

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL

ESTUDO COMPARATIVO DO ESTADO DE CONSERVAÇÃO
DE CARNE MOÍDA ATRAVÉS DE MÉTODOS
MICROBIOLÓGICOS E FÍSICO-QUÍMICOS

Patrícia Gelli Feres de Marchi

Médica Veterinária

Jaboticabal – São Paulo – Brasil

2006

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL

ESTUDO COMPARATIVO DO ESTADO DE CONSERVAÇÃO
DE CARNE MOÍDA ATRAVÉS DE MÉTODOS
MICROBIOLÓGICOS E FÍSICO-QUÍMICOS

Patrícia Gelli Feres de Marchi

Orientador: Prof. Dr. Oswaldo Durival Rossi Junior

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Campus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária (Medicina Veterinária Preventiva).

Jaboticabal – São Paulo – Brasil

Julho de 2006

M316e	Marchi, Patrícia Gelli Feres de Estudo comparativo do estado se conservação de carne moída através de métodos microbiológicos e físico-químicos / Patrícia Gelli Feres de Marchi. -- Jaboticabal, 2006 xv, 72f. :il. ; 28 cm Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2006 Orientador: Oswaldo Durival Rossi Júnior Banca examinadora: Ângela Cleusa de Fátima Banzatto de Carvalho; Naiá Carla Marchi de Rezende Lago Bibliografia 1.carne moída. 2.qualidade microbiológica. 3.físico-química. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. CDU 614.3
-------	---

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação – Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação.

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

Patrícia Gelli Feres de Marchi- nascida em Ribeirão Preto, São Paulo, em 23 de abril de 1969, é Médica Veterinária, formada em janeiro de 1996, pela Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Jaboticabal, SP. Durante toda graduação realizou estágio dentro da referida universidade, foi bolsista da FAPESP, no departamento de Medicina Veterinária Preventiva, na área de microbiologia de alimentos. Em março de 2004 ingressou no programa de Pós-graduação da mesma faculdade, onde desenvolveu o projeto da dissertação, além de outros trabalhos paralelos na mesma área.

Dedico

Aos meus pais, Odair e Amélia (in memoriam).

**Às minhas irmãs Rosa e Maria Amélia,
que sempre estiveram ao meu lado,
me incentivando e me amando em todas as situações.**

**À Gabriela, Daniela e Sidnei, minha
família, razão do meu viver e luta, meu muito
obrigada.**

AGRADECIMENTOS

À faculdade de Ciências Agrária e Veterinária - Unesp, Campus de Jaboticabal, especialmente ao Departamento de Medicina Veterinária Preventiva pela oportunidade concedida;

Ao Prof. Dr. Oswaldo Durival Rossi Júnior, pela orientação, compreensão e ensinamentos transmitidos;

Aos professores e funcionários do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal, pela amizade e profissionalismo;

Aos amigos de Mestrado pela amizade e companheirismo, durante todo este período;

Às minhas amigas Fernanda, Viviane, Natacha e Marita, pelo auxílio no desenvolvimento desse trabalho, grande estímulo, apoio e amizade;

À minha eterna amiga Naiá, pela ajuda nos momentos difíceis, por sempre estar perto de mim mesmo à distância;

À minha irmã em Cristo Jaque, por todo suprimento de vida e por todo amor;

A todos aqueles que com amizade e incentivo contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

MUITO OBRIGADA!

SUMÁRIO

Assunto	Página
LISTA DE TABELAS.....	vii
RESUMO.....	xi
ABSTRACT.....	xii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2 .REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1. Microrganismos Indicadores da Qualidade Higiênico-Sanitárias dos Alimentos.....	10
2.2. Microrganismos Heterotróficos, Aeróbios ou Facultativos, Mesófilos e Psicrotróficos Viáveis.....	11
2.3. Grupo dos Coliformes.....	10
2.4. Bolores e Leveduras.....	12
2.5. <i>Salmonella</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> e <i>Escherichia coli</i> Patogênica Veiculadas pela Carne Moída.....	12
2.5.1. <i>Salmonella</i>	12
2.5.2. <i>Staphylococcus aureus</i>	15
2.5.3. <i>Escherichia coli</i> Enteropatogênica.....	17
2.6. Microbiologia da Carne Moída.....	21
3. OBJETIVOS.....	26
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	27
4.1. Determinações microbilógicas.....	27

Assunto	Página
4.1.1. Preparo das diluições das amostras.....	27
4.1.2. Contagem padrão de microrganismos heterotróficos aeróbios ou facultativos, mesófilos e psicrotróficos viáveis.....	27
4.1.3. Determinação do número mais provável (NMP) de coliformes totais/grama.....	28
4.1.3.1. Teste presuntivo.....	28
4.1.3.2. Teste confirmativo.....	28
4.1.4. Determinação do NMP de coliformes termotolerantes e <i>Escherichia coli</i>	29
4.1.4.1. Coliformes termotolerantes.....	29
4.1.4.2. <i>Escherichia coli</i>	29
4.1.5. Contagem de <i>Staphylococcus</i> coagulase positivo e pesquisa de <i>Staphylococcus aureus</i>	29
4.1.6. Contagem de bolores e leveduras.....	30
4.1.7. Isolamento de bactérias do gênero <i>Salmonella</i>	30
4.1.7.1. Pré- enriquecimento.....	30
4.1.7.2. Enriquecimento seletivo.....	30
4.1.7.3. Plaqueamento seletivo.....	30
4.1.7.4. Identificação presuntiva.....	31
4.1.7.5. Confirmação sorológica.....	31
4.1.7.6. Sorotipagem.....	31

Assunto	Página
4.2.1. Prova de Filtração.....	31
4.2.2. Determinação do pH.....	32
4.2.3. Pesquisa de amônia – Prova de Nessler.....	32
4.2.4. Pesquisa de H ₂ S.....	32
4.3. Análise Estatística.....	33
5. RESULTADOS e DISCUSSÃO.....	35
6. CONCLUSÕES.....	100
7. REFERÊNCIAS.....	58
8. ANEXOS.....	75

LISTA DE TABELAS

Tabela	Página
1. Distribuição do total de amostras de carne moída na presença do consumidor e daquela previamente moída e exposta à venda, adquiridas na cidade de Jaboticabal/SP, segundo o intervalo de variação da contagem padrão em placas de microrganismos heterotróficos aeróbios ou facultativos mesófilos viáveis, bem como valores médios das populações e o resultado do teste “t”. Jaboticabal, 2004.....	35
2. Distribuição do total de amostras de carne moída na presença do consumidor e daquela previamente moída e exposta à venda, adquiridas na cidade de Jaboticabal/SP, segundo o intervalo de variação da contagem padrão em placas de microrganismos heterotróficos aeróbios ou facultativos psicrotróficos viáveis, bem como valores médios das populações e resultado do teste “t”. Jaboticabal, 2004.....	37
3. Distribuição do total de amostras de carne moída na presença do consumidor e daquela previamente moída e exposta à venda, adquiridas na cidade de Jaboticabal/SP, segundo o intervalo de variação do número mais provável (NMP) de coliformes totais, bem como valores médios das populações e resultado do teste “t”. Jaboticabal, 2004.....	38
4. Distribuição do total de amostras de carne moída na presença do consumidor e daquela previamente moída e exposta à venda, adquiridas na cidade de Jaboticabal/SP, segundo o intervalo de variação do número mais provável (NMP) de coliformes termotolerantes, bem como valores médios das populações e resultado do teste “t”. Jaboticabal, 2004.....	39

Tabela	Página
5. Distribuição do total de amostras de carne moída na presença do consumidor e daquela previamente moída e exposta à venda, adquiridas na cidade de Jaboticabal/SP, segundo o intervalo de variação do número mais provável (NMP) de <i>Escherichia coli</i> , bem como valores médios das populações e resultado do teste “t”. Jaboticabal, 2004.....	40
6. Distribuição do total de amostras de carne moída na presença do consumidor e daquela previamente moída e exposta à venda, adquiridas na cidade de Jaboticabal/SP, segundo o intervalo de variação da contagem de bolores e leveduras, bem como valores médios das populações e resultado do teste “t”. Jaboticabal, 2004.....	41
7. Distribuição do total de amostras de carne moída na presença do consumidor e daquela previamente moída e exposta à venda, adquiridas na cidade de Jaboticabal/SP, segundo o intervalo de variação da contagem de <i>Staphylococcus</i> sp, bem como valores médios das populações e resultado do teste “t”. Jaboticabal, 2004.....	43
8. Distribuição do total de amostras de carne moída na presença do consumidor e daquela previamente moída e exposta à venda, adquiridas na cidade de Jaboticabal/SP, segundo o intervalo de variação da contagem de <i>Staphylococcus</i> coagulase positivo. Jaboticabal, 2004.....	43

Tabela	Página
9. Distribuição do total de amostras de carne moída na presença do consumidor e daquela previamente moída e exposta à venda, adquiridas na cidade de Jaboticabal/SP, segundo a presença de <i>Staphylococcus aureus</i> . Jaboticabal, 2004.....	44
10. Distribuição do total de amostras de carne moída na presença do consumidor e daquela previamente moída e exposta à venda, adquiridas na cidade de Jaboticabal/SP, segundo a faixa de variação do pH. Jaboticabal, 2004.....	46
11. Distribuição do total de amostras de carne moída na presença do consumidor e daquela previamente moída e exposta à venda, adquiridas na cidade de Jaboticabal/SP, segundo a produção de H ₂ S. Jaboticabal, 2004.....	47
12. Distribuição do total de amostras de carne moída na presença do consumidor e daquela previamente moída e exposta à venda, adquiridas na cidade de Jaboticabal/SP, segundo o tempo de filtração. Jaboticabal, 2004.....	48
13. Distribuição do total de amostras de carne moída na presença do consumidor adquiridas na cidade de Jaboticabal/SP, segundo a população de microrganismos heterotróficos aeróbios ou facultativos mesófilos viáveis e o grau de produção de H ₂ S. Jaboticabal, 2004.....	50

Tabela	Página
14. Distribuição do total de amostras de carne a comparação com a previamente moída e exposta à venda, adquiridas na cidade de Jaboticabal/SP, segundo a população de microrganismos heterotróficos aeróbios ou facultativos mesófilos viáveis e o grau de produção de H ₂ S. Jaboticabal, 2004.....	50
15. Distribuição do total de amostras de carne moída na presença do consumidor, adquiridas na cidade de Jaboticabal/SP, segundo a população de microrganismos heterotróficos aeróbios ou facultativos psicrotróficos viáveis e o grau de produção de H ₂ S. Jaboticabal, 2004.....	51
16. Distribuição do total de amostras de carne previamente moída e exposta à venda adquiridas na cidade de Jaboticabal/SP, segundo a população de microrganismos heterotróficos aeróbios ou facultativos psicrotróficos viáveis e o grau de produção de H ₂ S. Jaboticabal, 2004.....	51
17. Distribuição do total de amostras de carne moída na presença do consumidor adquiridas na cidade de Jaboticabal/SP, segundo a população de bolores e leveduras e o grau de produção de H ₂ S. Jaboticabal, 2004.....	52
18. Distribuição do total de amostras de carne previamente moída e exposta à venda adquiridas na cidade de Jaboticabal/SP, segundo a população de bolores e leveduras e o grau de produção de H ₂ S. Jaboticabal, 2004.....	53

Tabela	Página
19. Distribuição do total de amostras de carne previamente moída e exposta à venda adquiridas na cidade de Jaboticabal/SP, segundo a produção de H ₂ S e o tempo de filtração do extrato aquoso. Jaboticabal, 2004.....	53

ESTUDO COMPARATIVO DO ESTADO DE CONSERVAÇÃO DE CARNE MOÍDA ATRAVÉS DE MÉTODOS MICROBIOLÓGICOS E FÍSICO-QUÍMICOS

RESUMO – O presente trabalho teve por objetivo avaliar físico-química e microbiologicamente a carne bovina moída comercializada na cidade de Jaboticabal, SP. Para tanto, foram colhidas 60 amostras, sendo 30 amostras de carne moída na presença do consumidor (processo 1) e 30 amostras previamente moída e mantida em balcões refrigerados (processo 2). As mesmas foram submetidas à determinação da população de microrganismos aeróbios ou facultativos mesófilos e psicrotróficos viáveis, bolores e leveduras, enumeração de *Staphylococcus* coagulase positivo, determinação do Número Mais Provável de coliformes fecais e pesquisa de *Salmonella* sp. A avaliação físico-química das amostras baseou-se na determinação do pH, amônia, H₂S e capacidade de retenção de água para verificar o estado de conservação da carne. As análises microbiológicas revelaram que não ocorreram diferenças estatísticas entre as amostras de carne moída na hora e aquela previamente moída e mantida em balcões refrigerados. Porém, para microrganismos mesófilos, coliformes totais, coliformes termotolerantes e *Staphylococcus* sp as populações do processo 2 foram numericamente superiores. Todas as amostras foram positivas para amônia e para H₂S, indicando algum grau de proteólise, muito embora a maioria das amostras apresentou pH e tempo de filtração dentro da faixa aceitável de consumo. Todas as amostras analisada apresentaram ausência total de salmonelas, estando em conformidade com a legislação brasileira.

Palavras-chave: Qualidade Microbiológica, Físico-química, Carne Moída.

**Comparative study of ground beef conservation status according to
microbiological and physical-chemical methods.**

ABSTRACT – This research aims to evaluate the microbiology quality and physical-chemical properties of ground beef sold at Jaboticabal City, São Paulo, Brazil. For that, 60 sample were token from different commercial establishments, being 30 sample of beef grounded in the front of consumer (process 1) and 30 others previously grounded and maintained at refrigerated counter (process 2). The samples were submitted to various determinations, as follow: populations of mesophilic aerobic bacteria and psychotropics, moulds and yeasts, coagulase positive *Staphylococcus* enumeration, Most Probable Number (MPN) of total and fecal coliforms and the research of *Salmonella* sp. The physical-chemical evaluation of samples where made according to pH determination, ammonium, H₂S and water retention capacity just to verify the beef conservation status. The microbiological analysis showed that there is no statistical difference between the meet grounded in the front of consumer and the previously ground beef. However, for mesophilic microorganisms, total coliforms, fecal coliforms and *Staphylococcus* sp the populations of process 2 were numerically superior. All samples were positives to ammonium and H₂S, indicating some proteolyses grade, although the most of them showed pH and filtration time inside of acceptable band of consume. Also, all analyzed samples showed total absence of *Salmonella* sp, being in agreement to Brazilian Standards Established.

Keywords: Microbiological Quality, Physical-chemical, Ground Beef.

1. INTRODUÇÃO

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

A alimentação balanceada faz-se necessária para que se consiga, dia após dia, cada um dos elementos necessários ao metabolismo. Dentre os alimentos que devem ser ingeridos diariamente, pode-se citar aqueles de origem animal, ricos em aminoácidos essenciais.

Dentre todos os produtos de origem animal, a carne é utilizada pelo homem como uma das mais importantes fontes de alimentação, já que é rica em proteínas de alto valor biológico pelos aminoácidos essenciais que a compõem, decorrendo daí a importância do seu consumo.

Condições sanitárias deficientes durante o abate dos animais, cozimento inadequado, armazenamento impróprio e falta de higiene dos utensílios e equipamentos e dos manipuladores podem constituir um risco aos consumidores. Dependendo do microrganismo envolvido, os sintomas podem ser desde um desconforto intestinal moderado à desidratação severa, ou diarreia hemorrágica e morte.

A qualidade higiênico-sanitária de alimentos de origem animal sempre foi alvo de preocupação e destaque, pela possibilidade de veiculação de microrganismos patogênicos. São conhecidas mais de 250 doenças transmitidas via alimentos, sendo as infecções bacterianas as causas mais comuns. Foram notificados vários surtos envolvendo a carne moída e seus produtos, o que gerou grandes prejuízos, tanto para saúde dos consumidores, quanto para a economia, devido a dias de trabalho perdidos, despesas com medicamentos e internações hospitalares.

Sabe-se que a modernidade mudou os hábitos do consumidor, aumentou a procura de produtos baratos e práticos, destacando-se entre eles a carne moída. Pela legislação a venda de carne fresca moída é permitida se a moagem for feita na presença do consumidor, porém são muitos os estabelecimentos que comercializam a carne previamente moída.

Deve-se controlar a contaminação, multiplicação e sobrevivência microbiana nos diversos ambientes, equipamentos e utensílios e manipuladores da carne moída, assim como atentar para a temperatura de armazenamento e cozimento adequados, a fim de obter um produto de boa qualidade.

Alguns parâmetros físico-químicos são utilizados, além das determinações microbiológicas, a fim de auxiliar num melhor controle da qualidade da carne.

Tendo em vista o exposto a realização deste trabalho justifica-se pela necessidade de se conhecer a qualidade microbiológica e físico-química da carne moída comercializada na cidade de Jaboticabal (SP).

2. REVISÃO DE LITERATURA

A carne bovina é rica em proteínas, ácidos graxos essenciais, vitaminas do complexo B (tiamina, riboflavina, niacina, ácido fólico e pantotênico, B6, B12) e minerais (K, P, Mg, Fe, Zn). Suas taxas de gordura e colesterol são semelhantes às da carne de aves e suínos. Porém seus teores de ferro são mais elevados (FRANCO, 2002).

Ao longo do seu processamento, a carne sofre transformações chamadas de “conversão do músculo em carne”. Isso significa que o músculo de um animal vivo tem, em determinados aspectos, características físico-químico-estruturais muito diferentes da carne destinada para consumo humano. Assim, a composição média dos músculos de bovinos, após o “rigor mortis” é a seguinte: água 75%, proteínas 19%, lípidos 2,5%, carboidratos 1,2%, compostos nitrogenados solúveis 1,6% e compostos inorgânicos 0,75 % (LEITÃO, 1984).

O pH muscular é um dos fatores que sofre considerável alteração após a morte do animal, dependendo inclusive das condições em que o animal foi abatido. No animal vivo e hígido, esse pH está bem próximo à neutralidade; no entanto, após o abate, a conversão do glicogênio muscular resulta em produção de ácido láctico, provocando uma ligeira queda no pH muscular após o rigor mortis. Porém, mesmo após a queda do pH, os microrganismos ainda encontram um ambiente favorável a sua multiplicação, principalmente quando outros fatores que favorecem o desenvolvimento microbiano estão presentes. Entre esses fatores, pode-se citar a atividade de água, que é superior a 0,98, e o fato da carne ser altamente nutritiva, tornando-se um substrato adequado para a proliferação de microrganismos patogênicos ou deteriorantes, tais como bactérias, bolores e leveduras. Portanto, deve ser dada máxima prioridade às condições higiênico-sanitárias vigentes desde o abate dos animais até a obtenção dos diferentes produtos cárneos (LEITÃO, 1984; FEHLHABER & JANETSCHKE, 1992).

De acordo com ALMEIDA & SCHNEIDER (1983) carne bovina pode ser classificada por categorias:

- 1ª categoria – alcatra, coxão mole, coxão duro, patinho, lagarto, filé de lombo, filé de costela e fraldinha.
- 2ª categoria – braço.

- 3ª categoria – acém, pescoço, músculos, capa de filé, ponta de agulha, peito.

Um sub-produto oriundo desses cortes largamente consumido é a carne moída. Entende-se por carne moída, o produto cárneo obtido a partir da moagem de massa musculares de carcaças de bovinos, seguido de imediato resfriamento ou congelamento (BRASIL, 2003).

