carne bovina são intensamente controlados, assim como o de todas as espécies de animais de açougue. Diferentemente de outros produtos de origem animal, como o leite, a carne *in natura* não é submetida a nenhum tratamento que elimine os perigos microbiológicos e/ou parasitários que podem causar doenças transmitidas por alimentos (DTA) (ARQUIAS; SEIXAS, 2021).

Dessa forma, ferramentas de gestão da qualidade são continuamente desenvolvidas e fiscalizadas nas indústrias cárnicas permitindo o maior controle e monitoramento de todo o processo produtivo (KOUTSOUMANIS; SOFOS, 2004). Além de diversos programas, os procedimentos sanitários operacionais (PSO) tem como objetivo limitar ou controlar a contaminação potencialmente intrínseca a uma determinada etapa ou processo durante o fluxograma de produção (COSTA, 2018).

No abate de bovinos os animais são mantidos em repouso, jejum e dieta hídrica (BRASIL, 2017) no estabelecimento, sobretudo, para minimizar a ocorrência de carne escura, firme e seca (*dark, firm e dry* – DFD) em associação com práticas de bem-estar animal que influenciam diretamente na qualidade da carne (ADZITEY; HUDA, 2011; CARRASCO-GARCÍA et al., 2020). Durante esse período, que pode variar de 8 a 23 horas, pouco se sabe se há interferência do tempo na contaminação do couro e carcaça. Como os animais podem ser continuamente submetidos à aspersão de água para promoção de bem-estar animal (AHSAN et al., 2014), é esperado que quanto maior o período de espera pré-abate, menor seria a contaminação do couro pela remoção das sujidades pela aspersão de água, além do banho de aspersão regular com água hipoclorada antes do ingresso do animal na sala de abate.

Essa água no dorso do animal, no entanto, pode escorrer até a região da linha alba na porção ventral do animal, local onde é realizada a incisão do couro previamente à esfola da carcaça. Nesse momento, portanto, é fundamental que o PSO da esfola seja realizado de forma correta, consistindo no direcionamento do fio da faca utilizada para incisão do couro da parte interior para a exterior da carcaça, evitando que a contaminação externa do couro do animal entre em contato com a carcaça.

O presente trabalho teve por objetivo verificar a influência do período pré-abate na contaminação do couro de bovinos e o impacto da execução correta do procedimento sanitário operacional da esfolação da região do peito na qualidade e segurança microbiológica da carcaça de bovinos, caracterizando patógenos de interesse para a saúde pública e para o controle da qualidade de carne bovina.

Material e Métodos

Foram avaliados 48 animais durante o período de pré e durante o abate em um frigorífico sob inspeção federal em Araguaína, Tocantins, em 21 de julho de 2020. Os animais eram originários de uma mesma propriedade e foram divididos em dois lotes de 24 animais cada (lote A e B), que ficaram em currais de espera distintos, desde o momento do desembarque até o momento do abate, mantidos nas mesmas condições de repouso, jejum e dieta hídrica, conforme o Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária dos Produtos de Origem Animal (RIISPOA) (BRASIL, 2017). Os lotes A e B foram mantidos em repouso pré-abate por 13 e 23 horas, respectivamente. Durante esse período, os animais foram continuamente submetidos à aspersão de água para promoção de bem-estar animal considerando condições climáticas locais.

Todos os animais foram submetidos aos procedimentos regulares do estabelecimento: banho de aspersão em água hipoclorada a 50 ppm por 5 minutos antes do abate, insensibilização pelo método percussivo penetrativo, pendura em nória pelo membro posterior esquerdo, sangria por três minutos, esfolação e desarticulação da parte distal dos membros, oclusão do reto, serragem dos chifres e esfolação da região ventral até o momento de realização desse experimento.

Imediatamente antes da esfolação da região do peito de cada animal, foi realizada a amostragem superficial de $\approx 100 \text{ cm}^2$ do couro dessa região com o auxílio de esponja de celulose estéril (3M Microbiology, St. Paul, MN, USA) previamente hidratada com 10 mL de água peptonada tamponada (H_2O) (Acumedia, Baltimore, USA).

Cada um dos lotes A e B, com 24 animais cada, foram divididos em dois grupos de 12 animais. No primeiro grupo foi realizado o PSO da esfolação do couro de forma correta, com o fio da faca no sentido da parte interna para a externa da carcaça. No segundo grupo, o procedimento da incisão do couro foi feito da forma errada e que deve ser evitada durante as operações de abate, com o fio da faca no sentido da parte externa para a parte interna. Após a realização desse PSO de forma correta e errada, foi realizada a

amostragem individual da carcaça também com o auxílio de esponja hidratada e na mesma área onde foi realizada a incisão do couro.

As amostras foram mantidas sob refrigeração e encaminhadas ao Laboratório de Microbiologia de Alimentos (LabMA) da Universidade Federal do Norte do Tocantins, campus universitário de Araguaína, onde foram imediatamente analisadas.