Assim sendo, a carne moída destaca-se dentre os produtos cárneos, pela sua aceitabilidade e por se caracterizar como produto popular, sendo acessível à faixa da população com menor poder aquisitivo, além de poder ser usada em refeições de maneiras práticas e variadas (MOTTA et al., 2000). Porém, se as condições ao desenvolvimento microbiano forem favoráveis, a carne moída e os alimentos a ela misturados podem representar um risco à saúde daqueles que a consomem (ALMEIDA & SCHNEIDER, 1983).

O consumo de carne moída teve um grande aumento, tanto em países desenvolvidos como nos países em desenvolvimento, dado ao fato dela ser uma forma melhor e mais conveniente de se aproveitar as carnes menos nobres, de 2ª e 3ª categorias, além de ser de baixo preço e permitir a inclusão de substâncias mais baratas, como amidos, farinhas e derivados protéicos vegetais, como soja (ALMEIDA & SCHNEIDER, 1983).

Os tecidos de animais saudáveis, exceto a superfície externa, trato gastrintestinal e as vias respiratórias, contêm poucos microrganismos graças aos mecanismos de defesa que controlam com eficiência a multiplicação dos agentes infecciosos em animais vivos (ROÇA & SERRANO, 1995). No entanto, a carne é contaminada quando há contato com a pele, pêlo, patas, conteúdo gastrintestinal, equipamentos e utensílios, mãos e roupas de operários, água, carcaças e ar dos locais de abate e armazenamento (LEITÃO, 1984; ROÇA & SERRANO, 1995).

Dentre todos os microrganismos possivelmente presentes na carne, destacam-se as bactérias pelo fato delas participarem dos processos de deterioração, de infecção e de intoxicação alimentar (PARDI, 1993; ROÇA & SERRANO, 1995).

Sabe-se que as carnes fragmentadas ou moídas, acham-se com maior frequência de contaminação do que as carnes inteiras, correspondente aos mesmos

animais (PANETTA, 1972; HIROOKA et al., 1982; FRAZIER & WESTHOFF, 1993). Neste processo tem-se um grande aumento na superfície de contato do alimento, o que o expõe ainda mais à contaminação. Além disso, a carne fragmentada tem potencial de óxido-redução positivo, já que está mais em contato com o oxigênio do que a carne compactada, o que facilita o desenvolvimento de microrganismos aeróbios ou facultativos. Como fator complicante, sabe-se que muitos microrganismos patogênicos e deteriorantes são facultativos, ou seja, preferem, para seu metabolismo, condições aeróbias, mas a anaerobiose do meio não impede o seu desenvolvimento (FEHLHABER & JANETSCHKE, 1992). Por isso, há necessidade de atentar para as condições higiênico-sanitárias do processo de obtenção da carne, desde a sangria dos animais até o ato do consumo (KHALAFALLA et al., 1993).

Outro fator relevante quanto ao risco de disseminação de microrganismos pela carne moída é o fato dela muitas vezes ser proveniente de outras carnes que sofreram grande manipulação nos mercados e açougues, além de, em alguns casos, ter permanecido em temperatura ambiente por longos períodos (EMSWILLER et al., 1976; RITTER et al., 2001).

A manipulação da carne crua fresca ou congelada em açougues, para a obtenção da carne moída, predispõe a contaminação do produto por altas populações de diferentes gêneros microbianos quando comparado àquela moída no matadouro frigorífico (SHOUP & OBLINGER, 1976).

A higiene dos equipamentos e utensílios utilizados na manipulação da carne também representa um fator importante na qualidade da carne moída. Apesar de não existir um padrão microbiológico para as superfícies e utensílios que entram em contato com a carne, a presença de coliformes totais, termotolerantes e *Salmonella* demonstra que há um risco à saúde de consumidores e manipuladores de alimentos (AMARAL et al., 1984; LOGUERCIO et al., 2002). O *Staphylococcus aureus* e a *Escherichia coli* são os principais responsáveis por surtos de toxinfecção alimentar quando associados às condições higiênico-sanitárias insatisfatórias dos manipuladores e utensílios (OLIVEIRA et al., 2003). LOGUERCIO et al. (2002) avaliaram as condições higiênico-sanitárias dos utensílios e moedores utilizados no processamento de carne moída, através da determinação da contagem de coliformes totais e termotolerantes e presença de

Salmonella em duas amostras, e observaram que as práticas de higiene eram precárias.

CHESCA et al. (2003) observaram que a higienização incorreta dos equipamentos e utensílios utilizados na preparação de refeições, é um fator de risco aos consumidores, principalmente os equipamentos utilizados no preparo de alimentos que são consumidos crus.

FONSECA et al. (1983) avaliaram as condições higiênicas em 17 estabelecimentos do Mercado Público de Porto Alegre. Colheram amostras de tábuas, serras e moedores de carne com suabe estéril e somente um dos 17 estabelecimentos pesquisados não estava contaminado com *Staphylococcus aureus*, enquanto a *Salmonella* spp não foi encontrada em nenhum estabelecimento.

A carne bovina é um dos alimentos mais freqüentemente envolvidos em surtos de toxinfecções alimentares, já que além de estar entre os alimentos mais consumidos pela população, propicia aos microrganismos um excelente habitat para seu desenvolvimento, veiculando principalmente clostrídios, estafilococos e enterobactérias (PANETTA, 1994; HOBBS & ROBERTS, 1999; GERMANO & GERMANO, 2001). O risco torna-se ainda maior quando este produto é consumido por crianças, idosos e pessoas imunossuprimidas, que podem sofrer vários danos à saúde, inclusive com risco de morte (SOCKETT, 1995; MORRIS, 1996).

Destacam-se como agentes etiológicos de doenças veiculadas por alimentos de maior ocorrência o *Staphylococcus aureus* e o *Clostridium perfringens*. Em importância seguem o *Bacillus cereus*, a *Escherichia coli* e as salmonelas. Contudo, outros microrganismos podem ser responsáveis pelas doenças veiculadas por alimentos, como as enterobactérias *Shigella* sp. e *Yersinia enterocolitica*, além do *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*, *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Clostridium botulinum*, *Listeria monocytogenes* e *Streptococcus* spp (GERMANO et al., 1993; PANETTA, 1994; HOBBS & ROBERTS, 1999).

A maioria dos casos de doenças veiculadas por alimentos deve-se à manipulação inadequada. Dentre as causas mais comuns encontram-se a má utilização da temperatura no preparo e na conservação dos alimentos, a contaminação cruzada, a higiene pessoal deficiente, a preparação dos alimentos com muita antecedência ao seu

consumo, a limpeza inadequada de equipamentos e utensílios e o contato de manipuladores infectados com os alimentos (CHESCA et al., 2004; OLIVEIRA et al. 2004).

FERREIRA et al. (1984) analisaram amostras de fezes de 328 servidores de sete restaurantes de Belo Horizonte, e observaram que 65 servidores eram portadores de *Salmonella* e 50% deles eliminavam mais de um sorotipo, revelando a necessidade de submeter os manipuladores a um controle periódico de saúde.

Em Ribeirão Preto-SP, VANZO & AZEVEDO (2003) analisaram amostras de fossas nasais, boca e mãos, de 67 manipuladores de alimentos. Verificaram que 28 (41,8%) indivíduos eram portadores de *Staphylococcus aureus*, considerado uma taxa alta, sendo um possível elo de infecção cruzada e/ou contaminação de alimentos.

RADDI et al. (1988) analisaram amostras de mãos e fossas nasais de manipuladores de alimentos das principais casas comerciais de Araraquara, e verificaram que 40 indivíduos dos 48 manipuladores analisados portavam *Staphylococcus aureus* em fossas nasais e mãos, revelando um risco potencial nas intoxicações alimentares.

Segundo CAMARGO et al. (1981), há autores que consideram a carne moída como um produto que oferece pouco risco à saúde humana, quando mantida sob refrigeração e consumida cozida. Porém, isso depende das temperaturas envolvidas no armazenamento e no preparo para o consumo (ROBERTS et al., 1980). Sabe-se que muitos pratos da culinária árabe, por exemplo, são preparados com carne moída crua. Assim, o quibe cru, um dos mais populares, pode representar um risco à saúde pública.

PERINA et al. (2005) estudando as características microbiológicas de quibes crus comercializados na cidade de São José do Rio Preto-SP, verificaram que 85,7% das amostras analisadas estavam em desacordo com os padrões microbiológicos estabelecidos pela legislação vigente para *Staphylococcus aureus*. Verificaram ainda que 14,3% eram potencialmente capazes de causar toxinfecções alimentares.

PEDROSO et al. (1999) determinaram os perigos e pontos críticos de controle associados a preparações de almôndegas e quibes em uma cozinha hospitalar e detectaram os seguintes perigos: a contaminação da carne e vegetais crus, a multiplicação dos microrganismos durante a etapa de manipulação da carne, a falta de

higiene dos equipamentos, a sobrevivência de microrganismos ao processo de cocção indicando a necessidade da implantação de medidas de controle de doenças de origem alimentar.

A boa qualidade da carne moída não depende somente da sua obtenção de forma higiênica, mas também de suas características físico-químicas, como pH, umidade, proteínas, o que têm influência na sua vida útil.

SOUZA et al. (2000) avaliaram a qualidade microbiológica e físico-química de 30 amostras de carne bovina moída “in natura” comercializadas no município de Macapá, AP. Os autores encontraram 100% das amostras contaminadas com *Salmonella* sp e clostrídios sulfito redutores, 26,6% com coliformes termotolerantes, 6,6% com *Staphylococcus aureus* e 43,4% com *Bacillus cereus*. Alguns parâmetros físico-químicos (pH, proteínas, umidade e cinzas) também foram avaliados. Destes, o pH variou de 5,4 a 6,4, sendo que uma carne boa para consumo é aquela que apresenta pH de 5,8 a 6,2 (BRASIL, 1981). A carne moída com baixa contagem de bactérias, sempre tem baixo pH e alta concentração de açúcares (NYCHAS et al., 1991).

SKRÖKKI (1997) verificou a qualidade da carne moída através da quantificação de microrganismos aeróbicos e coliformes, bem como pela determinação do pH. Apenas 20% das amostras apresentavam qualidade tolerável com relação a microrganismos aeróbicos e o pH foi de 5,3 a 6,0 na maioria das amostras.

Através de exames físico-químicos, foi avaliado o estado de conservação da carne bovina moída, preparada industrialmente e embalada a vácuo, quando mantida a temperatura de 8°C após a abertura da embalagem. Foram feitas análises no 1º, 3º, 5º e 7º dias de armazenagem. Houve uma queda significativa de pH do 1º ao 7º dia. A proporção de amostras positivas para amônia foi de 16,6% no 3º dia, 70% no 5º dia e 100% no 7º. Houve um aumento gradativo com relação ao 1º dia, quando 100% das amostras apresentaram resultados negativos. Os resultados evidenciaram que a carne bovina moída preparada industrialmente e embalada a vácuo pode ser considerada de boa qualidade até o 3º dia de armazenagem a 8°C (SOBREIRO & SOUZA, 1996), ou até o 4º dia, quando mantida entre 3º e 5°C (JUDGE et al., 1989).

O binômio tempo-temperatura tem uma relação direta com a manutenção da qualidade higiênico-sanitária de um alimento, fato que foi observado por OLIVEIRA et

al. (2004) em merendas escolares de creches de um município da Grande São Paulo. Os autores observaram que as unidades escolares ofereciam riscos de contaminação microbiológica aos alimentos devido à falta de conhecimento por parte das merendeiras do binômio tempo-temperatura, com descongelamento inadequado, espera à temperatura ambiente para distribuição das refeições e ausência de termômetros para efetuar os controles necessários, das amostras de risoto de frango, almôndegas de frango, hambúrguer bovino, iscas de carne e carne moída bovina. Da totalidade das preparações cárneas, apenas as amostras de risoto apresentavam cocção e distribuição adequadas, como estipulado pelo Centro de Vigilância Sanitária.

COELHO et al. (1984) verificaram a presença de *Salmonella* sp em amostras de carne bovina moída, armazenadas a 0°C e -18°C, por 90 dias, indicando que esta bactéria sobrevive por longos períodos de armazenamento sob baixas temperaturas. Sabe-se que o tempo e a temperatura de estocagem podem influenciar na qualidade microbiológica da carne; a vida de prateleira pode ser prolongada se a carne for embalada e permanecer a uma temperatura nunca superior a $1,7 \pm 0,6^\circ\text{C}$ (EMSWILLER et al., 1976).

JAKABI et al. (2004) observaram a sobrevivência da *Salmonella* Enteritidis e da *Escherichia coli* O157:H7, em carne bovina moída, mantida sob refrigeração (4°C) por 120 horas e congelamento (-18°C) por até 90 dias. Verificaram que a *Escherichia coli* O157:H7 foi mais sensível nas temperaturas de refrigeração e congelamento, mas os dois patógenos permaneceram viáveis por até 90 dias de estocagem sob congelamento.

Comparando os níveis de contaminação da carne moída comercializados em açougues, feiras e supermercados, FLORENTINO et al. (1997) obtiveram resultados bastante semelhantes, o que levou os autores a concluir que a contaminação do produto vem desde a sua obtenção nos matadouros. Já, COSTA et al. (2000), observaram índices elevados de indicadores em feiras livres, onde as condições de higiene eram precárias e refrigeração inadequada ou inexistente.

2.1 Microrganismos Indicadores da Qualidade Higiénico-Sanitária dos Alimentos

Alguns atributos da carne são facilmente percebidos pela maioria dos consumidores como cor, o odor, a textura, o sabor, outros, porém não são tão claramente percebidos, como por exemplo, a qualidade microbiológica. Para análise da qualidade do alimento produzido e a para determinar a sua vida comercial, utiliza-se a determinação de microrganismos ditos indicadores.

Microrganismos indicadores constituem grupos ou espécies de microrganismos que, quando presentes em um alimento, fornecem informações sobre as condições higiênico-sanitárias do produto analisado, no tocante à contaminação de origem fecal, a provável presença de patógenos ou a deterioração potencial do alimento (FRAZIER & WESTHOFF, 1993; FRANCO & LANDGRAF, 1996).

Os principais grupos de microrganismos indicadores são: psicrotróficos, mesófilos, termófilos, bactérias anaeróbias, indicadores de contaminação fecal, que incluem coliformes totais, coliformes termotolerantes, *Escherichia coli*, família *Enterobacteriaceae*, enterococos e *Clostridium perfringens*; ainda são indicadores *Staphylococcus aureus*, bactérias mesófilas produtoras de esporos, clostrídios sulfito redutores, bolores e leveduras, microrganismos halófilos, proteolíticos, lipolíticos e osmofílicos (SILVA JÚNIOR, 2002). O grupo a ser escolhido dependerá das características do alimento, já que a pesquisa de todos os indicadores se tornaria onerosa e demorada.

De acordo com TOMPKIN (1983), a contagem total de microrganismos heterotróficos aeróbios ou facultativos mesófilos viáveis, a de coliformes totais e a de *Escherichia coli* constituem-se indicadores comuns da determinação da qualidade de produtos cárneos.

2.2 Microrganismos Heterotróficos, Aeróbios ou Facultativos, Mesófilos e Psicrotróficos Viáveis

O grupo dos microrganismos heterotróficos mesófilos é formado por todos os microrganismos que utilizam matéria orgânica como principal fonte de carbono

(TORTORA et al., 2000); são aeróbios ou facultativos e se multiplicam preferencialmente em temperatura ao redor de 37°C e indicam o aspecto higiênico-sanitário do alimento. Alta população mesofílica indica que houve possibilidade de multiplicação microbiana no alimento, inclusive de patogênicos, determinando o risco sanitário deste alimento. À medida que a população desses microrganismos aumenta, incrementa-se também a possibilidade de existirem microrganismos patogênicos e a presença de toxinas resultantes do metabolismo microbiano (APHA, 2001).

Os psicrotróficos são, por sua vez, um grupo de microrganismos mesófilos que têm temperatura ótima de desenvolvimento ao redor de 25°C. Pelo fato de se desenvolverem em temperatura inferior a 5°C, o que não ocorre com microrganismos mesófilos, assumem especial importância em alimentos que são armazenados sob refrigeração. Representam principalmente a chance que um alimento tem de sofrer deterioração, com diminuição da sua vida de prateleira, já que muitos psicrotróficos são proteolíticos e lipolíticos (SIVA JÚNIOR, 1985; FEHLHABER & JANETSCHKE, 1992).

2.3 Grupo dos Coliformes

O grupo de coliformes totais é composto por mais de vinte espécies pertencentes à família *Enterobacteriaceae*, capazes de fermentar a lactose com produção de gás, quando incubados a 35-37°C por 48 horas. São bacilos gram-negativos e não formadores de esporos. Com exceção dos gêneros *Escherichia* e *Salmonella* os demais gêneros além de serem encontrados nas fezes de animais de sangue quente, também estão presentes em outros ambientes como vegetais e solo. Conseqüentemente, a presença de coliformes totais nos alimentos não indica, necessariamente, contaminação fecal recente ou ocorrência de enteropatógenos (APHA, 2001).

A presença de coliformes totais em alimentos processados é considerada uma indicação útil de contaminação pós-sanitização ou pós-tratamento térmico, indicando falhas higiênicas ao longo do processamento e armazenamento do produto ou deficiência do tratamento térmico, já que não são organismos esporulados.

As bactérias pertencentes ao grupo dos coliformes termotolerantes apresentam a capacidade de continuar fermentando a lactose com produção de gás, quando

incubadas à temperatura de $45 \pm 0,2^\circ \text{C}$. Nessas condições, ao redor de 95% das culturas são positivas para *E. coli*. A pesquisa de coliformes termotolerantes e de *Escherichia coli* nos alimentos fornece com maior segurança informações sobre as condições sanitárias do produto e melhor indicação da eventual presença de enteropatógenos (APHA, 2001). Atualmente, sabe-se, que o grupo dos coliformes inclui pelo menos três gêneros: *Escherichia*, *Enterobacter* e *Klebsiella*, dos quais incluem cepas de origem não fecal (água, solo, vegetais). Por esse motivo, a presença de coliformes termotolerantes é menos representativa, como indicação de contaminação fecal, do que a enumeração de *Escherichia coli*, porém muito mais significativa do que a presença de coliformes totais, dada a alta incidência de *Escherichia coli* dentro do grupo fecal. Embora a *Escherichia coli* possa ser introduzida nos alimentos a partir de fontes não fecais, é o melhor indicador de contaminação fecal conhecido até o momento (SILVA et al., 2001).

Ressalta-se que a *Escherichia coli* é a indicadora de contaminação fecal por ser mais facilmente isolada que a *Salmonella* (APHA, 2001).

A presença da *E. coli* em um alimento deve ser avaliada sob dois aspectos. Primeiramente por ser um habitante comum da microbiota intestinal de seres humanos e animais homeotermos. E uma vez detectada em um alimento indica que este sofreu contaminação microbiana de origem fecal, e portanto pode estar em condições higiênico-sanitárias insatisfatórias. Por outro lado, diversas linhagens *E. coli* são patogênicas para o homem, causando inúmeras doenças como diarreias, meningites, septicemia, arterioesclerose, síndrome urêmica hemolítica e doenças imunológicas como artrite reumatóide (OSLOVIK et al., 1991).