As amostras de animais dos lotes A e B e seus subgrupos (PSO correto e errado) foram analisadas em *pools* de quatro animais cada, otimizando as análises microbiológicas. Dessa forma, do lote A foram analisados seis *pools* de amostras do couro de 24 animais com 13 horas de repouso pré-abate; três *pools* de quatro carcaças cada, no qual foi realizado o PSO correto; e, outros três *pools* de quatro carcaças no qual foi realizado o PSO de forma incorreta. O mesmo agrupamento em *pools* foi realizado para o lote B, com 23 horas de repouso pré-abate.

As esponjas 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%) peptonada (0,001%).

As contagens de aeróbios mesófilos, enterobactérias, coliformes totais (30°C) e *Escherichia coli* foram realizadas em Petrifilm AC, EB e EC, respectivamente, conforme as orientações do fabricante (3M Microbiology, St. Paul, MN, USA). Para análise dos resultados, as contagens foram convertidas em \log_{10} e foi utilizado o software *BioEstat* v. 5.0 (Stat Soft Inc., Tulsa, OK, USA) e o teste T de Student com $\alpha = 5\%$.

Uma alíquota de 1 mL de cada *pool* também foi inoculada em 10 mL de caldo EC, incubada a 45°C e posteriormente repicada em ágar eosina azul de metileno (EMB), conforme Oliveira et al. (2021), para aumentar a recuperação de isolados de *E. coli* para caracterização molecular. De cada *pool* foram recuperados ≈ 30 isolados sugestivos de *E. coli* que foram unidos com aqueles recuperados das placas de Petrifilm EC. Nesses isolados foram pesquisados os fatores de virulência *eaeA*, *stx1* e *stx2*, conforme Ribeiro Júnior et al. (2019), apresentados na Tabela 1, para confirmação de *E. coli* enteropatogênica (EPEC), produtora de toxina shiga (STEC) e enterohemorrágica (EHEC). A pesquisa dos genes *stx1* e *stx2* foi realizada em ensaio multiplex e o gene *eaeA* em ensaio uniplex, conforme a Tabela 1.

A pesquisa de *Salmonella* spp. foi realizada conforme a ISO 6579 (2005) e *Listeria* spp. conforme o método ISO 11290 (2004), ambos modificados. A partir do isolamento de cepas características em placas, os isolados foram recuperados em caldo

cérebro coração (BHI) e submetidos à extração de DNA (Ribeiro Júnior et al., 2016) e confirmados em PCR gênero-específica conforme os *primers* e condições de amplificação apresentadas na Tabela 1. As reações de PCR foram realizadas com volume final de 25 μ L 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>	GTGAAATTATCGCCACGTTCGG GCAA	284	94°C-1m 35x (94°C-1m, 64°C-30s, 72°C-30s)	Shanmugasa, Velayutham & Rajeswar (2011)
		TCATCGCACCGTCAAAGGAACC		72°C-7m	
<i>Listeria</i> spp.	<i>iap</i>	ATGAATATGAAAAAAGCAAC	1450 a	95°C-5m 40x (94°C-45s, 52°C-45s, 72°C-2m)	Chen & Knabel (2007)
		TTATACGCGACCGAAGCCAAC	1600	72°C-10m	
<i>Escherichia coli</i>	<i>eaeA</i>	GACCCGGCACAAGCATAAGC	384	94°C-3m 32x (92°-30s, 59°C-30s, 72°C-1m)	Paton & Paton (1998)
		CCACCTGCAGCAACAAGAGG		72°C-1m	
	<i>stx1</i>	ATAAATCGCCATTCGTTGACTAC	180	94°C-3m	32x (92°C-30s, 61°C-30s, 72°C- 1m)
		AGAACGCCCACTGAGATCATC			
<i>stx2</i>	GGCACTGTCTGAAACTGCTCC	255	72°C-1m		
	TCGCCAGTTATCTGACATTCTG				

Resultados e Discussão

Os resultados das contagens de micro-organismos indicadores da qualidade no couro dos 48 bovinos avaliados em 13 (24 animais) e 23h (24 animais) de repouso pré-abate estão apresentados na Tabela 2. Resultados semelhantes daqueles encontrados por Cevallos-Almeida et al. (2021) para aeróbios mesófilos e *E. coli*. Foi possível verificar que não houve efeito significativo do período de repouso na contaminação microbiológica do couro. Era esperado que, quanto maior fosse a permanência dos animais nos currais de espera, maior seria a contaminação pela maior intensidade de contato ou, ainda, o efeito da constante aspersão de água como um fator de bem-estar animal durante o repouso poderia influenciar nas menores contagens microbiológicas dos animais submetidos ao maior período de espera, o que também não foi observado pelo estudo de Cevallos-Almeida et al. (2021).

Conforme verificado nas elevadas contagens, micro-organismos Gram negativos como a *E. coli*, apresentam-se em elevadas contagens independente do período de repouso. Nesse contexto, a execução da etapa da esfolagem de forma correta corrobora, sobremaneira, para a redução da contaminação da carcaça por estirpes patogênicas de *E. coli* frequentemente relatadas em bovinos, em associação com a correta evisceração (KOUTSOUMANIS; SOFOS, 2004).