2.4 Bolores e leveduras

Os bolores e leveduras são fungos facilmente encontrados no solo e no ar. Dado a sua natureza heterotrófica e sua capacidade de adaptação a diferentes condições ambientais, podem ser encontrados como contaminantes e com ativa capacidade de desenvolvimento em diferentes tipos de alimentos, principalmente naqueles processados sob condições inadequadas de higiene.

2.5 *Salmonella*, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* Patogênica Veiculadas pela Carne Moída

2.5.1. *Salmonella*

A *Salmonella* é uma bactéria móvel, na forma de bacilo, Gram-negativa, pertencente à família *Enterobacteriaceae*, que é caracterizada por um grupo de bacilos mesófilos não produtores de esporos, anaeróbios facultativos e, na sua grande maioria, produtores de gás a partir da glicose. São conhecidas duas espécies de salmonelas, a espécie *S. bongori*, de ocorrência rara e a *S. enterica*, com seis subespécies e cerca de 2400 sorotipos, todos relacionados a doenças no homem e nos animais (BRENNER et al., 2001).

As salmonelas formam o grupo mais complexo das *Enterobacteriaceae*, com mais de 2200 sorotipos descritos no esquema de Kauffman-White. Neste esquema, as salmonelas são agrupadas com base nos antígenos somáticos (O), flagelares (H) e capsulares (Vi). Antes de 1º de julho de 1983, eram utilizadas três espécies de *Salmonella* para informar resultados positivos: *Salmonella choleraesuis*, *Salmonella typhi* e *Salmonella enteritidis*, esta última com mais de 2200 sorotipos. A partir de 1º de julho de 1983, os microrganismos identificados como *Salmonella* são informados por gênero e sorotipo, omitindo-se a referência à espécie. Considera-se patogênicos para humanos a *Salmonella* Typhi, *S. Paratyphi* e *S. Sendai*, que são os agentes etiológicos da febre tifóide e paratifóide; a *S. Typhimurium* é um sorotipo ubiqüitário que acomete tanto humanos quanto animais e causa gastroenterites veiculadas por alimentos; os sorotipos *S. Gallinarum*, *S. Choleraesuis* e *S. Abortusovis* são altamente adaptados aos animais (KONEMAN et al., 2001).

As salmonelas se desenvolvem bem em pH de 4,5 a 9,0, com um ótimo de 6,5 a 7,5, sendo que a temperatura ótima de desenvolvimento é de 35 a 37°C. No entanto, esses microrganismos podem multiplicar-se desde 5°C até 45 a 47°C.

Após a ingestão do alimento contaminado e a passagem através do pH ácido do estômago, as salmonelas atingem o intestino delgado, invadindo o lúmen, onde se

multiplicam; posteriormente atingem o íleo, e em menor proporção, o cólon, onde desenvolvem uma resposta inflamatória.

O mecanismo de ação das salmonelas, que induz ao surgimento de diarreia, é complexo e pode envolver a interação de vários mecanismos, incluindo a produção de diferentes toxinas (enterotoxinas, citotoxinas) e a invasão do epitélio intestinal, levando ao processo inflamatório (BROOKS et al., 2000).

A patogenicidade da *Salmonella* é influenciada pela idade, dose infectante e condições de saúde do hospedeiro. Crianças, neonatos e indivíduos imunossuprimidos são geralmente mais susceptíveis que adultos.

Nas gastroenterites o período de incubação varia de 12 a 24 horas em média e os principais sintomas são febre, diarreia mucosa, às vezes com sangue e tenesmo, dores abdominais, vômitos, com os sintomas persistindo de 3 a 5 dias.

TAVECHIO et al. (1996) notificaram, em São Paulo, a presença de *Salmonella*, a partir do isolamento em amostras de fezes (73,5%), sangue (13,4%), líquido cefalorraquidiano (2%), águas de esgoto (5,2%), outros tipos de amostras ambientais (8,7%), produtos de origem animal (20,2%) e alimentos (30,7%) a partir de cepas isoladas entre 1991 a 1995 de infecções humanas e não humanas.

ALMEIDA et al. (2002) verificaram a presença de *Salmonella* em cortes de bovinos (acém) e analisaram os cortes inteiros e depois de sofrerem o processo de moagem. Maior positividade das amostras foi verificado entre as amostras de carne moída.

O homem, manipulador de alimentos, é um importante elo na cadeia de transmissão da *Salmonella*. Uma vez infectados, podem ou desenvolver a doença ou tornarem-se portadores, que sem condições ideais de higiene, podem inocular a bactéria no alimento e causar problemas aos que, por ventura, vierem a ingerir (ENVANGELISTA-BARRETO & VIEIRA, 2002).

Um aumento significativo no isolamento de *Salmonella* Enteritidis foi verificado em 1993, associado à ocorrência de surtos de enfermidades transmitidas por alimentos. E também foi verificado a ocorrência de cepas resistentes aos agentes antimicrobianos, o que dificulta o seu controle e tratamento da doença. A circulação no meio ambiente de

cepas resistentes a antibióticos aumentam os riscos de disseminação e persistência desta zoonose (TAVECHIO et al., 1996).

PELAYO & SARIDAKIS (1988), analisaram 101 amostras de carne moída e 93 de quibe cru, colhidas em açougues de Londrina-PR, isolaram 12 cepas de *Salmonella*.

As salmonelas, transmitidas por alimentos, têm sido responsáveis por diversos surtos. Os produtos de origem animal têm sido os maiores responsáveis pelos surtos e seus problemas subseqüentes, com grande número de hospitalizações, o que representa elevados custos econômicos e sociais. As salmonelas afetam principalmente indivíduos de faixas etárias extremas, idosos e crianças (PERESI et al., 1998).

De janeiro a abril de 2002, foram reportados 47 casos de *Salmonella* Newport em cinco estados dos EUA. A duração da doença foi de em média nove dias e os principais sintomas foram: diarreia, dor abdominal, febre, diarreia com sangue e vômitos; houve 17 hospitalizações. Verificaram resistência de três cepas a amoxicilina, clavulanato, ampicilina, cefoxitina, cefalotin, cloranfenicol, streptomocina, sulfametoxazole e tetraciclina, e duas cepas foram resistentes a kanamicina. O surto foi implicado com carne moída crua ou mal cozida (CDC, 2002a).

Em Wisconsin, EUA, foi relatado um surto ocasionado por *Salmonella* Typhimurium associado com o consumo de carne moída mal cozida. Foram confirmados 107 casos, com 17 hospitalizações, os sintomas mais comuns foram, diarreia, dores abdominais, febre e náuseas (CDC, 1995b).

2.5.2 *Staphylococcus aureus*

Os *Staphylococcus* são bactérias em forma de cocos, com cerca de um micron de diâmetro, que se apresentam morfológicamente em massas regulares, lembrando cachos de uva, não sendo raro, no entanto, o surgimento de elementos isolados, aos pares, cadeias curtas e até em forma de tétrades (BROOKS et al., 2000).

O gênero *Staphylococcus* pertence à família *Micrococcaceae* e 19 espécies fazem parte desse gênero. Dessas, as consideradas importantes em microbiologia de alimentos são: *S. aureus*, *S. hyicus*, *S. intermedius* e *S. chromogens*. Entretanto o *S. aureus* é o mais freqüentemente associado às doenças estafilocócicas, provocada pela

ingestão do alimento com toxina pré-formada, as enterotoxinas A, B, C1, C2, C3, D, E, que também podem ser produzidas pelas espécies *S. hyicus*, *S. intermedius*. São veículos comuns de toxinfecção alimentar o leite, creme, tortas recheadas, saladas de batata, atum, frango, presunto, e outras carnes cozidas (FRAZIER & WESTHOFF, 1993; BLACK, 2002; FRANCO & LANDGRAF, 1996). São microrganismos gram-positivos, mesófilos, aeróbios ou anaeróbios facultativos, desenvolvem-se bem a 37° C, em um pH em torno de 7,0, não produzem esporos, podem permanecer viáveis durante semanas em refrigeração, mas são destruídos em 30 minutos a 60° C ou um minuto a 100° C. As enterotoxinas são produzidas entre 10 a 46° C, com ótimo entre 40 e 45° C. As bactérias deste gênero são tolerantes a concentrações de 10% a 20% de NaCl e a nitratos, o que torna os alimentos curados veículos potenciais para elas (KONEMAN et al., 2001)

A presença de *Staphylococcus aureus* em um alimento, representa um risco à saúde pública, pois se as toxinas forem ingeridas, causarão intoxicação alimentar. Essas enterotoxinas são resistentes ao calor e a ação das enzimas intestinais (BROOKS et al., 2000), o que é de grande importância na indústria de alimentos, já que o aquecimento não garante a inativação da toxina previamente formada, mesmo que destrua a célula vegetativa, que, por sua vez, é sensível ao calor (APHA, 2001).

Após a ingestão, a toxina atinge o intestino e causa uma reação inflamatória, inibindo a absorção de água e provocando diarreia. No entanto, a consequência mais comum da intoxicação estafilocócica é o vômito. Os sítios dessa ação parecem localizar-se no intestino. Esse estímulo é transferido através dos nervos vago e simpático ao centro do vômito, que faz parte do sistema nervoso central (SNC). O centro do vômito atua no estômago e no intestino delgado provocando o vômito (BROOKS et al., 2000; BLACK, 2002).

O período de incubação é, em média, de 1 a 6 horas após a ingestão do alimento. A intensidade dos sintomas vai variar dependendo do grau de suscetibilidade do indivíduo, concentração da enterotoxina no alimento e a quantidade de alimento ingerido. Os principais sinais e sintomas são náuseas, vômitos, câibras abdominais geralmente dolorosas, diarreia e sudorese; a doença poderá ser fatal se o indivíduo estiver debilitado (SILVA JUNIOR, 2002).

Os seres humanos e os animais são reservatórios de *Staphylococcus aureus*, estando presente na cavidade nasal, boca, trato intestinal e diversas áreas da pele, portanto os manipuladores de alimentos portadores de *Staphylococcus aureus* representam importante fonte de contaminação. Os alimentos que não foram cozidos ou refrigerados adequadamente, permanecendo em temperatura ambiente por determinado tempo, permitindo a multiplicação do microrganismo e conseqüentemente a produção da toxina termo-estável, também podem causar intoxicação, assim como equipamentos contaminados (BLACK, 2002).

Como microrganismo indicador, o *Staphylococcus aureus* no alimento indica as condições higiênicas de processamento, incluindo a superfície de contato a qual o alimento é exposto e a participação do manipulador como fonte de contaminação, tendo em vista que esse microrganismo tem como habitat natural as mãos, as fossas nasais e a boca dos seres humanos, entre outros locais (IARIA et al., 1980).

São descritos diversos surtos de intoxicação alimentar envolvendo a toxina do *Staphylococcus aureus* pré-formada no alimento (SILVA & GANDRA, 2004). PASSOS & KUAYE (1996) investigaram a ocorrência de surtos de enfermidades transmitidas por alimentos, no município de Campinas, SP. Os resultados mostraram que o *Bacillus cereus* e *Staphylococcus aureus* foram os agentes etiológicos responsáveis, respectivamente, por 68,4% e 31,6% do total dos surtos, num total de 13 surtos.

Na cidade do Rio de Janeiro, foram estudados 53 surtos que acometeram 461 pessoas, no ano de 2000. Os alimentos de origem animal representaram maior risco epidemiológico sendo responsáveis por 67,6% dos surtos. O microrganismo mais envolvido foi o *Staphylococcus aureus*, responsável pelo maior número de surtos (13%) com 8,5% dos indivíduos envolvidos. A salmonela foi responsável por 7% dos surtos, mas atingiu maior número de indivíduos (15,8%), inclusive com um óbito (FERNANDEZ et al., 2003).

2.5.3 *Escherichia coli* ENTEROPATOGÊNICA

As cepas de *E. coli* que causam doenças diarréicas agem por diferentes e distintos mecanismos patogênicos e diferem em sua epidemiologia. As linhagens de *E.*

coli que causam diarreia são divididas em cinco grupos: *E. coli* enteropatogênica clássica (EPEC), *E. coli* enterotoxogênica (ETEC), *E. coli* enteroinvasora (EIEC), *E. coli* enterohemorrágica ou produtora de verotoxina (EHEC ou VTEC) e *E. coli* enteroagregativa (EAaggEC) (FALCÃO, 1996).

As EPEC são os agentes mais frequentes de diarreia em seres humanos no Brasil, principalmente nos primeiros meses de vida. Raramente acomete os adultos e quando isso ocorre, a dose infectante é alta (OSLOVIK et al., 1991). Os mecanismos de patogenicidade estão relacionados com aderência à mucosa intestinal, promovendo uma lesão intestinal caracterizada por dissolução das bordas escovadas da membrana e da perda das microvilosidades nos locais de aderência da bactéria, interferindo com o transporte eletrolítico. Essas cepas produzem uma ou mais citoxinas (OSLOVIK et al., 1991, FALCÃO, 1996).

PETRI & ANTUNES (1989) verificaram a frequência de linhagens de *Escherichia coli* enteropatogênica clássica (EPEC) em 100 amostras de carne moída de 2ª qualidade e 93 amostras de quibe cru. Das 193 amostras, 93,78% continham *E. coli*, sendo que 8,84% apresentaram algum sorogrupo de EPEC.

As cepas enterotoxigênicas possuem a capacidade de aderir ao intestino delgado, resistindo aos movimentos peristálticos, através de antígenos superficiais específicos denominados fatores de aderência ou de colonização. Também produzem enterotoxinas termoestáveis e/ou termolábeis (OSLOVIK et al., 1991; FALCÃO, 1996).

As enteroinvasivas se ligam à mucosa do intestino grosso e invadem as células por endocitose. Dentro das células lisam o vacúolo endocítico, multiplicam-se e espalham-se para as células adjacentes causando destruição dos tecidos e inflamação, promovendo diarreia com sangue e muco (OSLOVIK et al., 1991; FALCÃO, 1996).

As *E. coli* enteroagregativas são identificadas por seu tipo de aderência às células HEp-2 que não é difusa nem localizada, mas do tipo agregativo, com aparência de tijolos empilhados, é causa comum de diarreia infantil sanguinolenta ou persistente (FALCÃO, 1996).

As *E. coli* enterohemorrágicas se caracterizam por provocarem uma diarreia sanguinolenta, mas sem febre. São produtoras de citoxinas, conhecidas como *Shiga-like*. Trata-se de uma verotoxina que, após aderir à mucosa intestinal causa um efeito

direto sobre o epitélio intestinal, resultando em diarreia. Essas cepas estão ligadas a três síndromes: A primeira é a colite hemorrágica, a segunda é a síndrome urêmica hemolítica (SHU) e a terceira é o quadro de púrpura trombocitopênica trombótica (PTT), caracterizada por anemia hemolítica microangiopática, manifestações neurológicas, insuficiência renal e febre. As EHECs são freqüentemente do sorogrupo O157:H7 (OSLOVIK et al., 1991; FALCÃO, 1996; BROOKS et al., 2000).

A cepa O157:H7 é reconhecida como um importante agente causador de doenças oriundas do consumo de carne e é caracterizada como um patógeno emergente, implicado em muitos surtos nos EUA, Canadá e Inglaterra (AL-SHEDDY et al., 1995). Causa um quadro agudo de colite hemorrágica, através da produção de grande quantidade de toxina, provocando severo dano à mucosa intestinal. Os sintomas são dores abdominais intensas e diarreia, hemorrágica na maioria dos pacientes, ocasionalmente ocorre vômitos e a febre é baixa ou ausente, a doença é auto-limitante, porém em crianças, idosos e pacientes imunocomprometidos podem desencadear a Síndrome Urêmica Hemolítica, com falência renal, que pode ser acompanhada de sintomas neurológicos e insuficiência renal crônica (BROOKS et al., 2000).

Embora surtos por *Escherichia coli* possam estar relacionados com contaminação do animal recém-abatido, a contaminação alimentar por cepas de origem humana é mais a freqüente. A maioria dos surtos por *Escherichia coli* O157:H7 descritos estão relacionados com alimentos de origem bovina, sendo a carne moída crua ou mal passada implicada em quase todos eles (OSLOVIK et al., 1991).

O Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC), no período de 1982 a 2002, investigou os surtos ocasionados por *Escherichia coli* O157:H7, nos EUA. Ocorreram 350 surtos em 49 estados, representando 8.598 casos com 1.493 (17%) de hospitalizações, 354 (4%) de casos de síndrome urêmica hemolítica e 40 mortes. A transmissão foi em 52% dos casos por alimentos e o alimento mais envolvido foi a carne moída (33%) (RANGEL et al., 2005).

O primeiro surto de *Escherichia coli* O157:H7 relacionado com carne moída mal cozida, ocorreu em 1982, afetando 47 pessoas em Oregon e Michigan, nos EUA. Os sintomas foram severa dor abdominal, inicialmente diarreia aquosa e posteriormente

diarréia com sangue com ausência ou não de febre (NASCIMENTO & STAMFORD, 2000).

No norte de Dakota, EUA, em agosto de 1990, ocorreu um surto acometendo 200 pessoas, 16 foram hospitalizadas e duas crianças desenvolveram síndrome urêmica hemolítica. Os sintomas mais comuns foram diarréias, dores abdominais, diarréias com sangue e náuseas. O surto foi relacionado com “roast beef” mal cozido, servido por um buffet em um show (CDC, 1991).

Outro surto de colite hemorrágica e síndrome urêmica hemolítica que envolveu carne moída no Noroeste dos Estados Unidos ocorreu em 1993, o agente etiológico foi a *Escherichia coli* O157:H7. Acometendo 800 vítimas em 5 estados (Califórnia, Idaho, Nevada, Oregon e Washington) e ocasionando 4 mortes (CDC, 1993; JAY, 1996).

Em julho de 1993, na Califórnia, três casos de infecção por *Escherichia coli* O157:H7 foram confirmados laboratorialmente. O surto foi relacionado ao consumo de hambúrguer mal cozido, com a bactéria sendo isolada da carne moída usada no preparo. O sintoma mais comum foi a diarréia com sangue (CDC, 1994).

Em agosto de 1994, o Departamento de Saúde da Virgínia, EUA, foi notificado que muitos campistas estavam sendo acometidos por diarréia sanguinolenta em um acampamento de verão. O agente causador da doença foi a *Escherichia coli* O157:H7, a média de idade dos acometidos foi de 12 anos, com sintomas que duraram cerca de seis dias. Sete pacientes desenvolveram diarréia sanguinolenta, três foram hospitalizados e um desenvolveu síndrome urêmica hemolítica. O surto foi relacionado a carne moída mal cozida (CDC, 1995a).

Em novembro e dezembro de 2000, foi notificado um surto de *Escherichia coli* O157:H7 pelo Departamento de Saúde de Minnesota, EUA, que associou a doença com consumo de carne moída. Durante a investigação, a Divisão de Saúde Pública de Wisconsin, EUA, confirmou laboratorialmente nove casos suspeitos, residentes de Wisconsin. (PROCTOR et al., 2002).

Outro surto envolvendo a *Escherichia coli* O157:H7 e a carne moída, ocorreu nos EUA em junho de 2002, onde houve 28 casos no Colorado e em outros 6 estados. Sete pacientes foram hospitalizados e cinco desenvolveram síndrome urêmica hemolítica (CDC, 2002b).

Foi notificado e confirmado laboratorialmente, o diagnóstico de infecção por *Escherichia coli* O157:H7 em uma criança hospitalizada em Okinawa, Japão. A criança foi hospitalizada com diarreia sanguinolenta, anteriormente, apresentou dor abdominal e febre, como alguns membros da família. O resultado da investigação mostrou que a via de transmissão foi a carne moída contaminada (CDC, 2005).

Foi avaliada a influência de algumas bactérias da microbiota normal da carne crua sobre *Escherichia coli* O157:H7, em amostras de carne bovina moída armazenadas sob refrigeração e à temperatura ambiente. Não foi observado nenhum efeito antagônico das bactérias, *E. coli* não patogênica, *Pseudomonas putida* e *Leuconostoc* sp, sobre a multiplicação de *Escherichia coli* O157:H7 em carne moída (SAAD & FRANCO, 1999).

A Argentina tem maior índice de síndrome urêmica hemolítica do mundo, recentemente a *Escherichia coli* O157:H7 foi o sorotipo predominante isolado, relacionado em falência renal em crianças. Os surtos tem sido relacionados com ingestão de carne moída contaminada (RIVAS et al., 2003).

STAMPI et al. (2004) analisaram 149 amostras de carne moída colhidas na cidade de Bologna e áreas suburbanas. A *Escherichia coli* foi encontrada em 45 amostras e, destas, três apresentaram-se contaminadas por cepas O157.

2.6 Microbiologia da Carne Moída

ALMEIDA & SCHNEIDER (1983) analisaram 70 amostras de 12 marcas diferentes de alimentos elaborados com carne moída no município de Campinas-SP. Os alimentos analisados foram recheio de pastéis, de raviólis, de “capelettis” e de croquetes, além de almôndegas, quibes e hambúrgueres. Os autores observaram que os alimentos crus (almôndegas, quibes e hambúrgueres) foram os que apresentaram maiores riscos ao consumidor por estarem altamente contaminados por *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, *Salmonella* sp, bolores e leveduras. O fato dos demais alimentos analisados terem sido preparados com carne moída pré-cozida contribuiu para a diminuição da população microbiana encontrada.

MOTTA et al. (2000) analisaram 15 amostras de carne bovina moída “in natura” comercializada em supermercados da região oeste de São Paulo, SP. Os microrganismos pesquisados foram *Salmonella* sp., *Staphylococcus aureus*, coliformes totais, coliformes termotolerantes e bactérias mesófilas. Os autores verificaram que apenas quatro amostras apresentavam-se adequadas para o consumo e que os equipamentos não foram devidamente higienizados no dia anterior, permitindo o desenvolvimento bacteriano durante a noite.

HOFFMANN et al. (1998), ao analisarem amostras de carnes e de presunto obtidas no comércio varejista da região de São José do Preto, SP, verificaram que 80% das amostras de carne não atenderam ao padrão para *Salmonella* sp estabelecido pela legislação federal (BRASIL, 2001), além de apresentarem altas contagens de bactérias aeróbias mesófilas, bolores e leveduras, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*.

JAY & MARGITIC (1981) analisaram 111 amostras de carne moída fresca e verificaram a presença de leveduras na ordem de 10^3 e de bactérias Gram negativas na ordem de 10^3 /g.

MUTTI et al. (2001) analisaram 200 amostras de carne moída e avaliaram a qualidade microbiológica. O valor médio de enterobactérias foi de $6,7 \times 10^6$ UFC/g.

EL-LEITHY & RASHAD (1989) avaliaram a qualidade de produtos oriundos da carne moída comercializada nos mercados do Egito. Os autores verificaram que em todas as amostras havia contaminação por enterobactérias com populações superiores a 100 microrganismos/g. Salmonelas estavam presentes em 11% das amostras e *Staphylococcus aureus* foram isolados em 60% delas.

PIGATTO & BARROS (2003), trabalhando com o mesmo tipo de carne, comercializada em açougues da região de Curitiba, PR, encontraram populações de *Staphylococcus* sp. superiores a 10^5 UFC/g em 66,6% das amostras e para coliformes, contagem maior que 10^5 UFC/g em 86,6% delas.

GRÜNSPAN et al. (1996) colheram dez amostras de carne moída bovina de açougues de Santa Maria, RS. Encontraram 100% das amostras positivas para *Staphylococcus aureus* e 70% das amostras apresentaram população de coliformes entre 10^3 e 10^4 UFC/g.

HEREDIA et al. (2001), ao analisarem amostras de carne moída oriundas de supermercados do México, verificaram a presença de *E. coli* em 76% delas, *Staphylococcus aureus* em 2,3% das amostras, *Listeria* sp. em 62% e *Salmonella* sp. em 11,4% das amostras, indicando condições sanitárias insatisfatórias.

Em supermercados de Pretoria (Sul da África) NORTJÉ et al. (1999) analisaram 51 amostras de carne moída encontraram bactéria aeróbias da ordem de 10^8 UFC/g além da presença de *Yersinia enterocolitica* e *Bacillus cereus*.

Segundo KHALAFALLA et al. (1993), o manuseio da carne em açougues pode expor o produto a diferentes meios de transmissão de contaminantes para alimentos. O autor observou maiores populações de microrganismos em carnes moídas oriundas de açougues do que naquelas moídas em casa, que apresentaram-se contaminadas principalmente por *Escherichia coli*, *Citrobacter freundii*, *Klebsiella pneumonia* e *Proteus vulgaris*. Já aquelas moídas no açougue, apresentavam-se contaminadas ainda por *Yersinia enterocolitica* e *Staphylococcus aureus*.

GRANER et al. (1971) avaliaram a carne moída, comercializada em Piracicaba, SP, proveniente de dois tipos de estabelecimentos: açougue, onde a carne era moída na presença do consumidor; e supermercados, com a carne já moída e exposta no balcão refrigerado. As amostras provenientes de açougues e obtidas pela manhã apresentaram os resultados mais elevados para a contagem total de mesófilos. A menor população microbiana na carne proveniente dos supermercados foi atribuída ao fato destes estabelecimentos terem melhores condições higiênico-sanitárias que os açougues. A inadequada higiene das máquinas, contaminando de forma acentuada a carne comercializada na manhã seguinte, foi o fator considerado responsável pela má qualidade da carne comercializada nos açougues.

FLORENTINO et al. (1997) verificaram a presença de salmonelas em 100% das amostras analisadas de carne moída, tanto das amostras oriundas de feiras quanto as de supermercados. As contagens de bactérias mesófilas e coliformes totais tiveram índices elevados (10^5 - 10^6 UFC/g) e as contagens de *Staphylococcus aureus* foram superiores a 10^4 UFC/g. Os autores atribuem esses elevados números às inadequadas condições higiênico-sanitárias do local de abate e também ao processo de moagem, cuja contaminação superficial é introduzida e distribuída na carne.

FERREIRA & SOBRINHO (2003) estudaram a qualidade bacteriológica das carnes bovina moída e suína (pernil) refrigeradas, em supermercados, frigoríficos e feiras livres do município de São Luís, MA. Os autores verificaram a presença de *E. coli*, *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii*, *Salmonella Typhi* e *Providencia alcalifaciens*, concluindo que a qualidade microbiológica das carnes bovina e suína, desde seu abate até sua comercialização, depende de uma série de cuidados higiênico-sanitários.

SILVA et al. (2004) analisaram a qualidade sanitária da carne moída comercializada em supermercados, feiras e açougues da cidade de João Pessoa-PB. Encontraram nível de contaminação por coliformes totais e termotolerantes de 10^3 NMP/g e a presença de *Escherichia coli* em amostras de todos os locais de venda. As contagens de bactérias aeróbias e/ou facultativas mesófilas foi de 10^5 UFC/g, as contagens de bolores e leveduras apresentaram resultados elevados, com amostras chegando a apresentar níveis de contaminação de 10^6 UFC/g.

MOUSA et al. (1993) colheram 25 amostras de carne moída em diferentes supermercados e açougues do Cairo, Egito. Encontraram os seguintes valores: para bactérias mesófilas $7,2 \times 10^8$ UFC/g, coliformes $4,9 \times 10^3$ NMP, estafilococos $1,7 \times 10^4$ UFC/g, sendo que estafilococos coagulase positivos estavam presentes em 15% das amostras, *Escherichia coli* em 33% e salmonelas estavam ausentes.

RITTER et al. (2001) analisaram a carne moída comercializada no Mercado Público de Porto Alegre, RS, colhidas em duas épocas diferentes do ano (primavera e verão). Verificaram que a época do ano não teve influência nas características microbiológicas do produto. Porém, a qualidade da carne moída se apresentava comprometida nas duas situações, tendo em vista as populações de bactérias mesófilas aeróbias, coliformes termotolerantes e *Staphylococcus aureus*.

BRITO et al. (2003) analisaram amostras de hambúrgueres e carne moída utilizada no molho de cachorro quente, comercializados por vendedores ambulantes no município de Juazeiro do Norte, CE, ambos cozidos e prontos para o consumo. As amostras de hambúrgueres apresentaram resultados negativos quanto à presença de coliformes e bolores e leveduras. As amostras de carne moída apresentaram 25% de contaminação por coliformes, não foi encontrada a presença de bolores e leveduras.

A legislação brasileira estabelece que a carne moída somente poderá ser preparada no varejo à vista do consumidor ou em estabelecimentos industriais. Neste último caso é previsto que ela deve ser embalada em pacotes de no máximo um quilograma. Se o destino for uso hospitalar, escolar, cozinhas industriais, instituições, etc., poderão ser admitidas embalagens com peso superior, porém sua espessura deverá ser igual ou menor que 15 centímetros, não sendo permitida a sua venda no varejo (BRASIL, 2003).

Muito embora a legislação somente permita a moagem da carne no varejo à vista do consumidor, é prática rotineira a exposição e comercialização de carne previamente moída, mantida em balcões refrigerados.

3. OBJETIVOS

A presente pesquisa teve por objetivo:

- Avaliar físico-química e microbiologicamente a carne bovina moída na presença do consumidor e a previamente moída e mantida em balcões refrigerados, comercializadas na cidade de Jaboticabal, SP, através da realização de:

- Contagem padrão em placas de microrganismos heterotróficos, aeróbios ou facultativos, mesófilos e psicrotróficos viáveis;

- Determinação do número mais provável de coliformes totais, termotolerantes e *Escherichia coli*;

- Contagem de bolores e leveduras;

- Contagem de *Staphylococcus* coagulase positivos;

- Presença de *Staphylococcus aureus*;

- Pesquisa de *Salmonella*;

- Determinação do pH, amônia, H₂S e capacidade de retenção de água para verificar o estado de conservação da carne;

- Comparar a qualidade higiênico-sanitária e físico-química da carne moída na presença do consumidor e da previamente moída e mantida em balcões refrigerados;

- Fazer um estudo comparativo entre os resultados das determinações físico-químicas e microbiológicas usados na avaliação do estado de conservação de carnes;

- Comparar os resultados com a legislação vigente.

4. MATERIAL E MÉTODOS

Para a realização do presente estudo foram colhidas 60 amostras de carne bovina moídas, adquiridas em diferentes supermercados e açougues de Jaboticabal, SP.

As amostras tinham aproximadamente 500 gramas, embaladas na forma tradicional de venda, analisando-se 30 amostras para cada um dos processos, carne moída no momento da colheita (processo 1) e carne previamente moída (processo 2), armazenada em balcões refrigerados. Imediatamente após a colheita, as amostras embaladas foram colocadas em sacos plásticos e acondicionadas em caixas isotérmicas contendo blocos de gelo e remetidos ao laboratório para análise.

As análises foram realizadas no Laboratório de Microbiologia de Alimentos e Água do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal da FCAV/UNESP, imediatamente após a sua chegada.

4.1 Determinações microbiológicas

4.1.1. Preparo das diluições das amostras

De cada amostra foram pesados, assepticamente, 25 gramas de carne, que foram colocados em 225 mL de água peptonada a 0,1 % esterilizada e após homogeneização em aparelho Stomacher¹, obteve-se a diluição inicial 10^{-1} . A seguir, foram preparadas diluições decimais até 10^{-6} , empregando-se 1mL da diluição anterior e 9 mL do diluente (APHA, 2001)

¹ Stomacher marca Marconi

4.1.2 Contagem padrão de microrganismos heterotróficos aeróbios ou facultativos, mesófilos e psicrotróficos viáveis (APHA, 2001; ICMSF, 2000)

Nestas determinações, 1 mL de cada diluição foi depositado no fundo de placas de Petri esterilizadas, em quadruplicata, distribuídas em duas séries. Em seguida, foram adicionados de 15 a 17 mL de ágar padrão para contagem (PCA) fundido e resfriado a temperatura em torno de 45°C.

Após homogeneização e solidificação do ágar em temperatura ambiente, duas séries de placas foram incubadas a 35°C por 48 horas para a contagem de mesófilos e as duas outras séries foram incubadas a 7°C por 10 dias em incubadora para B.O.D., para a contagem de psicrotróficos.

As contagens foram realizadas em contador de colônias, segundo a técnica padrão, preferencialmente em placas com 25 a 250 colônias. A média do número das colônias contadas nas placas em duplicata, multiplicado pelo fator de diluição das placas correspondentes, forneceu o número de microorganismos mesófilos e psicrotróficos por grama da amostra analisada.

4.1.3 Determinação do número mais provável (NMP) de coliformes totais/grama (APHA, 2001)

4.1.3.1 Teste presuntivo: a partir das diluições 10^{-1} a 10^{-5} , foram inoculados com 1 mL, respectivamente, três tubos de caldo lauril sulfato triptose com tubo de Durham invertido. Após a inoculação estes tubos foram incubados a 35°C por 24 a 48 horas e considerados positivos aqueles que se revelaram com desenvolvimento bacteriano e produção de gás.

4.1.3.2 Teste confirmativo: de cada tubo positivo, no teste presuntivo, foi transferida, com alça de níquel-cromo de 3 mm de diâmetro, uma alçada da cultura para tubos correspondentes contendo caldo lactose-verde brilhante-bile a 2% e tubo de Durham invertido. A incubação foi realizada a 35°C por 24 a 48 horas e foram

considerados positivos os tubos que revelaram desenvolvimento bacteriano e produção de gás.

Para efeito de interpretação dos resultados, dentro das cinco séries inoculadas inicialmente, foram consideradas três séries consecutivas, a partir da maior diluição que apresentou os três tubos positivos. De acordo com o número de tubos positivos e empregando-se a tabela de Hoskins foi determinado o NMP de coliformes totais por grama da amostra.

4.1.4 Determinação do NMP de coliformes termotolerantes e *Escherichia coli* (APHA, 2001; ICMSF, 2000).

4.1.4.1 Coliformes termotolerantes: a partir de cada tubo de caldo lauril sulfato triptose com resultado positivo no teste presuntivo para coliformes totais, foram inoculados, com uma alçada, tubos correspondentes contendo caldo EC e tubo de Durhan invertido. A incubação foi realizada em banho-maria a $45,5 \pm 0,2^\circ\text{C}$ por 24 ± 2 horas e considerados positivos os tubos com crescimento bacteriano e presença de gás. O resultado foi obtido comparando-se os números de tubos positivos com os dados da tabela de Hoskins, sempre considerando três diluições consecutivas a partir da maior diluição com três tubos positivos.

4.1.4.2 Escherichia coli: A partir dos tubos com caldo EC que apresentaram resultados positivos para coliformes termotolerantes, foram semeadas placas de ágar eosina-azul de metileno (EAM) que, em seguida, foram incubadas a 35°C por 24 horas. Após a incubação, as colônias sugestivas de pertencerem à espécie *Escherichia coli*, caracterizada por se revelarem, preferencialmente, de cor negra, chata, seca e com brilho metálico, foram isoladas e semeadas em ágar nutriente inclinado. Com o crescimento em ágar nutriente, obtido após incubação a 35°C por 24 horas, foram preparados esfregaços corados pelo método de Gram, para a verificação da morfologia bacteriana. Uma vez constatada a presença de bacilos Gram-negativos, em cultura pura, estes foram semeados em meios para a identificação bioquímica através das provas do IMViC, ou seja: produção de indol (I), do Vermelho de Metila

(VM), de Voges-Proskauer (VP) e do aproveitamento de citrato (C). Na realização destas provas foi adotada a metodologia descrita por Mac FADDIN (1976).

4.1.5 Contagem de *Staphylococcus* coagulase positivo e pesquisa de *Staphylococcus aureus* (APHA, 2001; ICMSF, 2000).

Das diluições 10^{-1} a 10^{-4} , retirou-se uma alíquota de 0,2 mL que foi depositado em placas com ágar Baird-Parker, em duplicata e, a seguir, empregando-se alça de Drigalski estéril, foi procedida a distribuição do inóculo por toda a superfície do meio. Em seguida, as placas foram incubadas a 35°C por 24 a 48 horas.

Após a incubação, foram contadas, nas placas contendo de 20 a 200 colônias, separadamente, as colônias negras, brilhantes, com zona de precipitação ao redor e circundadas ou não por halo claro, e as que se apresentavam somente negras e brilhantes.

A seguir, 3 a 5 colônias de cada tipo foram semeadas em tubos com ágar nutriente inclinado, que então foram incubados a 35°C por 24 horas. Após a incubação, foram preparados esfregaços corados pelo método de Gram e as cepas que se apresentavam em forma de cocos Gram-positivos e agrupados em forma de cachos de uva foram submetidas às provas da catalase e fermentação da glicose (O/F), para a confirmação do gênero.

As cepas que apresentavam resultados positivos nas provas confirmativas do gênero *Staphylococcus* foram submetidas à prova da coagulase livre. O resultado final da contagem de *Staphylococcus* coagulase positivo foi obtido com base no resultado desta prova, proporcionalmente ao número de colônias contadas na placa, multiplicado por cinco e pelo fator de diluição.

Dentre as cepas coagulase positivas foi confirmada a presença de *Staphylococcus aureus* através das provas da fermentação do manitol em anaerobiose e da produção de acetoina (VP) (Mac FADDIN 1976; KLOOS, 1990).

4.1.6 Contagem de bolores e leveduras (APHA, 2001)

Das diluições 10^{-1} a 10^{-3} retirou-se uma alíquota de 0,1mL que foi depositado em placas com ágar extrato de malte. A seguir, empregando-se alça de Drigalski estéril, foi procedida a distribuição do inóculo por toda a superfície do meio. Em seguida as placas foram mantidas em incubadora para BOD a 25°C por 3 a 5 dias. A média do número de colônias contadas nas placas multiplicada por 10 e pelo fator de diluição e forneceu o número de bolores e leveduras por grama de carne moída.

4.1.7 Isolamento de bactérias do gênero *Salmonella* (APHA, 2001; ICMSF, 2000)

4.1.7.1 Pré-enriquecimento: de cada amostra foram retirados, assepticamente, 25 gramas e adicionados a 225 mL de água peptonada a 0,1%. Após homogeneização em aparelho Stomacher, o conjunto permaneceu em repouso por 6 horas à temperatura ambiente. A seguir, procedeu-se a incubação a 37°C por 18 horas, após o qual foi realizado o enriquecimento seletivo.

4.1.7.2 Enriquecimento seletivo: nesta fase, duas alíquotas de 2 mL cada, da cultura de pré-enriquecimento, foram inoculadas, respectivamente, em 20 mL de caldo selenito cistina e em 20 mL de caldo Rappaport-Vassiliadis, adicionados de 0,2 mL de uma solução de novobiocina a 0,4%, dando uma concentração de 40 microgramas do princípio ativo por mililitro do meio (PESSOA & PEIXOTO, 1971). Em seguida, os caldos seletivos foram incubados a 37°C por 24 horas.