E. coli, quando presente em alimentos em geral, é um micro-organismo indicador da qualidade higiênico-sanitária e indica origem da contaminação direta ou indireta por fezes e, potencialmente, por outro enteropatógenos, além de muitas colônias dessa espécie apresentarem fatores de virulência, indicando também o risco microbiológico ao seu consumo (GOMES et al., 2016). Na tabela 3 é possível verificar que não foi possível estabelecer as contagens desses micro-organismos por limitações analíticas. Considerando a sua importância para a cadeia de alimentos, a Instrução Normativa nº60 de 2019, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (BRASIL, 2019), determina que a carne in natura de bovinos não pode apresentar contagens de *E. coli* superiores a 10^2 UFC/g.

Tabela 2. Quantificações de micro-organismos indicadores da qualidade no couro de bovinos submetidos à 13 e 23 horas de repouso pré-abate em um frigorífico de Araguaína, Tocantins, em 21 de julho de 2021.

Grupo	Variações*	Repouso**		p-valor
		13 h	23h	
Coliformes a 30°C (UFC/mL)	Máx.	2×10^6	2×10^5	0,19
	Min.	10^5	10^5	
	Média (DP)	$7,5 (\pm 8,5) \times 10^{5a}$	$1,5 (\pm 0,57) \times 10^{5a}$	
<i>Escherichia coli</i> (UFC/mL)	Máx.	2×10^6	2×10^5	0,2
	Min.	$<10^5$	$<10^5$	
	Média (DP)	$7,5 (\pm 8,5) \times 10^{5a}$	$1,2 (\pm 0,5) \times 10^{5a}$	
Aeróbios mesófilos (UFC/mL)	Máx.	6×10^7	$1,1 \times 10^8$	0,23
	Min.	3×10^6	$1,3 \times 10^7$	
	Média (DP)	$3,2 (\pm 1,9) \times 10^{7a}$	$4,2 (\pm 3,7) \times 10^{7a}$	
Enterobactérias (UFC/mL)	Máx.	$1,3 \times 10^6$	$1,5 \times 10^5$	0,13
	Min.	4×10^4	2×10^4	
	Média (DP)	$3,5 (\pm 5,1) \times 10^{5a}$	$9,1 (\pm 5,6) \times 10^{4a}$	

* Máx. = máximo; Mín. = mínimo; DP = desvio padrão

**Valores na mesma linha seguidos da mesma letra não diferem entre si ao nível de 5% de significância.

O efeito da execução do PSO correto em relação ao errado dependente e independente em cada grupo de animais submetidos a diferentes períodos de repouso pode ser observado na Tabela 3. Para coliformes totais e *E. coli* não foi possível verificar o impacto da execução correta do PSO uma vez que não foram observados resultados superiores ao limite de detecção utilizado (10^3 UFC/mL) em nenhuma das avaliações.

Tanto para aeróbios mesófilos quanto para enterobactérias não foi observada diferença significativa em relação à execução correta do PSO da esfolia, apesar de que para os dois grupos de micro-organismos foram observadas contagens $\approx 20\%$ maiores dos grupos de animais no qual o PSO foi realizado de forma errada em relação aos grupos no qual o procedimento foi realizado em conformidade.

Também foi observado que o grupo de animais submetidos à 23h de repouso pré-abate apresentou menores contagens nos dois grupos avaliados, conforme Tabela 3. Especialmente em relação às contagens de aeróbios mesófilos, foi possível observar que dos *pools* de animais submetidos à 23h de repouso, a redução média das contagens em relação aos grupos submetidos à 13h foi de 93,4% tanto para o PSO-C quanto para o PSO-E. Apesar dessa redução expressiva nas contagens não ter representado diferença significativa, é possível inferir que o maior período de repouso dos animais pode produzir carcaças com menores contagens microbiológicas, baseado do percentual de redução

anteriormente relatado, potencialmente relacionado com o maior período de aspersão de água nos currais pré-abate e, portanto, redução de sujidades do couro.

Em concordância, as contagens de enterobactérias nas carcaças dos bovinos submetidos à 23h de repouso foram inferiores ao limite de detecção de 10^3 UFC/mL, enquanto para o grupo dos animais submetidos à 13h de repouso contagens já foram possíveis de ser detectadas.

A legislação brasileira que regulamenta os critérios microbiológicos de carne no comércio (BRASIL, 2019), regulamenta a contagem máxima de aeróbios mesófilos de 10^6 UFC/g no seu plano amostral. Pools de carcaças com resultados superiores ao estabelecido foram observados somente no grupo de animais submetidos à 13h de repouso pré-abate e quando o PSO da esfolia do peito foi executado de forma incorreta.

Tabela 3. Quantificações de micro-organismos indicadores da qualidade na região do peito da carcaça de 48 bovinos submetidos ao Procedimento Sanitário Operacional (PSO) correto (PSO – C) e errado (PSO – E) com 13 e 23 horas de repouso pré-abate.