4.1.7.3 Plaqueamento seletivo: com auxílio de alça de níquel-cromo, cada cultura em caldo de enriquecimento foi semeada pela técnica de esgotamento, em ágar verde-brilhante e ágar MacConkey, seguido de incubação a 37°C por 24 horas.

4.1.7.4 Identificação presuntiva: Das culturas obtidas no plaqueamento seletivo foram tomadas, com auxílio de uma agulha de níquel-cromo, previamente

flambada, de cada uma das placas semeadas, 3 a 5 colônias com características sugestivas do gênero *Salmonella* e inoculadas em tubos contendo meio TSI e meio para a realização da prova da descarboxilação da lisina.

4.1.7.5 Confirmação sorológica: a confirmação do gênero seria realizada através de testes sorológicos com soros polivalentes anti-salmonela somáticos e flagelares. Para tal, os cultivos que na identificação presuntiva apresentassem reações condizentes com o gênero seriam transferidos, com alça de níquel-cromo, para lâminas de vidro contendo gotas de solução fisiológica. Após a homogeneização de cada cultura, seria acrescentada uma gota de soro anti-salmonela polivalente somático-O, seguido de movimentação da lâmina e leitura. Ocorrendo aglutinação na mistura a prova seria considerada positiva. O mesmo procedimento seria realizado para o teste com o soro polivalente flagelar-H. Seria considerado como do gênero *Salmonella* o cultivo que apresentasse positividade em ambas as provas, que seriam sempre acompanhadas com soros ou culturas padrões positivas e negativas.

4.1.7.6 Sorotipagem: as cepas de *Salmonella sp* isoladas seriam semeadas em ágar gelose e incubadas a 37°C por 24 horas. Após este período, seriam embaladas e enviadas ao Instituto Adolfo Lutz em São Paulo, para a tipagem.

4.2. Determinações físico- químicas (BRASIL, 1981)

4.2.1 Prova de Filtração

Para a realização da prova, foram colocados 10g das amostras homogeneizadas em Erlenmeyer, e adicionados 100ml de água destilada. Após agitação vigorosa por 15 minutos, a mistura foi filtrada em papel de filtro Whatman nº1 cronometrando-se o tempo. A prova da filtração foi realizada com o objetivo de verificar o tempo necessário para a passagem do extrato aquoso da carne por um papel de filtro padronizado. Os produtos solúveis da decomposição de proteínas condicionam lentidão na filtração. A qualidade da carne, baseada no tempo necessário para a filtração, está descrita a seguir:

5 minutos: carne fresca e sã, boa para consumo

6-10 minutos: carne de média conservação

10 minutos ou mais: carne suspeita, provavelmente alterada.

4.2.2. Determinação do pH

A determinação do pH foi feita através do método potenciométrico, utilizando-se 50g de cada amostra homogeneizada com 10mL de água destilada, com pH 7,0.

4.2.3 Pesquisa de amônia – Prova de Nessler

Foram colocados em tubos de ensaio 2mL do reagente de Nessler; em seguida acrescentou-se 10 gotas do filtrado obtido na prova de filtração (4.2.1) e observando-se a coloração. Nesta prova, o filtrado é misturado com o reagente de Nessler que tem a capacidade de reagir com o radical amônio (derivado da proteólise), formando um complexo de coloração amarela.

Prova negativa: amarelo- esverdeado

Prova positiva: amarelo, podendo ir até alaranjado.

4.2.4 Pesquisa de H₂S

A prova baseia-se na decomposição de aminoácidos sulfurados com liberação de enxofre. Este, em meio ácido, transforma-se em H₂S, que combinado com acetato de chumbo produz sulfeto de chumbo, enegrecendo o papel. A prova foi realizada colocando-se 10g das amostras homogeneizadas com 25mL de água destilada em um Erlenmeyer de 125ml. Em seguida, colocou-se uma tira de papel de acetato de chumbo preso à tampa do frasco e submeteu-se o conjunto em banho-maria fervente por 10 minutos. Ao final do período verificou-se a coloração do papel.

Considerou-se diferentes graus de produção de sulfeto de chumbo, de acordo com o grau de enegrecimento do papel. Assim, uma cruz (+) significa pouca produção de sulfeto de chumbo e três cruzeiros (+++), muita produção.

4.3 Análise Estatística

Os dados das análises microbiológicas e físico-químicas obtidos nos dois tipos de amostras foram enquadrados em um delineamento inteiramente casualizado e submetidos à análise de variância pelo teste F (STEEL & TORRIE, 1960).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 estão apresentados os resultados da contagem padrão em placas de microrganismos heterotróficos aeróbios ou facultativos mesófilos viáveis. Observa-se que a população microbiana de mesófilos encontrada variou de $1,0 \times 10^3$ a $1,0 \times 10^8$ UFC/g e que a maioria das amostras analisadas (75,0%) apresentou populações de mesófilos entre $1,0 \times 10^4$ e $1,0 \times 10^6$ UFC/g. Não houve diferença significativa entre os dois processos, segundo o teste “t”, muito embora observa-se pelas médias que o processo 2 (carne previamente moída), apresentava o triplo da população do processo 1 (carne moída na presença do consumidor).

Tabela 1. Distribuição do total de amostras de carne moída na presença do consumidor e daquela previamente moída e exposta à venda, adquiridas na cidade de Jaboticabal/SP, segundo o intervalo de variação da contagem padrão em placas de microrganismos heterotróficos aeróbios ou facultativos mesófilos viáveis, bem como valores médios das populações e o resultado do teste “t”. Jaboticabal, 2004.

População (UFC/g)	Número de amostras (%)		Total (%)	Valor de “t”
	Processo 1* (%)	Processo 2** (%)		
$1,0 \times 10^3$ I— $1,0 \times 10^4$	1 (3,3)	1 (3,3)	2 (3,3)	
$1,0 \times 10^4$ I— $1,0 \times 10^5$	11 (36,7)	10 (33,3)	21 (35,0)	
$1,0 \times 10^5$ I— $1,0 \times 10^6$	12 (40,0)	12 (40,0)	24 (40,0)	
$1,0 \times 10^6$ I— $1,0 \times 10^7$	5 (16,7)	4 (13,4)	9 (15,0)	
$1,0 \times 10^7$ I— $1,0 \times 10^8$	1 (3,3)	3 (10,0)	4 (6,7)	
Média (UFC/g)	$2,1 \times 10^6$	$6,3 \times 10^6$		1,160 ^{NS}

* Processo 1 – Carne moída na presença do consumidor

** Processo 2 – Carne previamente moída

NS- Não significativo

Resultados semelhantes ao presente estudo foram encontrados por HEREDIA et al. (2001), que ao analisarem 88 amostras de carne moída, encontraram populações de mesófilos da ordem de 10^4 a 10^6 UFC/g. FLORENTINO et al. (1997) observaram em 60

amostras de carne moída a presença desses microrganismos em números elevados com valores médios de $2,6 \times 10^6$ UFC/g para as amostras provenientes de feiras livres, e de $2,5 \times 10^5$ para as de supermercados.

MOTTA et al. (2000) ao analisarem 15 amostras de carne moída, verificaram que 60% das amostras apresentaram contagem superior a 10^6 UFC/g e 13% superior a 10^7 UFC/g.

Em supermercados e açougues do Cairo, MOUSA et al. (1993), encontraram populações altas de mesófilos, valores maiores que encontrados no presente trabalho, com populações maiores que 10^8 UFC/g, indicando condições higiênico-sanitárias inadequadas.

Na Tabela 2 pode-se verificar que a população de microrganismos heterotróficos aeróbios ou facultativos psicrotróficos viáveis variou de $1,0 \times 10^4$ a $1,0 \times 10^9$ UFC/g. A maioria das amostras (88,3%) apresentaram populações entre $1,0 \times 10^5$ e $1,0 \times 10^8$ UFC/g. Não houve diferença significativa pelo teste “t” entre as amostras adquiridas previamente moídas e aquelas moídas na presença do consumidor. Os resultados confirmam a importância dos psicrotróficos em alimentos refrigerados.

Resultados semelhantes foram encontrados por SILVA JÚNIOR (1985), em que 48% das amostras de carne moída apresentaram contagens de psicrotróficos na ordem de 10^7 e 10^8 UFC/g e 40% das amostras na ordem de 10^8 a 10^9 UFC/g. A maioria das amostras era oriunda de carne previamente moída e exposta à venda no em balcões refrigerados. Por outro lado, algumas foram moídas no ato da compra, porém originárias de carnes picadas que se encontravam em bandejas sobre os balcões ou ao lado dos moedores, expostas e sem refrigeração, favorecendo a multiplicação de microbiana.

Tabela 2. Distribuição do total de amostras de carne moída na presença do consumidor e aquela previamente moída e exposta à venda, adquiridas na cidade de Jaboticabal/SP, segundo o intervalo de variação da contagem padrão em placas de microrganismos heterotróficos aeróbios ou facultativos psicrotróficos viáveis, bem como valores médios das populações e resultado do teste “t”. Jaboticabal, 2004.

População (UFC/g)	Número de amostras (%)		Total (%)	Valor de “t”
	Processo 1* (%)	Processo 2** (%)		
$1,0 \times 10^4$ – $1,0 \times 10^5$	2 (6,7)	1 (3,3)	3 (5,0)	
$1,0 \times 10^5$ – $1,0 \times 10^6$	11 (36,7)	10 (33,3)	21 (35,0)	
$1,0 \times 10^6$ – $1,0 \times 10^7$	10 (33,3)	8 (26,7)	18 (30,0)	
$1,0 \times 10^7$ – $1,0 \times 10^8$	5 (16,6)	9 (30,0)	14 (23,3)	
$1,0 \times 10^8$ – $1,0 \times 10^9$	2 (6,7)	2 (6,7)	4 (6,7)	
Média (UFC/g)	$2,3 \times 10^7$	$2,7 \times 10^7$		0,3201 ^{NS}

* Processo 1 – Carne moída na presença do consumidor

** Processo 2 – Carne previamente moída

NS- Não significativo

Na Tabela 3 encontra-se o número mais provável de coliformes totais (NMP) por grama das amostras de carne moída analisadas. Verifica-se que quase 70,0% das amostras apresentaram populações de coliformes totais inferiores a $1,0 \times 10^2$ NMP/g, sendo a média das populações da ordem de 10^3 e 25% das amostras apresentaram populações maiores que 10^3 . Não houve diferença significativa entre os dois processos, segundo o teste “t”.

A Legislação brasileira não estabelece limites de tolerância para o grupo dos coliformes totais em carne moída. Entretanto, a presença desse microrganismo indica condições higiênico-sanitárias deficientes, colocando em risco a saúde dos consumidores desses produtos.

Tabela 3. Distribuição do total de amostras de carne moída na presença do consumidor e daquela previamente moída e exposta à venda, adquiridas na cidade de Jaboticabal/SP, segundo o intervalo de variação do número mais provável (NMP) de coliformes totais, bem como valores médios das populações e resultado do teste “t”. Jaboticabal, 2004.

População (NMP/g)	Número de amostras (%)		Total (%)	Valor de “t”
	Processo 1* (%)	Processo 2** (%)		
< 0,3 l— $1,0 \times 10^2$	18 (60,0)	22 (73,4)	40 (66,7)	
$1,0 \times 10^2$ l— $5,0 \times 10^2$	4 (13,3)	1 (3,3)	5 (8,3)	
$5,0 \times 10^2$ l— $1,0 \times 10^3$	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	
> $1,0 \times 10^3$	8 (26,7)	7 (23,3)	15 (25,0)	
Média (NMP/g)	$2,0 \times 10^3$	$5,1 \times 10^3$		0,829 ^{NS}

* Processo 1 – Carne moída na presença do consumidor

** Processo 2 – Carne previamente moída

NS- Não significativo

Todas as amostras que apresentaram desenvolvimento de coliformes totais foram submetidas à determinação do NMP de coliformes termotolerantes, cujos resultados são apresentados na Tabela 4. Pode observar que 76,7% das amostras apresentaram populações inferiores a $1,0 \times 10^2$ NMP/g e 23,3% populações de maiores que $1,0 \times 10^3$ NMP/g. Não houve diferença significativa entre os dois processos, segundo o teste “t”.

Tabela 4. Distribuição do total de amostras de carne moída na presença do consumidor e daquela previamente moída e exposta à venda, adquiridas na cidade de Jaboticabal/SP, segundo o intervalo de variação do número mais provável (NMP) de coliformes termotolerantes, bem como valores médios das populações e resultado do teste “t”. Jaboticabal, 2004.

População (NMP/g)	Número de amostras (%)		Total (%)	Valor de “t”
	Processo 1* (%)	Processo 2** (%)		
< 0,3 l— 1,0x10 ²	21 (70)	25 (83,4)	46 (76,7)	
1,0x10 ² l— 5,0x10 ²	5 (16,7)	1 (3,3)	6 (10,0)	
5,0x10 ² l— 1,0x10 ³	4 (13,3)	4 (13,3)	8 (13,3)	
Média (NMP/g)	1,2x10 ³	4,0x10 ³		0,734 ^{NS}

* Processo 1 – Carne moída na presença do consumidor

** Processo 2 – Carne previamente moída

NS- Não significativo

As amostras positivas para a presença de coliformes termotolerantes foram também submetidas à determinação do NMP de *Escherichia coli*. Na Tabela 5 constata-se que a maioria das amostras (90,0%) apresentaram populações de até 1,0x10² NMP/g. No entanto, salienta-se o fato de três amostras (5,0%) terem apresentado populações de *E.coli* superiores a 1,0x10³ NMP/g. Semelhantemente não houve diferença significativa, pelo teste “t”, entre os dois processos.

Tais resultados provavelmente estejam relacionados com as condições precárias de higiene, manipulação e refrigeração dos locais de vendas onde foram colhidas as amostras, as quais favoreceram a multiplicação dos microrganismos existentes no produto. Resultados semelhantes foram obtidos por CAMARGO et al. (1981), COSTA et al. (2000) e PIGATTO & BARROS (2003) em seus estudos com amostras de carne moída provenientes de diferentes origens, uma vez que todos os autores citados encontraram populações de *Escherichia coli* iguais ou superiores a 1,0x10² UFC/g. Os autores comentam ainda que seus resultados sejam devidos aos mesmos fatores observados neste estudo, ou seja, condições higiênico-sanitárias inadequadas.

Tabela 5. Distribuição do total de amostras de carne moída na presença do consumidor e daquela previamente moída e exposta à venda, adquiridas na cidade de Jaboticabal/SP, segundo o intervalo de variação do número mais provável (NMP) de *Escherichia coli*, bem como valores médios das populações e resultado do teste “t”. Jaboticabal, 2004.

População (NMP/g)	Número de amostras (%)		Total (%)	Valor de “t”
	Processo 1* (%)	Processo 2** (%)		
< 0,3 l— $1,0 \times 10^2$	27 (90,0)	27 (90,0)	54 (90,0)	
$1,0 \times 10^2$ l— $5,0 \times 10^2$	2 (6,7)	1 (3,3)	3 (5,0)	
$5,0 \times 10^2$ l— $1,0 \times 10^3$	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	
$> 1,0 \times 10^3$	1 (3,3)	2 (6,7)	3 (5,0)	
Média (NMP/g)	$1,2 \times 10^2$	$1,4 \times 10^2$		0,241 ^{NS}

* Processo 1 – Carne moída na presença do consumidor

** Processo 2 – Carne previamente moída

NS- Não significativo

Ainda na Tabela 5 pode-se notar que 90% das amostras analisadas apresentaram populações de *Escherichia coli* de até 1×10^2 UFC/g. Dados semelhantes foram encontrados por HEREDIA et al. (2001), uma vez que observaram a presença de *Escherichia coli* em 76% das amostras. PETRI e ANTUNES (1989) em Londrina, PR, examinaram 100 amostras de carne moída e 93 amostras de quibe cru, verificando a presença de *Escherichia coli* em 93,78% das 193 amostras, sendo que 8,84% apresentavam algum sorogrupo pertencente a linhagens de *Escherichia coli* enteropatogênica (EPEC).

Na Tabela 6 são apresentados os dados relativos às populações de bolores e leveduras. Nota-se que em praticamente todas as amostras (96,7%) encontrou-se populações de bolores e leveduras que variaram de $1,0 \times 10^2$ a $1,0 \times 10^5$ UFC/g. A maioria (76,7%) das amostras apresentou populações entre $1,0 \times 10^3$ e $1,0 \times 10^5$ UFC/g. Pode-se notar que a média da população de bolores e leveduras do processo um é quatro vezes maior que a do processo dois, mesmo não havendo diferença significativa pelo teste “t”.

Tabela 6. Distribuição do total de amostras de carne moída na presença do consumidor e daquela previamente moída e exposta à venda, adquiridas na cidade de Jaboticabal/SP, segundo o intervalo de variação da contagem de bolores e leveduras, bem como valores médios das populações e resultado do teste “t”. Jaboticabal, 2004.

População (UFC/g)	Número de amostras (%)		Total (%)	Valor de “t”
	Processo 1* (%)	Processo 2** (%)		
$1,0 \times 10^2$ – $1,0 \times 10^3$	7 (23,3)	5 (16,7)	12 (20,0)	
$1,0 \times 10^3$ – $1,0 \times 10^4$	16 (53,3)	13 (43,3)	29 (48,4)	
$1,0 \times 10^4$ – $1,0 \times 10^5$	16 (53,3)	12 (40,0)	17 (28,3)	
$1,0 \times 10^5$ – $1,0 \times 10^6$	2 (6,7)	0 (0,0)	2 (3,3)	
Média (UFC/g)	$4,8 \times 10^4$	$1,2 \times 10^4$		1,15 ^{NS}

* Processo 1 – Carne moída na presença do consumidor

** Processo 2 – Carne previamente moída

NS- Não significativo

Valores semelhantes ao referente trabalho foram observados por JAY & MARGITIC (1981), FLORENTINO et al. (1997) e SILVA et al. (2004), os quais encontraram em suas análises de carne moída provenientes de diferentes origens valores de populações de bolores e leveduras da ordem de 10^6 a 10^7 UFC/g, 10^4 e 10^3 UFC/g e 10^5 UFC/g, respectivamente.

Cabe salientar que a legislação brasileira não estabelece limites para bolores e leveduras em carne moída. Entretanto, esse grupo de microrganismos pode produzir micotoxinas, além de agir acelerando a deterioração dos alimentos. Eles também podem apresentar-se como patógenos oportunistas levando ao desenvolvimento de problemas dermatológicos, respiratórios e/ou alérgicos. As elevadas populações são indicativas de precárias condições de operações de processamento de alimentos (SILVA et al., 2004).

Na Tabela 7 são apresentados os resultados das contagens do gênero *Staphylococcus* nos dois processos de obtenção da carne moída, enquanto que na Tabela 8 são apresentadas as contagens de *Staphylococcus* coagulase positivo. Todos os *Staphylococcus* coagulase positivo isolados confirmaram-se como pertencentes à espécie *Staphylococcus aureus* como pode ser visto na Tabela 9.

Os dados da Tabela 7 mostram que todas as amostras analisadas apresentaram-se positivas para o gênero *Staphylococcus*, sendo que 50 (83,3%) tinham população variando de $1,0 \times 10^3$ a $1,0 \times 10^5$ UFC/g. Confirmaram-se com a presença de *Staphylococcus* coagulase positivo 15 (25%) amostras (Tabela 8), cuja população foi de, no mínimo, $1,0 \times 10^2$ UFC/g. Salienta-se que uma amostra de carne previamente moída apresentou população superior a $1,0 \times 10^5$ UFC/g (Tabela 8). As 15 amostras com *Staphylococcus* coagulase positivo confirmaram-se contaminadas com *Staphylococcus aureus* (Tabela 9).