Grupo	Variações*	Repouso**				PSO independente do repouso	
		13h***		23h***		PSO - C	PSO - E
		PSO - C	PSO-E	PSO - C	PSO - E		
Aeróbios	Máx.	2×10^5	$1,8 \times 10^6$	$7,5 \times 10^3$	$9,5 \times 10^3$	2×10^5	$1,8 \times 10^6$
Mesófilos	Min.	$7,8 \times 10^3$	$1,3 \times 10^4$	$2,2 \times 10^3$	$4,4 \times 10^3$	$2,2 \times 10^3$	$4,4 \times 10^3$
(UFC/mL)	Média (DP)	$7,8 (10) \times 10^{4a}$	$10^5 (8,4 \times 10^4)^a$	$5,1 (2) \times 10^{3a}$	$6,6 (2,6) \times 10^{3a}$	$4,1 (7,7) \times 10^{4a}$	$5,5 (7,5) \times 10^{4a}$
Enterobactérias	Máx.	10^3	3×10^3	$<10^3$	$<10^3$	10^3	3×10^3
	Min.	10^3	$<10^3$	$<10^3$	$<10^3$	$<10^3$	$<10^3$
	Média (DP)	$10^3 (10^3)$	$1,3 (1,7) \times 10^{3a}$	$<10^3$	$<10^3$	10^{3a}	$1,2 (1) \times 10^{3a}$

* Máx. = máximo; Mín. = mínimo; DP = desvio padrão

**Valores na mesma linha seguidos de letras diferentes diferem entre si ao nível de 5% de significância.

*** PSO-C = Procedimento operacional padronizado executado de forma correta; PSO-E = Procedimento operacional padronizado executado de forma errada

Tabela 4. Identificação e caracterização da patogenicidade de isolados sugestivos de *Salmonella* spp., *Listeria* spp. e *Escherichia coli* (enteropatogênica – EPEC, produtora de toxina shiga – STEC, enterohemorrágica – EHEC) isolados de *pools* (quatro animais cada) do couro e de carcaças de animais submetidos ao procedimento operacional padronizado (PSO) realizado de forma correta (PSO-C) e errada (PSO-E) sob diferentes tempos de repouso pré-abate em um frigorífico de Araguaína, Tocantins.

<i>Pool</i>	Amostra	Tempo de repouso	<i>Salmonella</i> spp.		<i>Listeria</i> spp.			<i>Escherichia coli</i>							
								Total recuperados	EPEC		STEC			EHEC	
									<i>eaeA</i>	<i>stx1</i>	<i>stx2</i>	<i>stx1</i> e 2	Total		
n	<i>invA</i>	%	n	<i>iap</i>	%	n	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)			
1 a 6	Couro	13 h	119	81	68,1	28	0	0	180	3 (1,6)	11 (6,1)	6	0	17 (9,4)	0
7 a 9	PSO - C	13 h	38	0	0	0	0	0	91	7 (7,7)	1 (1,1)	2 (2,2)	0	3 (3,3)	0
1– a 12	PSO - E	13h	41	0	0	3	0	0	90	2 (2,2)	48 (53,3)	0	0	48 (53,3)	1 (1,1)
13 a 18	Couro	23 h	121	17	14	24	0	0	180	3 (1,6)	24 (13,3)	10 (5,5)	2 (1,1)	36 (20)	0
–9 a 21	PSO - C	23h	29	0	0	0	0	0	90	2 (2,2)	1 (1,1)	0	0	1 (1,1)	0
–2 a 24	PSO - E	23h	39	1	2,6	5	0	0	90	0	0	1 (1,1)	0	1 (1,1)	0

A confirmação de *Salmonella* spp. só foi verificada em isolados sugestivos do couro e de carcaças com execução errada do PSO da esfola, conforme pode ser observado na Tabela 4. O isolamento de *Salmonella* spp. em carne não pode ser positivo de acordo com a legislação sanitária do Ministério da Saúde (BRASIL, 2019). Sabe-se que esse micro-organismo pode estar presente na carcaça, reto, pele, piso, mãos dos manipuladores e água dos abatedouros de bovinos (Shaibu et al., 2021). Além disso, o estudo de Calle et al. (2021) verificou que a probabilidade estimada de detecção de *Salmonella* em carcaças foi quase seis vezes maior na estação seca, período no qual o presente trabalho foi executado, em relação à estação chuvosa.

Apesar de apenas um isolado (2,6%) ter sido confirmado entre os sugestivos do *pool* nº23, a presença de *Salmonella* spp. é uma análise qualitativa e, dessa forma, independentemente da quantidade isolada, sua presença já indica risco para o consumo. Esse mesmo risco, presente em grande quantidade no couro dos bovinos, não foi observado quando o PSO da esfola foi realizado de forma correta, demonstrando que sua execução correta pode influenciar positivamente na segurança microbiológica da carcaça e na conformidade da carne, durante o processamento do abate, com a legislação sanitária (BRASIL, 2019).

O recente estudo de Gutema et al. (2021) demonstrou que dos 8,6% das carcaças bovinas que estavam contaminadas por *Salmonella* spp., poucas eram da mesma linhagem daquela isolado em suabes retais daqueles animais. Os autores concluem que, majoritariamente, a contaminação de carcaças por esse micro-organismo está mais relacionada à contaminação cruzada do que em relação a contaminação de conteúdo fecal do próprio animal. Isso implica diretamente na importância da qualidade de execução dos procedimentos relacionados à manipulação da carcaça dentro da planta de abate, demonstrada pelo presente trabalho.

A Instrução Normativa nº 60 de 2018 (BRASIL, 2018) do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), diferentemente da legislação que regulamenta a qualidade microbiológica da carne no comércio (BRASIL, 2019), tolera a presença de *Salmonella* spp. em duas amostragens (c) do total de 50 (n) a serem realizadas por ciclo anual para o tamanho de estabelecimento onde as amostras foram coletadas. Dessa forma, o isolamento desse micro-organismo nessa condição experimental não compromete a conformidade das carcaças no plano amostral da IN60/2018.

O mesmo efeito da execução do PSO ser verificado quanto à caracterização molecular dos isolados sugestivos de *E. coli* após o período de enriquecimento em caldo EC. Apesar de vários *pools* não terem apresentado contagens desse micro-organismos, sua recuperação foi possível após a etapa de enriquecimento, podendo-se caracterizá-los de forma significativa e com potencial de isolamentos clonais, como nos *pools* 10 a 12 no qual 53,3% dos isolados foi

verificada a presença do gene *stx1*. Apesar disso, foi possível verificar diferentes estirpes de *E. coli* diarreiogênica contaminando o couro e carcaça, sobretudo, nos *pools* de carcaça no qual foi realizado o PSO errado, conforme Tabela 4. No *pool* de carcaças nº10, nos quais foi realizado o PSO errado, foi possível caracterizar o único isolado de EHEC (gene *eaeA* e *stx1*) (SILVA; SILVA, 2005). Essa caracterização de *E. coli* diarreiogênica com maior frequência nas carcaças submetidas ao PSO errado, assim como o isolamento de *Salmonella* spp. nessa condição, reafirma o PSO correto como essencial para melhoria da segurança microbiológica da carcaça.

Isoladamente em relação ao período de repouso pré-abate, foi possível observar que nos *pools* 1 a 6 (9,4%) a frequência de positividade para STEC foi menor em relação aos *pools* 13 a 18 (20%), conforme a Tabela 4, no entanto, tanto sob 13 quanto por 23h de repouso pré-abate todos os *pools* apresentaram ao menos um isolado positivo para STEC.

Micro-organismos com potencial de produção de toxina shiga também devem ser monitorados em carcaças de bovinos e suínos de acordo com a IN60/18 (BRASIL, 2018), uma vez que são indicadores da qualidade e segurança microbiológica das carcaças e por estirpes de STEC serem comumente isoladas de bovinos e sua identificação em carnes determina sua destinação para produtos tratados termicamente (BRASIL, 2018). Tanto nos *pools* de carcaças no qual foi realizado o PSO correto quanto nas carcaças nas quais o procedimento foi realizado de forma errada, foi possível caracterizar STEC após o enriquecimento, apesar de apenas 1 isolado ter sido identificado positivo para o gene *stx2* no *pool* nº19. Dessa forma, outros procedimentos, além do PSO da esola da região do peito, devem ser adotados para que seja possível a redução de STEC e proporcionar maior segurança microbiológica à carcaça.

A revisão de literatura de Antic et al. (2021) sugere que alguns tratamentos do couro bovino, como lavagens químicas e tratamento de imobilização microbiana com *shellac*, e intervenções de carcaça bovina, como pasteurização com água quente e/ou vapor e lavagens com ácido láctico, mostram efeitos consistentes de redução de bactérias aeróbicas e indicadoras de origem fecal, também com efeito de reduzir as prevalências de *E. coli* patogênica e *Salmonella* naturalmente presentes. Dado a importância desses micro-organismos para a segurança microbiológica da carne é fundamental que o processamento, com a realização dos PSOs, seja realizado de forma correta e que minimizem a necessidade de tratamentos secundários para oferecer ao consumidor um produto seguro.

Conclusão

Não foi observado efeito significativo do período pré-abate sobre a contaminação microbiológica do couro e da carcaça de bovinos, apesar de expressiva redução da contagem

microbiológica total do couro dos animais submetidos ao maior período de repouso. A execução do procedimento sanitário operacional da incisão do couro na região do peito do animal de forma correta reduziu o risco microbiológico das carcaças para a presença de enteropatógenos e favoreceu o atendimento de padrões microbiológicos da carcaça. Apesar disso, outras medidas sanitárias podem ser intensificadas durante o processamento de carne bovina para a redução da frequência de patógenos nas carcaças garantindo produtos de risco minimizado para o consumidor.

Referências

- ADZITEY, Frederick; HUDA, Nurul. Pale soft exudative (PSE) and dark firm dry (DFD) meats: causes and measures to reduce these incidences-a mini review. **International Food Research Journal**, v. 18, n. 1, p. 11-20, 2011.
- AHSAN, M *et al.* Handling and welfare of bovine livestock at local abattoirs in Bangladesh. **Journal of Applied Animal Welfare Science**, v. 17, n. 4, p. 340-353, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1080/10888705.2014.905782>
- ALNAJRANI, M *et al.* Comparing the Recovery of Indicator Microorganisms from Beef Trimmings Using Swabbing, Rinsing, and Grinding Methodologies. **Meat and Muscle Biology**, v. 2, p. 154-161, 2018. DOI: <https://doi.org/10.22175/mmb2017.09.0047>
- ANTIC, D *et al.* Beef abattoir interventions in a risk-based meat safety assurance system. **Meat Science**, p. 108622, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2021.108622>
- BRASIL. Decreto nº 9.013 de 29 de março de 2017. Dispõe sobre o Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**: Brasília, DF, v. 62, n. 1, p.3, 2017.
- BRASIL. Instrução Normativa nº60 de 20 de dezembro de 2018. Estabelece o controle microbiológico em carcaça de suínos e em carcaça e carne de bovinos em abatedouros frigoríficos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**: Brasília, DF, v. 246, n.1, p. 4, 2018.
- BRASIL. Instrução Normativa nº60 de 23 de dezembro de 2019. Estabelece as listas de padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**: Brasília, DF, v. 249, n. 1, p. 133, 2019.
- CALLE, A *et al.* Seasonal effect on *Salmonella*, Shiga toxin-producing *E. coli* O157: H7 and non-O157 in the beef industry in Colombia, South America. **Heliyon**, v. 7, n. 7, e07547, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e07547>
- CARRASCO-GARCÍA, A. A *et al.* Effect of stress during slaughter on carcass characteristics and meat quality in tropical beef cattle. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 33, n. 10, p. 1656- 1665, 2020. DOI: <https://doi.org/10.5713/ajas.19.0804>