Quando o *Staphylococcus aureus* está em números inferiores a 10^3 UFC/g, pode indicar condições higiênicas inapropriadas e/ou o processamento deficiente, por se tratar de uma bactéria procedente de manipulação humana inadequada; em números de 10^3 a 10^4 UFC/g, pode significar risco à saúde pública, enquanto que valores próximos a 10^5 UFC/g indica risco epidemiológico, porque esse é o número compatível com o início da produção de enterotoxina, se a linhagem em questão for capaz de produzi-la (ICMSF, 2000).

Embora a carne bovina moída normalmente receba tratamento térmico antes de ser consumida, o risco de intoxicação não está descartado, pois a toxina elaborada pelo *Staphylococcus aureus* é termoestável e um tratamento térmico de 100°C por 30 minutos nem sempre é suficiente para inativá-la.

Tabela 7. Distribuição do total de amostras de carne moída na presença do consumidor e daquela previamente moída e exposta à venda, adquiridas na cidade de Jaboticabal/SP, segundo o intervalo de variação da contagem de *Staphylococcus* sp, bem como valores médios das populações e resultado do teste "t". Jaboticabal, 2004.

População (UFC/g)	Número de amostras (%)		Total (%)	Valor "t"
	Processo 1* (%)	Processo 2** (%)		
$1,0 \times 10^3$ — $1,0 \times 10^4$	15 (50,0%)	11 (36,6%)	26 (43,3%)	
$1,0 \times 10^4$ — $1,0 \times 10^5$	10 (33,3%)	14 (46,7%)	24 (40,0%)	
$\geq 1,0 \times 10^5$	5 (16,7%)	5 (16,7%)	10 (16,7%)	
Média (UFC/g)	$9,2 \times 10^4$	$5,4 \times 10^5$		0,897 ^{NS}

* Processo 1 – Carne moída na presença do consumidor

** Processo 2 – Carne previamente moída

NS- Não significativo

Tabela 8. Distribuição do total de amostras de carne moída na presença do consumidor e daquela previamente moída e exposta à venda, adquiridas na cidade de Jaboticabal/SP, segundo o intervalo de variação da contagem de *Staphylococcus* coagulase positivo. Jaboticabal, 2004.

População (UFC/g)	Número de amostras (%)		Total (%)
	Processo 1* (%)	Processo 2** (%)	
$1,0 \times 10^2$ — $1,0 \times 10^3$	2 (6,7%)	0 (0,0%)	2 (3,3%)
$1,0 \times 10^3$ — $1,0 \times 10^4$	3 (10,0%)	4 (13,3%)	7 (11,7%)
$1,0 \times 10^4$ — $1,0 \times 10^5$	2 (6,7%)	3 (10,0%)	5 (8,3%)
$\geq 1,0 \times 10^5$	0 (0,0%)	1 (3,3%)	1 (1,75)
TOTAL	7 (23,4%)	8 (26,6%)	15 (25,0%)

* Processo 1: carne moída na presença do consumidor

** Processo 2: carne previamente moída

Tabela 9. Distribuição do total de amostras de carne moída na presença do consumidor e daquela previamente moída e exposta à venda, adquiridas na cidade de Jaboticabal/SP, segundo a presença de *Staphylococcus aureus*. Jaboticabal, 2004.

<i>Staphylococcus aureus</i>	Número de amostras (%)		Total (%)
	Processo 1* (%)	Processo 2** (%)	
Presença	7 (23,3)	8 (26,7)	15 (25,0)
Ausência	23 (76,7)	22 (73,3)	45 (75,0)
TOTAL	30	30	60

*Processo 1: carne moída na presença do consumidor

**Processo 2: carne previamente moída

O valor da população para o gênero *Staphylococcus* encontrado neste estudo é semelhante ao encontrado por MOUSA et al. (1993), os quais observaram média de contagem de *Staphylococcus* sp. na ordem de 10^4 UFC/g em 25 amostras de carne moída de diferentes supermercados e açougues do Cairo.

Os valores para *Staphylococcus aureus* também foram semelhantes aos encontrados por diversos outros autores. EL-LEITHY e RASHAD (1989), ao analisar 100 amostras de carne moída e seus produtos (carne moída fresca, carne moída congelada, hambúrguer, almôndega e almôndega com arroz), observaram populações de *Staphylococcus aureus* da ordem de 10^2 UFC/g. PIGATTO & BARROS (2003) analisaram 60 amostras de carne moída e verificaram em 66,6% das amostras contagens superiores a 10^5 UFC/g para *Staphylococcus aureus*. GRÜNSPAN et al. (1996) verificaram a presença deste microrganismo em 100% das amostras analisadas com contagens entre 10^3 e 10^5 UFC/g.

SOUZA et al. (2000) confirmaram a presença de *Staphylococcus aureus* em duas das 30 amostras de carne moída analisadas, com contagens de 3×10^3 e superior a $3,0 \times 10^5$ UFC/g. Os autores comentam que, apesar da positividade em duas amostras, o valor superior a $3,0 \times 10^5$ encontrado em apenas uma delas, pode ser capaz de produzir toxina termoestável em níveis suficientes para desencadear intoxicação em humanos, desde que haja a presença de cepas toxigênicas nessa amostra.

O presente trabalho também teve como objetivo verificar a possível presença de salmonelas nas amostras de carne moída. No entanto, nenhuma das amostras analisadas apresentou-se contaminada com tal microrganismo.

Resultados semelhantes foram obtidos por MOUSA et al. (1993), que verificaram ausência do gênero *Salmonella* em 25 amostras de carne moída comercializadas em açougues e supermercados.

MOTTA et al. (2000) e FERREIRA & SOBRINHO (2003) observaram a presença de *Salmonella* em apenas uma das amostras analisadas de carne moída colhidas em feiras livres, supermercados e frigoríficos.

Entretanto, FLORENTINO et al. (1997) e HOFFMANN et al. (1998) verificaram a presença de *Salmonella* em 100% e 80%, respectivamente, das amostras de carne moída colhidas em supermercados e feiras.

ALMEIDA et al. (2002), em trabalho conduzido no município do Rio de Janeiro, demonstraram haver uma maior contaminação de amostras moídas quando comparadas à peças inteiras de carne. Foram adquiridas, em estabelecimentos comerciais, 20 amostras de carne bovina. Estas foram divididas, no próprio estabelecimento, em duas porções, totalizando 40 amostras (20 peças inteiras e 20 moídas). Das 20 amostras de carne inteira, três (15%) eram positivas para salmonelas, porém, das 20 amostras de carne moídas, cinco (25%) apresentavam-se positivas para esse microrganismo. Através desse trabalho os autores concluíram que a moagem favorece a instalação e multiplicação de bactérias, muitas vezes patogênicas, pois aumenta a superfície de contato e proporciona a passagem de resíduos de moagens anteriores para contaminações subseqüentes.

A presença de altos números dos microrganismos pesquisados nos dois processos de obtenção da carne moída pode revelar que as condições de manipulação e conservação não eram adequadas, quanto a condutas higiênico-sanitárias.

Entretanto os resultados obtidos neste estudo para salmonelas indicam que as amostras de carne moída analisadas estão todas em conformidade com a Resolução – RDC n. 12 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001), a qual determina ausência desse microrganismo em 25g do produto analisado.

Na Tabela 10 observa-se a faixa de variação do pH das carnes moídas na presença do consumidor e daquela exposta à venda previamente moída.

De acordo com os resultados da Tabela 10, nota-se que a maioria das amostras (60%) apresentou valor de pH variando de 5,8 a 6,2, indicando que a carne está boa

para consumo. Contudo, 24 amostras (40%) apresentaram pH diferente daquele preconizado pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, com valores abaixo de 5,8 e valores acima de 6,2 (BRASIL,1981).

SOUZA et al. (2000) avaliaram a qualidade microbiológica e físico-química de 30 amostras de carne moída, comercializadas em açougues, no município de Macapá, AP. Os autores observaram que as amostras estavam dentro da faixa de pH aceitável de consumo. A análise microbiológica demonstrou ausência de salmonelas em todas as amostras. Entretanto, coliformes termotolerantes foram detectados em 26,6% das amostras e todas com níveis acima de 10^3 NMP/g. A presença de *Staphylococcus aureus* foi confirmada em duas (6,6%) das amostras, com contagens de 10^3 UFC/g. Os autores concluíram que a boa qualidade da carne moída não depende somente da não contaminação bacteriana, mas também de suas características físico-químicas. No entanto, o conhecimento de cada uma dessas características isoladamente é pouco útil, devido aos efeitos interativos entre elas.

Tabela10. Distribuição do total de amostras de carne moída na presença do consumidor e daquela previamente moída e exposta à venda, adquiridas na cidade de Jaboticabal/SP, segundo a faixa de variação do pH. Jaboticabal, 2004.

pH	Número de amostras (%)		Total (%)
	Processo 1* (%)	Processo 2** (%)	
5,4	2 (6,7)	0 (0,0)	2 (3,3)
5,5	1 (3,3)	1 (3,3)	2 (3,3)
5,6	3 (10,0)	5 (16,7)	8 (13,3)
5,7	4 (13,3)	6 (20,0)	10 (16,7)
5,8	6 (20,0)	10 (33,4)	16 (26,7)
5,9	3 (10,0)	3 (10,0)	6 (10,0)
6,0	2 (6,7)	4 (13,3)	6 (10,0)
6,1	0 (0,0)	1 (3,3)	1 (1,7)
6,2	7 (23,3)	0 (0,0)	7 (11,7)
6,3	2 (6,7)	0 (0,0)	2 (3,3)
TOTAL	30	30	60

*Processo 1: carne moída na presença do consumidor

**Processo 2: carne previamente moída

Resultados semelhantes também foram observados por SKRÖKKI (1997) ao avaliar a qualidade de 37 amostras de carne moída. Os valores de microrganismos aeróbios foram da ordem de 10^7 e 10^8 UFC/g, enquanto que os valores de pH ficaram entre 5,5 e 6,2. O autor comenta que no controle da qualidade da carne moída, o valor de pH não é um parâmetro que deve ser tomado isoladamente para verificar se a carne é ou não adequada para o consumo.

Embora a variação de pH da maioria das amostras esteja dentro da faixa aceitável, observam-se neste estudo que várias amostras apresentavam altas populações bacterianas demonstrando que, conforme mencionado anteriormente por SKRÖKKI (1997) e SOUZA et al. (2000), a qualidade da carne moída não depende somente deste parâmetro para ser considerada como aceitável para o consumo humano.

No presente trabalho a carne moída foi submetida à prova da amônia, que tem como objetivo indicar a provável decomposição microbiana do produto. Das 60 amostras analisadas todas foram positivas, indicando que a carne já estava sofrendo proteólise, segundo o que a legislação brasileira estabelece (Brasil, 1981).

A proteólise foi confirmada quando as amostras foram submetidas à prova de H_2S , como pode ser observado na Tabela 11. Verificou-se que das 60 amostras analisadas, 12 (20%) apresentaram três cruzes de positividade, indicando proteólise acentuada.

Tabela 11. Distribuição do total de amostras de carne moída na presença do consumidor e daquela previamente moída e exposta à venda, adquiridas na cidade de Jaboticabal/SP, segundo a produção de H_2S . Jaboticabal, 2004.

Resultado	Número de amostras (%)		Total (%)
	Processo 1* (%)	Processo 2** (%)	
+	12 (40,0)	16 (53,4)	28 (46,7)
++	13 (43,3)	7 (23,3)	20 (33,3)
+++	5 (16,7)	7 (23,3)	12 (20,0)
TOTAL	30	30	60

*Processo 1: carne moída na presença do consumidor

**Processo 2: carne previamente moída

Na tabela 12 pode-se verificar o tempo de filtração do extrato aquoso das amostras de carne moída na presença do consumidor e daquela previamente moída e exposta à venda. Das 60 amostras analisadas nenhuma ultrapassou o limite de 10 minutos, o que indicaria carne suspeita, provavelmente alterada (BRASIL, 1981). No entanto, 12 amostras (20,0%) tiveram um tempo de filtração de 6 a 10 minutos, indicando carne de média conservação.

Tabela 12. Distribuição do total de amostras de carne moída na presença do consumidor e daquela previamente moída e exposta à venda, adquiridas na cidade de Jaboticabal/SP, segundo o tempo de filtração do extrato aquoso. Jaboticabal, 2004.

Tempo	Número de amostras (%)		Total (%)
	Processo 1* (%)	Processo 2** (%)	
5 minutos	22 (73,3)	26 (86,7)	48 (80,0)
6 a 10 minutos	8 (26,7)	4 (13,3)	12 (20,0)
Superior a 10 minutos	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
TOTAL	30	30	60

*Processo 1: carne moída na presença do consumidor

**Processo 2: carne previamente moída

SOBREIRO & SOUZA (1996) avaliaram o estado de conservação de carne bovina moída preparada industrialmente e embalada a vácuo, através de exames físico-químicos e organolépticos realizadas nos 1º, 3º, 5º e 7º dias de armazenagem a 8°C. Os valores de pH encontrados pelos autores foram de, respectivamente, 5,67, 5,63, 5,61 e 5,51, indicando que houve nítida queda de pH com o decorrer do período de armazenagem. O valor de amônia para o 1º dia de armazenagem foi negativo. Entretanto, os valores de amônia aumentaram a partir do 3º dia (16,67% de amostras positivas) atingindo o índice de 70% de amostras positivas no 5º dia de armazenagem. Com relação à prova de filtração, os autores relatam que no 1º dia de armazenagem cerca de 96% das amostras foram consideradas como carne fresca, enquanto que no 7º dia somente 55% apresentou a mesma característica. Os autores ainda comentam que as alterações organolépticas iniciaram-se a partir do 5º dia de armazenamento.

Embora o tempo de armazenagem não tenha sido avaliado neste estudo, os resultados apresentados nas Tabelas 10, 11 e 12 indicam que todas as amostras, tanto

do processo 1 quanto do processo 2, apresentavam indícios de deterioração pela presença de amônia e H_2S . Entretanto, todas as amostras foram consideradas como boas para o consumo e de média a boa conservação quanto ao pH e tempo de filtragem, respectivamente.

Na Tabela 13 estão apresentados os resultados da comparação da população de microrganismos heterotróficos aeróbios ou facultativos mesófilos viáveis com o grau de produção de H_2S das amostras de carne moída na presença do consumidor.

Observa-se que das 30 amostras de carne moída na presença do consumidor, 28 (93%) apresentaram populações de microrganismos mesófilos variando de $1,4 \times 10^4$ a $4,7 \times 10^6$ UFC/g. As amostras com maior população foram responsáveis pela maior produção de gás sulfídrico. Como pode ser observado, 5(45,5%) das amostras com populações da ordem de 10^4 tiveram média (++) ou alta (+++) produção de gás sulfídrico. Por outro lado, analisando-se pelo mesmo parâmetro, nota-se que, das 12 amostras com populações da ordem de 10^5 UFC/g, 7 (59,9%) tiveram o mesmo resultado (++ ou +++). Ainda, as 5 amostras (100%) com populações da ordem de 10^6 UFC/g apresentaram tal produção. Fazendo-se a mesma comparação para a carne previamente moída (Tabela 14), nota-se que 23 amostras (76,7%) apresentaram populações da ordem de 10^4 e 10^5 UFC/g. Pode-se notar que, à medida que há um aumento da população microbiana, aumenta-se também o grau de proteólise, sendo que 4 (40%) amostras com população em torno de 10^4 UFC/g tiveram média ou alta produção de gás sulfídrico e 7 (53,9%) daquelas com população de 10^5 UFC/g tiveram essa mesma produção.

A tabela 14 mostra o resultado da relação entre a população de microrganismos heterotróficos aeróbios ou facultativos mesófilos viáveis e o grau de produção de H_2S das amostras de carne previamente moída e exposta à venda.

Tabela 13. Distribuição do total de amostras de carne moída na presença do consumidor, adquiridas na cidade de Jaboticabal/SP, segundo a população de microrganismos heterotróficos aeróbios ou facultativos mesófilos viáveis e o grau de produção de H₂S. Jaboticabal, 2004.

Produção de H ₂ S	População em UFC/g					TOTAL
	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶	10 ⁷	
+	0 (0,0%)	6 (54,5%)	5 (41,7%)	0 (0,0%)	1 (100,0%)	12
++	1 (100,0%)	3 (27,3%)	5 (41,7%)	4 (80,0%)	0 (0,0%)	13
+++	0 (0,0%)	2 (18,2%)	2 (18,2%)	1 (20,0%)	0 (0,0%)	5
TOTAL	1	11	12	5	1	30

Tabela 14. Distribuição do total de amostras de carne previamente moída e exposta à venda, adquiridas na cidade de Jaboticabal/SP, segundo a população de microrganismos heterotróficos aeróbios ou facultativos mesófilos viáveis e o grau de produção de H₂S. Jaboticabal, 2004.

Produção de H ₂ S	População em UFC/g					TOTAL
	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶	10 ⁷	
+	0 (0,0%)	6 (60,0%)	6 (46,1%)	2 (66,7%)	2 (66,7%)	16
++	1 (100,0%)	1 (10,0%)	4 (30,8%)	0 (0,0%)	1 (33,3%)	7
+++	0 (0,0%)	3 (30,0%)	3 (23,1%)	1 (33,3%)	0 (0,0%)	7
TOTAL	1	10	13	3	3	30

A tabela 15 mostra o resultado da relação entre a população de microrganismos heterotróficos aeróbios ou facultativos mesófilos viáveis e o grau de produção de H₂S das amostras de carne moída na presença do consumidora.

Tabela 15. Distribuição do total de amostras de carne moída na presença do consumidor, adquiridas na cidade de Jaboticabal/SP, segundo a população de microrganismos heterotróficos aeróbios ou facultativos psicrotróficos viáveis e o grau de produção de H₂S. Jaboticabal, 2004.

Produção de H ₂ S	População em UFC/g					TOTAL
	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶	10 ⁷	10 ⁸	
+	2 (50,0%)	3 (33,3%)	4 (40,0%)	3 (60,0%)	0 (0,0%)	12
++	2 (50,0%)	4 (44,4%)	5 (50,0%)	2 (40,0%)	0 (0,0%)	13
+++	0 (0,0%)	2 (22,3%)	1 (10,0%)	0 (0,0%)	2 (100,0%)	5
TOTAL	4	9	10	5	2	30

Verifica-se pela Tabela 15 que 19 amostras apresentaram populações da ordem de 10⁵ e 10⁶ UFC/g, sendo que 6 amostras (66,7%) da ordem de 10⁵ UFC/g tiveram média e alta produção de gás e 6 (60%) da ordem de 10⁶ UFC/g tiveram essa mesma produção de gás.

Na tabela 16 observa-se a relação entre a população de microrganismos heterotróficos aeróbios ou facultativos psicrotróficos viáveis e o grau de produção de H₂S, em amostras de carne previamente moída.

Tabela 16. Distribuição do total de amostras de carne previamente moída e exposta à venda, adquiridas na cidade de Jaboticabal/SP, segundo a população de microrganismos heterotróficos aeróbios ou facultativos psicrotróficos viáveis e o grau de produção de H₂S. Jaboticabal, 2004.