CEVALLOS-ALMEIDA, M *et al.* Association between animal welfare indicators and microbiological quality of beef carcasses, including *Salmonella* spp., from a slaughterhouse in Ecuador. **Veterinary World**, v. 14, n 4, p. 918-925, 2021. DOI: <https://doi.org/10.14202/vetworld.2021.918-925>

CHEN, Yi; KNABEL, Stephen 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. DOI: <https://doi.org/10.1128/AEM.00961-07>

COSTA, Vanessa Fernandes. **Avaliação dos procedimentos sanitários operacionais (PSO) de bovinos no segundo semestre de 2017 em um frigorífico do município de Formiga-MG**. 2018. Trabalho de Conclusão de Curso - (Graduação em Medicina Veterinária) - Centro Universitário de Formiga, Formiga, 2018.

GOMES, T. A. T *et al.* Diarrheagenic *Escherichia coli*. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 47, (Suppl. 1), p. 3-30, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2016.10.015>

GUTEMA, F. D *et al.* Assessment of beef carcass contamination with *Salmonella* and *E. coli* O 157 in slaughterhouses in Bishoftu, Ethiopia. **International Journal of Food Contamination**, v. 8, n. 1, p. 1-9, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40550-021-00082-1>

ISO 11290-1. Microbiology of Food and animal Feeding Stuffs - Horizontal Method for the Detection and Enumeration of *Listeria monocytogenes*. 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**, Amendment v. 1, 2007, 27p.

KOUTSOUMANIS, Kostas; SOFOS, Jhon N. Microbial contamination of carcasses and cuts. **Encyclopedia of Meat Sciences**, v. 67, p. 1624–1629, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2004.01491.x>

OLIVEIRA, M. S *et al.* Hygienic-health quality and microbiological hazard of clandestine Minas Frescal cheese commercialized in north Tocantins, Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 42, n. 2, p. 679-694, 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2021v42n2p679>

PATON, Adrienne W.; PATON, James C. Detection and characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* by using multiplex PCR assays for *stx 1*, *stx 2*, *eaeA*, enterohemorrhagic *E. coli hlyA*, *rfb O111*, and *rfb O157*. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 36, n. 2, p. 598-602, 1998. DOI: <https://doi.org/10.1128/JCM.36.2.598-602.1998>

RIBEIRO JÚNIOR, J. C *et al.* Efficiency of membrane and four other methods for genomic DNA extraction of deteriorating bacteria-forming bacteria from milk. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 37, p. 3069–3078, 2016. DOI: <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2016v37n5p3069>

RIBEIRO JÚNIOR, J. C *et al.* 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**, v. 102, n. 12, p. 10850-10854, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2019-16732>

SHAIBU, A. O. *et al.* Isolation and antibiogram of *Salmonella* species from slaughtered cattle and the processing environment in Abuja abattoirs, Nigeria. **Food Control**, v. 125, p. 107972, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.107972>

SHANMUGASAMY, Malmarugan; VELAYUTHAM, Thenmozhi.; RAJESWAR, Johnson. *Inv A* gene specific PCR for detection of *Salmonella* from broilers. **Veterinary World**. v. 4, n. 12, p. 562-564, 2011. DOI: <https://doi.org/10.5455/vetworld.2011.562-564>

SILVA, Juliana Azevedo.; SILVA, Wilmar Dias. *Escherichia coli* Enteropatogênica (EPEC), ao contrário da *Escherichia coli* comensal, adere, sinaliza e lesa enterócitos. **Revista Patologia Tropical**, v. 34, n. 3, p. 175-196. DOI: <https://doi.org/10.5216/rpt.v34i3.1925>

4 CAPÍTULO 3 - CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo mostrou que o período de repouso pré-abate menor propicia maior contaminação microbiológica da superfície do couro, em comparação com o tempo de descanso maior, potencialmente relacionado à maior exposição de aspensão de água nos currais de espera. A correta execução do procedimento sanitário operacional reduz a contaminação microbiológica e patógenos na carcaça em comparação a execução errada.

Foi detectada a presença de *Salmonella* spp. e *Escherichia coli* em todos os *pools* de couro, independente do tempo de repouso, sendo a incidência destes patógenos menor nas carcaças cujo PSO foi executado de forma correta, comprovando que a operação corretamente executada melhora a qualidade sanitária da carne e reduz a ocorrência de enteropatógenos.

Dessa forma, é fundamental o trabalho do médico veterinário nos abatedouros frigoríficos, colaborando para implantação das normas sanitárias, desenvolvendo os trabalhos de gestão da segurança de alimentos, coordenando e promovendo as ações voltadas ao treinamento de recursos humanos para garantir a correta execução do PSO da esfolagem, para minimizar perigos microbiológicos na carcaça e favorecimento do atendimento dos padrões de qualidade.

REFERÊNCIAS

ABIEC, Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne - **Exportações**. Disponível em <http://abiec.com.br/exportacoes/>. Acesso em: 28 dez. 2021.

ALIYU, Abdulmalik; IBRAHIM, Yakubu KE; OYI, Ruqqaya A. Bacteriological and elemental quality of clarias gariepinus (cat fish) samples from river lavun, bida niger state, nigeria. **Nigerian Journal of Pharmaceutical Research**, v. 12, n. 2, p. 139-147, 2018.

AZEREDO, H. M. C *et al.* Alterações microbiológicas em alimentos durante a estocagem. *In*: AZEREDO, Henrieta Monteiro Cordeiro (Org). **Fundamentos de estabilidade de alimentos**. 2 ed. Brasília: Embrapa, 2012. Cap. 1, p. 15 – 31.

BRANDÃO, Juliana Luisa et al. Monitoramento de micro-organismos indicadores de higiene em linha de abate de bovinos de um matadouro-frigorífico habilitado à exportação no oeste do Paraná. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 33, n. 2, p. 755-762, 2012.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento/ Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. **Inspeção de carnes, padronização de técnicas instalações e equipamentos, Tomo I: bovinos**. Brasília -DF, jan., 1971.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 368, de 04 de setembro de 1997. **Regulamento técnico sobre as condições higiênico-sanitárias e de boas práticas de elaboração para estabelecimentos elaboradores/industrializadores de alimentos**. Brasília-DF, set., 1997.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Do Abastecimento. Portaria N°49, de 10 de fevereiro de 1998. **Institui o Sistema De Análise De Perigos E Pontos Críticos De Controle – APPCC a ser implantado, gradativamente nas indústrias de produtos de origem animal sob o regime do Serviço de Inspeção Federal – SIF**. Brasília – DF, fev., 1998.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Manual integrado de prevenção e controle de doenças transmitidas por alimentos**. Brasília -DF, 2001a.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001. **Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos**. Brasília - DF, 2001b.

BRASIL. Ministério da Saúde, Secretária de Vigilância em Saúde, Departamento de Apoio à Gestão de Vigilância em Saúde, **Manual Técnico de Diagnostico Laboratorial de Salmonella spp**. Série A, 1 ed. Brasília – DF, 2011

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, Secretaria De Defesa Agropecuária. Portaria nº 365, de 16 de julho de 2021. **Aprova o Regulamento Técnico de Manejo Pré-abate e Abate Humanitário e os métodos de insensibilização autorizados pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Brasília -DF, jul., 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 204, de 17 de fevereiro de 2016. **Define a Lista Nacional de Notificação Compulsória de doenças, agravos e eventos de saúde pública nos serviços de saúde públicos e privados em todo o território nacional**, nos

termos do anexo, e dá outras providências. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, p. 23-23, 2016.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento/Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº 60, de 20 de dezembro de 2018. **Diário Oficial da União**, nº 60, 2018.

BRASIL. Instrução Normativa nº60 de 23 de dezembro de 2019. Estabelece as listas de padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, v. 249, n. 1, p. 133, 2019.

BRASIL. Decreto nº 9.013 de 29 de março de 2017. Dispõe sobre o Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, v. 62, n. 1, p. 3, 2017.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento Secretaria de Política Agrícola. **Projeções Do Agronegócio Brasil 2020/21 a 2030/31-Projeções de Longo Prazo**. Brasília - DF, p. 44 – 83, 2021.

BAPTISTA, Paulo; VENÂNCIO, Armando. **Os perigos para a segurança alimentar no processamento de alimentos**. 1 ed. Guimarães: Forvisão, 2003, 109 p.

CARDOSO, L.; ARAÚJO, W. M. C. Parâmetros de qualidade em carnes comercializadas no Distrito Federal no período de 1997-2001. **Revista Higiene Alimentar**. p. 49-53, ago. 2003.

CORTEZ, Victor Hugo Dias; MALACRIDA, Amanda Milene; KOVACS, Thais Akelli Sanchez. Listeriose e suas implicações no contexto da saúde pública. **Revista de Ciência Veterinária e Saúde Pública**, v. 4, p. 173-177, 2017.

DOS SANTOS, Damaris Alves *et al.* A importância das condições higiênico-sanitárias em abatedouros: Uma revisão de literatura. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 1, 2021.

FORSYTHE, Stephen J. **Microbiologia da segurança alimentar**. 1 ed. Porto Alegre: Artmed, p. 424, 2000.

FORSYTHE, Stephen J. **Microbiologia da segurança alimentar**. 2 ed. Porto Alegre: Artmed, p. 216-211, 2002.