Produção de H ₂ S	População em UFC/g					TOTAL
	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶	10 ⁷	10 ⁸	
+	0 (0,0%)	6 (60,0%)	6 (75,0%)	2 (22,2%)	2 (100,0%)	16
++	1 (100,0%)	0 (0,0%)	2 (25,0%)	4 (44,4%)	0 (0,0%)	7
+++	0 (0,0%)	4 (40,0%)	0 (0,0%)	3 (33,4%)	0 (0,0%)	7
TOTAL	1	10	8	9	2	30

Verifica-se que para a carne moída e exposta à venda, 100% das amostras com população de microrganismos psicrotróficos da ordem de 10⁴ UFC/g tiveram média (++)

produção de gás sulfídrico e 60% com população da ordem de 10^5 tiveram baixa (+) produção de gás.

Na Tabela 17 observa-se a relação entre a população de bolores e leveduras e a produção de H_2S , nas amostras de carne moída na presença do consumidor. Verifica-se que 87,7% das amostras com populações de bolores e leveduras da ordem de 10^3 UFC/g tiveram baixa (+) ou média (++) produção de gás sulfídrico, e 80% com população da ordem de 10^4 tiveram média (++) e alta (+++) produção de gás sulfídrico.

Uma população mais elevada de psicotróficos não leva, necessariamente, à produção de H_2S , essa prova não dá idéia da qualidade microbiológica do produto.

Tabela 17. Distribuição do total de amostras de carne moída na presença do consumidor, adquiridas na cidade de Jaboticabal/SP, segundo a população de bolores e leveduras e o grau de produção de H_2S . Jaboticabal, 2004.

Produção de H_2S	População em UFC/g				TOTAL
	10^2	10^3	10^4	10^5	
+	2 (28,6%)	8 (50,0%)	1 (20,0%)	1 (50,0%)	12
++	4 (57,1%)	6 (37,5%)	2 (40,0%)	1 (50,0%)	13
+++	1 (14,3%)	2 (12,5%)	2 (40,0%)	0 (0,0%)	5
TOTAL	7	16	5	2	30

Na Tabela 18 observa-se a relação entre a população de bolores e leveduras e a produção de H_2S , nas amostras de carne previamente moída e exposta à venda. Observa-se que 91,3% das amostras com populações da ordem de 10^3 UFC/g tiveram baixa (+) e média (++) produção de gás, já 66,8% com populações da ordem de 10^4 tiveram média (++) e alta (+++) produção de gás sulfídrico.

Tabela 18. Distribuição do total de amostras de carne previamente moída e exposta à venda, adquiridas na cidade de Jaboticabal/SP, segundo a população de bolores e leveduras e o grau de produção de H₂S. Jaboticabal, 2004.

Produção de H ₂ S	População em UFC/g				TOTAL
	10 ²	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	
+	2 (40,0%)	10 (75,9%)	3 (27,2%)	1 (100,0%)	16
++	2 (40,0%)	2 (15,4%)	4 (33,4%)	0 (0,0%)	8
+++	1 (20,0%)	1 (7,7%)	4 (33,4%)	0 (0,0%)	6
TOTAL	5	13	11	1	30

Os dados do presente trabalho permitiram uma comparação entre o grau de produção de H₂S e o tempo necessário para a filtração do extrato aquoso das amostras de carne moída, como pode-se observar pela Tabela 19. Pode-se notar um aumento no tempo necessário para filtração quando houve uma maior produção de H₂S em ambos os processos.

Tabela 19. Número de amostras de carne previamente moída e exposta à venda, adquiridas na cidade de Jaboticabal/SP, segundo a produção de H₂S e o tempo de filtração do extrato aquoso. Jaboticabal, 2004.

Tempo (minutos)	Número de amostras					
	Processo 1			Processo 2		
	Produção de H ₂ S*			Produção de H ₂ S**		
	+	++	+++	+	++	+++
2	1	0	0	0	0	0
3	3	1	0	2	1	2
4	1	5	2	10	3	0
5	5	3	1	3	2	3
6	0	3	0	0	1	1
7	2	1	1	1	0	0
8	0	0	1	0	0	1
Média (Minutos)	4,5	4,8	5,6	4,25	4,4	5

6. CONCLUSÕES

Levando em consideração os resultados obtidos no presente estudo, é possível concluir que todas as amostras estavam dentro dos padrões estabelecidos pela legislação vigente para carne moída, a qual determina que haja ausência de salmonelas em 25g de carne moída. Não houve diferença significativa entre a carne moída na hora e àquela previamente moída. Porém, para microrganismos mesófilos, coliformes totais, coliformes termotolerantes e *Staphylococcus* sp as populações do processo 2 (carne previamente moída) foram maiores.

Todas as amostras foram positivas para amônia e para H₂S, indicando algum grau de proteólise, muito embora a maioria das amostras apresentou pH e tempo de filtração dentro da faixa aceitável de consumo.

As análises físico-químicas nem sempre podem ser usadas para se determinar a qualidade microbiológica da carne.

Os resultados obtidos através das análises microbiológicas e físico-químicas da carne moída comercializada na cidade de Jaboticabal mostram um nível elevado de contaminação, o que evidencia uma realidade de condições higiênico-sanitárias deficientes. Assim, este produto de alto consumo, caracterizado pela sua praticidade de preparo e utilização de forma variada, pode agir como um desencadeador de infecções e intoxicações decorrentes da ação de microrganismos patogênicos.

7. REFERÊNCIAS

AL – SHEDDY, I. A.; FUNG, D. Y. C.; KASTNER, C. L. Microbiology of fresh and restructured lamb meat: a review. **Critical Reviews in Microbiology**, Boca Raton, v.21, n.1, p. 31-52, 1995.

ALMEIDA, A. S.; GONÇALVES, P. M. R.; FRANCO, R. M. *Salmonella* em corte de carne bovina inteiro e moído. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v.16, n.96, p.77-81, 2002.

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

AMARAL, L. A.; PRATA, L. F.; LACAVA, P. M. Efeito de medidas higiênico-sanitárias na qualidade de produtos cárneos comercializados no varejo. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v.3, n.3-4, p.182-187, 1984.

APHA – AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. Committee on Microbiological for Foods. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4.ed. Washington:American Public Health Association, 2001. 676p.

BLACK, J.G. **Microbiologia**: fundamentos e perspectivas. 4ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2002. 829p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal: **Métodos Analíticos**

Oficiais para Controle de Produtos de Origem Animal e seus ingredientes. Brasília, DF. 1981.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução- RDC nº12 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12_01rdc.htm> Acesso em: 11 out. 2001.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº 83, de 21 de novembro de 2003. Disponível em: <<http://oc4j.agricultura.gov.br/agrolegis/do/consultaLei?op=viewTextualecodigo=4317>> Acesso em: 22 abr. 2004.

BRENNER, F.W.; VILLAR, R.G.; ANGULO, F.J.; TAUXE, R.; SWAMINATHAN, B. *Salmonella* nomenclature. **Journal of Clinical Microbiology**, v.38, n.7, p.2465-2467, 2001.

BRITO, G.; CORDEIRO, L. N.; JOSINO, S. A.; MELO, M. L.; COUTINHO, H. D. M. Avaliação da qualidade de hambúrgueres e cachorros-quentes comercializados por vendedores ambulantes no município de Juazeiro do Norte, CE. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v.17, n.110, p.90-94, 2003.

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

CAMARGO, M. R.; GRANER M.; FILHO, M. A.; BARBEN, D. Qualidade microbiológica da carne bovina moída a nível de varejo e sua avaliação pela prova da reazurina. **Revista Microbiológica**, São Paulo, v.12, n.1, p.22-27, 1981.

CENTER FOR DISEASE CONTROL. Epidemiologic notes and reports foodborne outbreak of gastroenteritis caused by *Escherichia coli* O157:H7, North Dakota, 1990. **Morbidity and Mortality Weekly Report**, v.40, n.16, p.265-267, 1991.

CENTER FOR DISEASE CONTROL. Update: multistate outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections from hamburgers, Western United States, 1992- 1993. **Morbidity and Mortality Weekly Report**, v.42, n.14, p.258-263, 1993.

CENTER FOR DISEASE CONTROL. *Escherichia coli* O157:H7 outbreak linked to home-cooked hamburger, California, july 1993. **Morbidity and Mortality Weekly Report**, v.43, n.12, p.213-216, 1994.

CENTER FOR DISEASE CONTROL. *Escherichia coli* O157:H7 outbreak at s Summer camp, Virginia, 1994. **Morbidity and Mortality Weekly Report**, v.44, n.22, p.419-421, 1995a.

CENTER FOR DISEASE CONTROL. Outbreak of Salmonella serotype Typhimurium infection associated with eating raw ground beef, Wisconsin, 1994.. **Morbidity and Mortality Weekly Report**, v.44, n.49, p.905-909, 1995b.

CENTER FOR DISEASE CONTROL. Outbreak of multidrug-resistant *Salmonella* Newport, United States, January, april 2002. **Morbidity and Mortality Weekly Report**, v.51, n.25, p.545-548, 2002a.

CENTER FOR DISEASE CONTROL. Multistate Outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infectious associated with eating ground beef – United States, June-July 2002. **Morbidity and Mortality Weekly Report**, Illinois, v.51. n.29, p.637-639, 2002b.

CENTER FOR DISEASE CONTROL. *Escherichia coli* O157:H7 infections associated with ground beef from a U.S. Military Installation, Okinawa, Japan, february 2004. **Morbidity and Mortality Weekly Report**, v.54, n.2, p.40-42, 2005.

CHESCA, A. C.; ANDRADE, S. C. B. J.; D'ANGELIS, C. E.; SILVEIRA, M. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v.18, n.118, p.71-75, 2004.

CHESCA, A. C.; MOREIRA, P. A.; ANDRADE, S. C. B. J.; MARTINELLI, T. M. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v.17, n.114/115, p.20-23, 2003.

COELHO, M. S. L.; GUIMARÃES, W. V.; BORGES, A. C.; SILVA, D. O.; ARAÚJO, E. F. Sobrevivência de *Salmonella* em carne bovina moída armazenada em baixas temperaturas. **Revista Microbiológica**, São Paulo, v.15, n.1, p.17-23, 1984.

COSTA, F. N.; ALVES, L. M. C.; MONTE, S. S. Avaliação das condições higiênicos-sanitárias de carne moída, comercializada na cidade de São Luís, MA. **Revista Higiene Alimentar, São Paulo**, v.11, n.77, p.49-52, 2000.

EL–LEITHY. M. A.; RASHAD, F. M. Bacteriological studies on ground meat and its products. **Archiv für Lebensmittelhygiene**, Alfeld, v.40, n.3, p.58-61, 1989.

EMSWILLER, B. S.; PIERSON, C. J.; KOTULA, A. W. Bacteriological quality and shelf life of ground beef. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.31, n.6, p.826-830, 1976.

EVANGELISTA-BARRETO, N. S.; VIEIRA, R. H. S. F. *Salmonella* versus manipuladores de alimentos: um fator de risco para os consumidores. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v.16, n.101, p.15-19, 2002.

FALCÃO, D. P. Características gerais de enteropatógenos bacterianos. **Revista Ciências Farmacêuticas**, v.17, p.25-55, 1996.

FEHLHABER, K.; JANETSCHKE, P. **Higiene veterinária de los alimentos**. Zaragoza: Acribia, 1992. 669p.

FERNANDEZ, A. T.; FORTES, M. L. M.; ALEXANDRE, M.H.S.; BASTOS, C. S. P.; VIANA, E. P. L. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v.17, n.111, p.58-63, 2003.

FERREIRA, M. G. A. B.; SOBRINHO, A. J. C. Avaliação da qualidade bacteriológica das carnes bovina moída e suína (pernil) “in natura” e/ou refrigerada, em supermercados, frigoríficos e feiras livres do município de São Luís, MA. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v.17, n.104/105, p.87-93, 2003.

FERREIRA, M. D.; PINTO, V. L. L. T; HOFER, E. **Revista Microbiológica**, São Paulo, v.15, n.2, p.54-59, 1984.

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

FONSECA, M. M. M.; ZOLIN, I. S.; SCHOROEDER, M. Aspectos higiênicos de açougues do mercado público central de Porto Alegre, RS. **Arquivos da Faculdade de Veterinária da UFRGS** ,v.10-11, p.17-20, 1983.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1996. 182p.

FRANCO, G. **Tabela de composição química dos alimentos**. 9ed. São Paulo: Atheneu, 2002. 307p.

FRAZIER, W. C.; WESTHOFF, D. C. **Microbiologia de los alimentos**. 4 ed. Zaragoza: Acribia, 1993. 681p.

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

GERMANO, P. M. L.; MIGUEL M., MIGUEL O.; GERMANO M. I. S. Prevenção e controle das toxinfecções de origem alimentar. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v.7, n.27, p.6-11, 1993.

GRANER, M.; FILHO, A. M.; CRUZ, V. F. Microbiologia da carne moída: Contagem total de bactérias. **Anais da E. S. A. "Luiz de Queiroz"**, Piracicaba, v.28, p.217-226, 1971.

GRÜNSPAN, E. D.; ULON, S. N.; SANTOS, A. F.; HEIRMANN, G. P.; SHIRMER, V. R. Contaminação microbiana em carne moída de açougues de Cidade de Santa Catarina, RS, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.6, n.2, p.263-267, 1996.

HEREDIA, N.; GARCIA, S.; ROJAS, G.; SALAZAR, L. Microbiological condition of ground meat retailed in Monterrey, Mexico. **Journal of food Protection**, Ames, v.64, n.8, p.1249-1251, 2001.

HIROOKA, E. Y.; MULLER, E. E.; SANTO, A. E. Bacterimetria de *Staphylococcus aureus* em produtos cárneos comercializados em Londrina, Paraná. **Ciência Tecnologia Alimentos**, Campinas, v.2, n.2, p.111-112, 1982.

HOBBS, B. C.; ROBERTS, D. **Toxinfecções e controle higiênico-sanitário de alimentos**. São Paulo: Varela, 1999, 425p.

HOFFMANN, F. L.; CRUZ, C. H. G.; VINTURIM, T. M. Qualidade microbiológica de amostras de carne e de presunto. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v.12, n.58, p.52-56, 1998.

IARIA, S. T.; FURLANETO, S. M. P.; CAMPOS, M. L. C. Pesquisa de *Staphylococcus aureus* enterotoxigênico nas fossas nasais de manipuladores de alimentos em hospitais. **Revista Saúde Pública**, São Paulo, v.14, p.93-100, 1980.

ICMSF- INTERNATIONAL COMMITTEE ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATION FOR FOOD **Microrganisms in food**. 1- Their significance and methods of enumeration. 2ed. Toronto: University Press, 2000. 439p.

JAKABI, M.; GELLI, D. S.; RISTORI, C. A.; DE PAULA, A. M. R.; SAKUMA, H.; LOPES, G. I. S.L.; FERNANDES, R.; LICHESI, R. B. **Revista Instituto Adolfo Lutz**. São Paulo, v.63, n.2, p.238-42, 2004.

JAY, J. M. Microorganisms in fresh ground meats: the relative safety of products with low versus high numbers. **Meat Science**, v.43, s, s59-s66, 1996.

JAY, J. M; MARGITIC, S. **Journal of food science**. Detroit, v.46, p.648-649, 1981.

JUDGE, M.; ABERLE, E.; FORREST, J. Storage and preservation of meat. In: ____ **Principles of meat science**. 2 ed. Iowa: Kendall/Hunt, 1989. p.203-204.

KHALAFALLA, F.; GERGIS, A. F.; EL-SHERIF, A. Effect of freezing and mincing on microbial load of minced meat. **Die Nahrung**, Berlin, v.37, n.5, p.422-427, 1993.

KLOOS, W.E. Systematics and the natural history of staphylococci. **Journal of Applied Bacteriology Symposium Supplement** 1990, 25S-37S.

KONEMAN, E. W.; ALLEN, S. D.; JANDA, W. M.; SCHRECKENBERGER, P. C.; WINN, W. C. Diagnóstico microbiológico: texto e atlas colorido. 5 ed. Rio de Janeiro: Medsi, 2001. 1465p.

LEITÃO, M. F. F. Controle do desenvolvimento microbiano no processamento industrial da carne e produtos cárneos. **Boletim Instituto Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.21, n.1, p.21-39, 1984.

LOGUERCIO, A. P.; SILVA, W. P.; ALEIXO, J. A. G. Condições higiênico-sanitárias no processamento de carne bovina moída. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo v.14, n.72, p.60-65, 2002.

Mac FADDIN, J. F. **Biochemical tests for identification of medical bacteria**. Baltimore. The Williams e Wikins Co., 1976, 312p.

MORRIS, J. G. Current trends in human diseases associated with foods of animal origin. **Public Veterinary Medicine**, v.209, n.12, 1996.

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

MOUSA, M. M.; AWAD, H. A.; YASSIEN, M. M.; GOUDA, H. I. Microbial quality of some meat products. **Veterinary Medicine Journal**, Giza, v.41, n.3, p.59-62, 1993.

MUTTI, P.; DAZZI, M.; MANGANELLI, E.; BARBUTI, S.; QUINTAVALLA, S. Microbiological quality of commercial ground beef. **Industria Conserve**, Parma, v.76, p.45-50, 2001.

NASCIMENTO, M. R.; SATAMFORD, T. L. M. Incidência de *Escherichia coli* O157:H7 em alimentos. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v.14, n.70, p.32-35, 2000.

NORTJÉ, G. L.; VORSTER, S. M.; GREEBE, R. P.; STEYN, P. L. Occurrence of *Bacillus cereus* and *Yersinia enterocolitica* in South African retail meats. **Food Microbiology**, v.16, p.213-217, 1999.

NYCHAS, G. J.; FILHO, A.; BOARD, R. G. Microbiological and physico-chemical evaluation of ground beef from retail shops. **Fleischwirtschaft**, Frankfurt, v.71, n.9, 1991.

OLIVEIRA, A. C. B.; GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. Avaliação dos alimentos cárneos servidos no programa de alimentação escolar de um município da Grande São Paulo: ênfase nos aspectos de tempo e temperatura. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v.18, n.124, p.24-29, 2004.

OLIVEIRA, A. M.; GONÇALVES, M. O.; SHINOHARA, N. K. S.; STAMFORD, T. L. M. Manipuladores de alimentos: um fator de risco. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v.17, n.114/115, p.12-19, 2003.

OSLOVIK, O.; WASTERSON, Y.; LUND, A.; HORNES, E. Pathogenic *Escherichia coli* found in foods. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.12, n.1, p.103-114, 1991.

PANETTA, J. C. Bacteriologia dos alimentos. **Atualidades Veterinárias**, São Paulo, v.1-3, p.12-14, 1972.

PANETTA, J. C. Prevalência e controle de enfermidades humanas transmitidas pela ingestão de carne bovina. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v.8, n.32, p.19-20, 1994.

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

PASSOS, M. H. C. R.; KUAYE, A. Y. Avaliação dos surtos de enfermidades transmitidas por alimentos comprovados laboratorialmente no município de Campinas, SP, no período de 1987 a 1993. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v.56, n.1, p.77-82, 1996.

PEDROSO, M. M.; IARIA, S. T.; GAMBA, R. C.; HEIDTMANN, S.; RALL, V. L. M. Critical control points for meat balls and kibbe preparations in a hospital kitchen. **Revista de Microbiologia**, São Paulo, n.30, p.347-355, 1999.