FRANCO, Bernadette Dora Gombossy de Melo; LANDGRAF, Mariza. Microbiologia dos alimentos. In: **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, p. 182-182, 2002.

FURLANETTO, Kamila Habowski *et al.* Avaliação da vida de prateleira e da qualidade de amostras de carne Bovina resfriada embaladas à vácuo durante 120 dias. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 7, p. 53459-53470, 2020.

GERMANO, Pedro Manoel Leal; GERMANO, Maria Izabel Simões. **Higiene e vigilância sanitária de alimentos**. In: Agentes Bacterianos de Toxi-infecções. 3ªed. Barueri: Manole, p.302- 323, 2008.

GERMANO, Maria Izabel Simões; GERMANO, Pedro Manoel Leal. Higiene e vigilância sanitária de alimentos. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 3, 2008.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Pesquisa Trimestral do Abate de Animais** – IBGE, 2º trimestre 2021. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/home/abate/brasil>. Acesso em: 10 set. 2021.

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.

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 11290-1. (2004). **Microbiology of Food and animal –eeding Stuffs - Horizontal Method for the Detection and Enumeration of Listeria monocytogenes.** Part 1: Detection Method. International Organization for Standardization, 1996, Amenvernt 1:2004.

LUNDGREN, Patricia Urquiza *et al.* Perfil da qualidade higiênico-sanitária da carne bovina comercializada em feiras livres e mercados públicos de João Pessoa/PB-Brasil. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 20, n. 1, p. 113-119, 2009.

JAY, J. M.; LOESSNER, M. J.; GOLDEN, D. A. **Modern food microbiology**. 7. ed. 790p. New York: Springer, 2005,

LAWRIE, R. **Good manufacturing practices; Beef; Sanitary quality; Salmonella spp.** 6ª edição. Porto Alegre: Artmed, 2005.

LOVATTI, Regina Celi Cotta. Gestão da qualidade em alimentos: uma abordagem prática. **Higiene alimentar**, p. 26-31, 2004.

Method. **International Organization for Standardization**, 1996, Amendment v. 1, 2004.

MATSUBARA, Esther Naomi. **Condição higiênico-sanitária de meias-carcaças de suínos após o abate e depois do resfriamento e análise da utilização de Lista de Verificação para avaliar boas práticas no abate de suínos.** 2005. Tese (Tese de Doutorado). Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal. São Paulo, 2005.

MORTON, R. D. Aerobic plate cont. *In*: DOWNES, F. P; ITO, K (ed.), **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**, 4th ed. Washington, D.C: American Public Health Association. Chap. 7, p. 63-67, 2001.

OLIVEIRA, Ana Beatriz Almeida *et al.* Doenças transmitidas por alimentos, principais agentes etiológicos e aspectos gerais: uma revisão. **Revista HCPA**. v. 30, n. 3, p. 279-285, jul./set. 2010.

MORAIS, José Marcello Gondim de; CASTRO, Márcia Regina Silveira de; FARO, Zelyta Pinheiro de. Avaliação da aplicação do sistema APPCC em frigoríficos de bovinos na região centro-oeste do Brasil. **Higiene alimentar**, p. 37-41, 2006.

JUNIOR, Jose Carlos Ribeiro *et al.* Efficiency of boiling and four other methods for genomic DNA extraction of deteriorating spore-forming bacteria from milk. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 37, n. 5, p. 3069-3078, 2016.

RODRIGUES, Carla Susana; SÁ, Cláudia Valéria Gonçalves Cordeiro de; MELO, Cristiano Barros de. An overview of *Listeria monocytogenes* contamination in ready to eat meat, dairy and fishery foods. **Ciência Rural**, v. 47, 2016.

SAMPAIO, Guilherme Sicca Lopes. **Jejum pré-abate de bovinos confinados e as condições higiênico-sanitárias do abate**. 106p. 2017. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. Botucatu, São Paulo, Brasil, 2017.

SAMULAK, Renata *et al.* Padronização higiênica-sanitária em frigorífico de suínos, Ponta Grossa (PR). **Revista Gestão Industrial**, v. 7, n. 1, 2011.

SILVA, Igor Gustavo de Souza. **Carne PSE (pale, soft, exudative) e DFD (dark, firm, dry) em abate industrial de bovinos**. 2017. Monografia (Graduação em Medicina Veterinária) – Universidade de Brasília/Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Brasília – DF, 2017.

DA SILVA, Neusely *et al.* **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. 5ª ed. São Paulo: Blucher, 2017, 590p.

SILVA, E. P *et al.* Avaliação microbiológica de carcaças bovinas refrigeradas com o uso do stretch. XXII. In: **Congresso Brasileiro de Zootecnia**. 2012.

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

SOUSA, Tatiane Maciel *et al.* Microrganismos patogênicos e indicadores de condições higiênico-sanitária em carne moída comercializada na cidade de Barra do Garças, MT. **Acta Veterinária Brasília**, v. 6, n. 2, p. 124-130, 2012.

WORLD HEALTH ORGANIZATION *et al.* Initiative to estimate the global burden of foodborne diseases. In: **Fifth formal meeting of the Foodborne Disease Burden Epidemiology Reference Group**. Geneva. 2013.