PELAYO, J. S.; SARIDAKIS, H. O. Sorotipos de *Salmonella* isolados de produtos cárneos em Londrina-Paraná, **Revista de Microbiologia**, São Paulo, v.19, n.1, p.17-21, 1988.

PERESI, J. T. M.; ALMEIDA, I. A. Z. C.; LIMA, S. I.; MARQUES, D. F.; RODRIGUES, C. A.; FERNANDES, S. A.; GELLI, D. S.; IRINO, K. Surtos de enfermidades transmitidas

por alimentos causados por *Salmonella* Enteritidis. **Revista Saúde Pública**, São Paulo, v.32, n.5, p.477-83, 1998.

PERINA, M. M.; GONÇALVES, T. M. V.; HOFFMANN, F. L. Detreminação da qualidade microbilógica de quibes comercializados na cidade de São José do Rio Preto, SP. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v.19, n.130, p.73-80, 2005.

PESSOA, G. V. A.; PEIXOTO, E. S. Caldo seletivo novobiocina. Um meio de maior seletividade para isolamento de *Salmonella* de fezes. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v.31, p.1-3, 1971.

PETRI, C. M.; ANTUNES, L. A. F. *Escherichia coli* em produtos cárneos comercializados em Londrina, Paraná. Frequência de *Escherichia coli* enteropatogênica clássica (EPEC). **Revista de Microbiologia**, São Paulo, v. 20, n.4, p.421-426, 1989.

PIGATTO, C. P.; BARROS, A. R. Qualidade da carne moída bovina resfriada, comercializada em açougues da região de Curitiba. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v.17, n.108, p.53-57, 2003.

PROCTOR, M. E.; KURZYNSKI, C. K.; ARTCHER, J. R.; DAVIS, J. P. Four Strins of *Escherichia coli* O157:H7 isolated from patients during an outbreak of disease associated with ground beef: importance of evaluating multiple colonies from an outbreak- associated product. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v.40, n.4, p.1530-1533, 2002.

RADDI, M. S. G.; LEITE, C. Q. F.; MENDONÇA, C. P. **Revista Saúde Pública**, São Paulo, v.22, n.1, p.36-40, 1988.

RANGEL, J. M.; SPARLING, P. H.; CROWE, C.; GRIFFIN, P. M.; SWERDLOW, D. L. Epidemiology of *Escherichia coli* O157:H7 outbreaks, United States, 1982-2002. **Emerging Infectious Diseases**. V.11, n.4, p.603-609, 2005.

RITTER, R.; SANTOS, D.; BERGMANN, G. P. Contaminação bacteriana da carne moída bovina comercializada em bancas do mercado público de Porto Alegre, RS. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v.15, n.85, p.50-56, 2001.

RIVAS, M.; CALETTI, M.; CHINEN, I.; REFI, S. M.; ROLDÁN, C. D.; CHILLEMI, G.; FIORILLI, G.; BERTOLOTI, A.; AGUERRE, L.; ESTANI, S. S. **Emerging Infectious Diseases**. V.9, n.9, 2003. Disponível em <<http://www.cdc.gov/ncidod/eid/vol9no9/02-0563.htm>>. Acesso em 18 de setembro de 2005.

ROBERTS T. A.; BRITTON, C. R.; HUDSON, W. R. The bacteriological quality of minced beef in the UK. **Journal of Hygiene**, Cambridge, v.85, n.2, p.211-217, 1980.

ROÇA, R. O.; SERRANO, A. M. Abate de bovinos: Alterações microbianas da carcaça. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v.9, n.35, 1995.

SAAD, S. M. I.; FRANCO, B. D. G. M. Influence of raw meat natural background flora on growth of *Escherichia coli* O157:H7 in ground beef. **Revista Microbiologia**, v.30, n.3, p.272-277, 1999.

SHOUP J. G.; OBLINGER, J. L. Microbiological evaluation of retail ground beef: Centralized and traditional preparation. **Journal Milk Food Technology**, Ames, v.39, n.3, p.179-183, 1976.

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

SILVA, N., JUNQUEIRO, V.C.A., SILVEIRA, N.F.A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 2ed. São Paulo: Varela, 2001. 317p.

SILVA JÚNIOR, E.A. **Microrganismos totais e bacilos gram-negativos psicrótróficos em amostras de carne fresca bovina moída comercializada na cidade de São Paulo**, São Paulo, 1985. Dissertação de Mestrado Apresentada ao Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo.

SILVA JÚNIOR, E.A. **Manual de controle higiênico-sanitário em alimentos**. 5ed. São Paulo: Varela, 2002. 479p.

SILVA, W. P.; GANDRA, E. A. Estafilococos coagulase positiva: patógenos de importância em alimentos. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v.18, n.122, p.32-40, 2004.

SKRÖKKI, A. Hygienic quality of commercial minced meat as indicated by aerobic micro-organisms and Coliform bacteria. **Zeitschrift Fuer Lebensmittel Untersuchung Und Florschung**, v.204, n.5, p.391-394, 1997.

SOBREIRO, L. G.; SOUZA, E. R. Avaliação físico-química e organoléptica do estado de conservação de carne bovina moída, preparada industrialmente. **Revista Brasileira Ciência Veterinária**, Niterói, v.3, n.3, p.99-104, 1996.

SOCKETT, P. N. The epidemiology and costs of diseases of public health significance in relation to meat and meat products. **Journal of Food Safety**, Trumbull, v.15, p.91-112, 1995.

SOUZA, C. L.; PEIXOTO, M. R. S.; SILVA, E. C.; OLIVEIRA, R. I. S. R. Avaliação da qualidade microbiológica e físico-química da carne bovina em açougues do município de Macapá, AP. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v.14, n.72, p.60-65, 2000.

STAMPI, S.; CAPRIOLI, A.; DE LUCA, G.; QUAGLIO, P.; SACCHETTI, R.; ZANETTI, F. Detection of *Escherichia coli* O157 in bovine meat products in northern Italy. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.90, p.257-262, 2004.

STEEL, R. G. D.; TORRIE, J. H. **Principles and procedues of statistics**. New York: McGraw, 1960. 481p.

TAVECHIO, A. T.; FERNANDES, S. A.; NEVES, B. C.; DIAS, A. M. G.; IRINO, K. Changing patterns of *Salmonella* serovars: increase of *Salmonella* Enteritidis in São Paulo, Brazil. **Revista Instituto Medicina Tropical**, São Paulo, v.38, n.5, p.315-322, 1996.

TOMPKIN. Indicator organisms in meta and poultry products. **Food Technology**, v.37, n.6, p.101-110, 1983.

TORTORA, G.J. et al. Microbiologia. 6ed. Porto Alegre: Artmed, 2000. 827p.

VANZO, S. P.; AZEVEDO, R. V. P. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v.17, n.104/105, p.114-123, 2003.

8. ANEXOS

Anexo 1. Resultados de todas as análises realizadas com a carne moída na presença do consumidor. Jaboticabal, 2004

Amostra	Mes	Psi	Col Tot	Col Ter	<i>E.coli</i>	Bol/Lev	<i>Sta sp</i>	<i>S coa+</i>	<i>S aur</i>	<i>Salm</i>	pH	Am	H ₂ S	Filtr
1	1,4x10 ⁴	4,4x10 ⁵	7,0	7,0	7,0	3,5x10 ³	3,8x10 ³	-	-	-	6,2	+	+	4
2	1,4x10 ⁵	6,3x10 ⁶	<0,3	<0,3	0,0	8,6x10 ³	3,1x10 ⁴	-	-	-	6,0	+	++	4
3	2,0x10 ⁴	5,3x10 ⁵	43,0	43,0	43,0	2,8x10 ³	2,3x10 ³	-	-	-	6,3	+	+++	7
4	4,7x10 ⁶	1,0x10 ⁸	75,0	<0,3	0,0	2,1x10 ⁴	5,8x10 ³	-	-	-	5,8	+	+++	8
5	4,5x10 ⁵	5,4x10 ⁴	43,0	15,0	7,0	7,6x10 ³	5,0x10 ³	-	-	-	6,2	+	++	4
6	6,1x10 ⁵	2,6x10 ⁷	11,0	<0,3	0,0	9,1x10 ⁵	1,6x10 ⁴	-	-	-	6,2	+	+	5
7	4,3x10 ⁴	3,0x10 ⁷	23,0	<0,3	0,0	1,4x10 ⁴	8,0x10 ³	-	-	-	6,2	+	+	7
8	1,4x10 ⁵	6,0x10 ⁶	1100,0	9,0	0,0	5,9x10 ³	2,0x10 ⁴	-	-	-	6,2	+	+	5
9	2,8x10 ⁴	4,0x10 ⁵	<0,3	<0,3	0,0	6,0x10 ³	1,5x10 ³	-	-	-	5,9	+	+	5
10	2,1x10 ⁴	2,9x10 ⁶	43,0	43,0	43,0	2,4x10 ³	5,3x10 ³	-	-	-	5,5	+	+	3
11	3,6x10 ⁵	6,0x10 ⁷	1100,0	460,0	460,0	3,5x10 ⁴	3,0x10 ⁴	6,0x10 ³	+	-	5,4	+	++	5
12	2,4x10 ⁴	5,7x10 ⁴	<0,3	<0,3	0,0	1,2x10 ³	5,9x10 ³	-	-	-	5,4	+	+	7
13	2,5x10 ⁵	1,4x10 ⁵	460,0	4,0	0,0	3,5x10 ³	1,3x10 ³	-	-	-	6,2	+	+	3
14	3,4x10 ⁵	3,6x10 ⁶	11000,0	4600,0	75,0	2,5x10 ³	1,7x10 ⁴	-	-	-	5,9	+	+++	5
15	9,9x10 ⁴	3,8x10 ⁵	1500,0	240,0	240,0	9,1x10 ³	2,0x10 ⁴	-	-	-	5,8	+	++	4
16	3,8x10 ⁷	6,6x10 ⁷	11000,0	4600,0	4600,0	6,9x10 ³	9,0x10 ⁴	1,8x10 ⁴	+	-	5,6	+	+	2
17	1,6x10 ⁴	7,5x10 ⁵	<0,3	<0,3	0,0	1,0x10 ²	1,8x10 ³	-	-	-	5,8	+	+++	4
18	7,5x10 ⁴	3,8x10 ⁵	4,0	4,0	4,0	8,0x10 ²	3,0x10 ⁴	-	-	-	5,7	+	++	6
19	7,0x10 ³	4,7x10 ⁴	<0,3	<0,3	0,0	1,0x10 ²	1,9x10 ³	1,9x10 ³	+	-	5,8	+	++	5
20	4,0x10 ⁶	4,7x10 ⁶	93,0	7,0	0,0	5,0x10 ²	5,0x10 ³	-	-	-	5,6	+	++	7
21	3,2x10 ⁵	3,4x10 ⁵	93,0	4,0	4,0	1,8x10 ³	1,1x10 ⁵	6,6x10 ⁴	+	-	5,7	+	++	4
22	4,1x10 ⁵	3,8x10 ⁷	460,0	460,0	0,0	5,0x10 ²	4,9x10 ⁵	-	-	-	5,6	+	++	3
23	3,4x10 ⁶	4,7x10 ⁵	4600,0	93,0	43,0	2,1x10 ⁴	6,7x10 ⁵	-	-	-	5,9	+	++	6
24	4,5x10 ⁵	4,7x10 ⁵	<0,3	23,0	23,0	7,0x10 ²	1,4x10 ⁵	-	-	-	5,6	+	+	5
25	9,8x10 ⁴	1,5x10 ⁵	43,0	<0,3	0,0	1,3x10 ³	8,0x10 ³	8,0x10 ³	+	-	5,8	+	++	5
26	4,4x10 ⁵	3,1x10 ⁵	240,0	240,0	0,0	2,1x10 ³	3,7x10 ³	7,4x10 ²	+	-	5,8	+	++	4
27	2,7x10 ⁴	4,6x10 ⁴	21,0	21,0	4,0	1,0x10 ²	1,6x10 ³	6,4x10 ²	+	-	5,9	+	+	5
28	5,0x10 ⁵	7,3x10 ⁵	24000,0	24000,0	0,0	3,3x10 ⁵	1,0x10 ⁵	-	-	-	6,0	+	++	6
29	3,0x10 ⁵	3,2x10 ³	2400,0	2400,0	28,0	5,0x10 ⁴	2,1x10 ⁴	-	-	-	6,2	+	+++	4
30	6,4x10 ⁵	1,2x10 ⁵	210,0	210,0	0,0	2,5x10 ³	1,2x10 ⁴	-	-	-	5,6	+	+	3

Mes = Mesófilos (UFC/g)

Psi = Psicrotófilos (UFC/g)

Col Tot = Coliformes Totais (NMP/g)

Col Ter = Coliformes Termotolerantes (NMP/g)

E. coli = *Escherichia coli* (NMP/g)

Bol/Lev = Bolores e Leveduras (UFC/g)

Sta sp = *Staphylococcus sp* (UFC/g)

S coa+ = *Staphylococcus coagulase positivo* (UFC/g)

S aur = *Staphylococcus aureus*

Salm = *Salmonella*

Am = Amônia

Filt = Filtração (minutos)

Anexo 2. Resultados de todas as análises realizadas com a carne previamente moída. Jaboticabal, 2004

Amostra	Mes	Psi	Col.Tot	Col.Term	E.coli	Bol/Lev	Sta.sp	S.coa+	S.aur	Salm	pH	amônia	H ₂ S	Filtr
1	4,5x10 ⁴	4,6x10 ⁵	7,0	7,0	7,0	2,3x10 ³	6,0x10 ³	-	-	-	6,0	+	+	5
2	1,2x10 ⁵	4,8x10 ⁷	0,0	0,0	0,0	2,1x10 ⁴	1,4x10 ⁵	-	-	-	5,8	+	++	4
3	4,6x10 ⁵	9,8x10 ⁵	43,0	43,0	43,0	2,8x10 ⁴	2,6x10 ⁴	-	-	-	5,9	+	+++	6
4	3,4x10 ⁵	9,2x10 ⁷	75,0	0,0	0,0	3,6x10 ⁴	2,0x10 ⁴	-	-	-	5,8	+	+++	8
5	3,0x10 ⁴	2,5x10 ⁵	43,0	15,0	7,0	4,4x10 ³	5,0x10 ³	-	-	-	6,1	+	+	5
6	3,5x10 ⁴	3,8x10 ⁵	11,0	0,0	0,0	1,4x10 ⁵	4,9x10 ³	-	-	-	6,0	+	+	4
7	2,7x10 ⁵	3,8x10 ⁵	23,0	0,0	0,0	3,8x10 ⁴	3,6x10 ³	-	-	-	6,0	+	++	3
8	1,4x10 ⁵	6,4x10 ⁵	1100,0	9,0	0,0	1,1x10 ⁴	5,8x10 ³	-	-	-	5,8	+	+	4
9	2,7x10 ⁶	1,0x10 ⁸	0,0	0,0	0,0	1,6x10 ⁴	1,6x10 ³	-	-	-	5,6	+	+	4
10	2,5x10 ⁴	7,0x10 ⁷	43,0	43,0	43,0	1,7x10 ⁴	2,2x10 ⁴	-	-	-	5,6	+	++	4
11	3,9x10 ⁵	3,5x10 ⁷	1100,0	460,0	460,0	3,0x10 ⁴	5,0x10 ³	1,3x10 ⁴	+	-	5,7	+	+++	5
12	4,1x10 ⁶	5,3x10 ⁵	0,0	0,0	0,0	3,6x10 ³	1,4x10 ⁴	-	-	-	5,5	+	+	4
13	4,6x10 ⁴	5,6x10 ⁶	460,0	4,0	0,0	1,4x10 ³	1,0x10 ³	-	-	-	6,0	+	+	4
14	7,1x10 ⁵	4,7x10 ⁵	11000,0	4600,0	75,0	8,3x10 ³	2,2x10 ⁴	4,4x10 ³	+	-	5,8	+	+	4
15	3,2x10 ⁵	3,8x10 ⁵	1500,0	240,0	240,0	8,5x10 ³	1,4x10 ⁴	-	-	-	5,8	+	+	3
16	5,0x10 ⁴	3,0x10 ⁵	11000,0	4600,0	4600,0	6,5x10 ³	4,7x10 ³	-	-	-	5,7	+	+	4
17	5,0x10 ³	4,9x10 ⁷	0,0	0,0	0,0	1,8x10 ³	1,1x10 ³	-	-	-	6,3	+	++	5
18	8,1x10 ⁴	6,1x10 ⁵	4,0	4,0	4,0	1,0x10 ²	1,3x10 ⁴	-	-	-	5,7	+	+	4
19	7,9x10 ⁴	2,5x10 ⁵	0,0	0,0	0,0	4,0x10 ²	1,1x10 ⁴	-	-	-	5,7	+	+++	3
20	2,6x10 ⁴	4,0x10 ⁵	93,0	7,0	0,0	1,0x10 ²	6,0x10 ³	-	-	-	5,7	+	+++	5
21	8,6x10 ⁷	4,1x10 ⁷	93,0	4,0	4,0	1,2x10 ⁴	1,5x10 ⁷	6,0x10 ⁵	+	-	5,7	+	++	4
22	3,8x10 ⁷	2,1x10 ⁵	460,0	460,0	0,0	5,0x10 ³	1,6x10 ⁵	-	-	-	5,8	+	+	5
23	4,9x10 ⁷	5,2x10 ⁷	4600,0	93,0	43,0	1,0x10 ³	4,2x10 ⁵	-	-	-	5,8	+	+	7
24	5,9x10 ⁵	4,9x10 ⁵	0,0	23,0	23,0	8,0x10 ²	8,0x10 ⁴	6,4x10 ⁴	+	-	5,8	+	+	3
25	2,5x10 ⁵	9,1x10 ⁴	43,0	0,0	0,0	2,0x10 ²	2,1x10 ⁴	4,2x10 ³	+	-	5,6	+	++	6
26	6,6x10 ⁵	3,7x10 ⁷	240,0	240,0	0,0	3,5x10 ³	2,2x10 ⁴	8,8x10 ³	+	-	5,9	+	+	4
27	4,0x10 ⁵	7,6x10 ⁵	21,0	21,0	4,0	6,5x10 ³	3,2x10 ⁴	-	-	-	5,8	+	++	5
28	8,8x10 ⁵	5,6x10 ⁵	24000,0	24000,0	0,0	1,5x10 ⁴	1,2x10 ⁵	2,4x10 ⁴	+	-	5,7	+	+	4
29	1,0x10 ⁵	4,8x10 ⁷	2400,0	2400,0	28,0	6,0x10 ⁴	2,6x10 ⁴	-	-	-	5,8	+	+++	3
30	7,6x10 ⁴	1,2x10 ⁵	210,0	210,0	0,0	2,6x10 ³	2,2x10 ⁴	4,4x10 ³	+	-	5,7	+	+++	5

Mes = Mesófilos (UFC/g)

Psi = Psicrófilos (UFC/g)

Col Tot = Coliformes Totais (NMP/g)

Col Ter = Coliformes Termotolerantes (NMP/g)

E. coli = *Escherichia coli* (NMP/g)

Bol/Lev = Bolores e Leveduras (UFC/g)

Sta.sp = *Staphylococcus sp* (UFC/g)S.coa+ = *Staphylococcus coagulase positivo* (UFC/g)S.aur = *Staphylococcus aureus*Salm = *Salmonella*

Am = Amônia

Filt = Filtração (minutos)