

UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS  
CAMPUS DE ARAGUAÍNA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL TROPICAL

**CARNE MOÍDA BOVINA EM ARAGUAÍNA: QUALIDADE HIGIÊNICO-  
SANITÁRIA E PERFIL DE RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA *DE E.  
COLI E SALMONELLA SP.***

**INGRID KAROLINE ALVES DE QUEIROZ**

ARAGUAÍNA

2017

**INGRID KAROLINE ALVES DE QUEIROZ**

**CARNE MOÍDA BOVINA EM ARAGUAÍNA: QUALIDADE HIGIÊNICO-SANITÁRIA  
E PERFIL DE RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA *DE E. COLI* E *SALMONELLA*  
*SP.***

**Dissertação apresentada como requisito parcial  
para obtenção do título de Mestre, junto ao  
Programa de Pós-graduação em Ciência Animal  
Tropical da Universidade Federal do Tocantins.**

**Área de concentração: Higiene e Tecnologia de  
Alimentos**

**Orientador (a): Prof(a). Dra. Silvia Minharro  
Barbosa**

**Co- orientadores (a): Prof(a). Dra. Helcileia Dias  
Santos**

**Prof(a). Dra. Bruna Alexandrino**

**ARAGUAÍNA**

**2017**

Q3c Queiroz, Ingrid Karoline Alves de.

Carne moída bovina em Araguaína: qualidade higiênico-sanitária e perfil de resistência antimicrobiana de E. coli e Salmonella sp.. / Ingrid Karoline Alves de Queiroz. – Araguaína, TO, 2017.

79 f.

Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade Federal do Tocantins – Câmpus Universitário de Araguaína - Curso de Pós-Graduação (Mestrado) em Ciência Animal Tropical, 2017.

Orientadora : Silvia Minharro Barbosa

Coorientadora : Helcileia Dias Santos

1. Indicadores microbiológicos. 2. Equipamentos de proteção individual. 3. Higiene sanitária . 4. Resistência antimicrobiana. I. Título

**CDD 636.089**

**INGRID KAROLINE ALVES DE QUEIROZ**

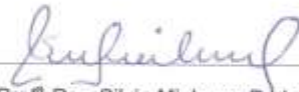
**CARNE MOÍDA BOVINA EM ARAGUAÍNA: QUALIDADE HIGIÊNICO-SANITÁRIA  
E PERFIL DE RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA DE *E. COLI* E *SALMONELLA*  
*SP.***

Dissertação apresentada como requisito parcial para  
obtenção do título de Mestre, junto ao Programa de  
Pós-graduação em Ciência Animal Tropical da  
Universidade Federal do Tocantins.

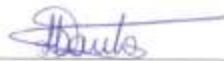
Orientador (a): Prof(a). Dra. Sílvia Minharro Barbosa

Aprovada em:

BANCA EXAMINADORA



Prof<sup>a</sup> Dra. Sílvia Minharro Barbosa (Orientadora)



Prof<sup>a</sup> Dra. Helcileia Dias Santos



Prof<sup>a</sup> Dra. Clarissa Amorim Silva de Cordova

“Até aqui nos ajudou o Senhor.”

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço às pessoas e instituições contribuíram para a elaboração desta monografia:

A Deus, minha base, meu tudo, e sem Ele esse sonho jamais se realizaria.

À minha Orientadora Prof<sup>a</sup> Dra. Silvia Minharro pela oportunidade de ser sua orientada, pela paciência em ensinar e orientar.

Aos meus pais, Luiz Rodrigues de Queiroz e Bernadete Alves de Moraes, por me apoiarem na minha jornada, sempre com amor, carinho, esforço e encorajamento quando me fiz fraca.

Ao meu Namorado, Pedro Emílio, por me ajudar sempre com palavras de força, por ter muita paciência e lealdade.

Aos amigos que me ajudaram muito desde que cheguei em Araguaína, Valmércia, Karina, Bruna, Giu, Rhaiza, Thiago, Odimar, Wanderson e Nara.

À Cristiane Nascimento por me ensinar a manusear tudo dentro do laboratório de Microbiologia de Alimentos e pela amizade.

Ao CNPQ pelo apoio financeiro para o desenvolvimento deste projeto de pesquisa.

A todos os amigos que deixei em Imperatriz, que sempre me apoiaram e me deram forças para continuar.

Muito obrigada!

## RESUMO

### **CARNE MOÍDA BOVINA EM ARAGUAÍNA: QUALIDADE HIGIÊNICO-SANITÁRIA E PERFIL DE RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA DE *E. COLI* E *SALMONELLA SP.***

O setor de carnes tem destaque no agronegócio brasileiro, por liderar o *ranking* da exportação e fazer parte de um negócio muito lucrativo. No Tocantins o consumo de carne, principalmente moída, é grande, sendo importante uma atenção dobrada quanto a qualidade destas carnes. Os principais microrganismos de importância higiênico-sanitária de alimentos são os coliformes totais e termotolerantes, os mesófilos totais e os principais causadores de Doenças transmitidas por alimentos são os enteropatógenos, como *Salmonella spp.* e *Escherichia coli*, mas com adoção de medidas de higiene cabíveis e um treinamento dos manipuladores de alimentos, pode se melhorar a qualidade das carnes que estão sendo comercializadas. Já existem trabalhos que investigaram bactérias com potencial patogênico em carne moída, mas ainda são escassos os trabalhos de associação entre a falta de uso de Equipamentos de proteção individual e a higiene do manipulador com os achados de bactérias nas carnes cruas bovinas comercializadas. Assim, o objetivo desta pesquisa foi avaliar a qualidade higiênico-sanitária das carnes comercializadas em Araguaína através de indicadores microbiológicos, bem como delimitar o perfil de resistência antimicrobiana de *E. coli* e *Salmonella sp.*

**Palavras-chave:** Microrganismos; Bactérias; Alimentos

## **ABSTRACT**

### **Bovine moist meat in Araguaína: Hygienic-sanitary quality and antimicrobial resistance profile of *E. coli* and *Salmonella* sp.**

The meats sector has a prominence in the Brazilian agribusiness, for leading the export ranking and being part of a very lucrative business. In Tocantins the consumption of meat, mainly ground, is great, being important a double attention as to the quality of these meats. The main microorganisms of hygienic-sanitary importance of food are the total and thermotolerant coliforms, the total mesophiles and the main causes of Foodborne diseases are enteropathogens such as *Salmonella* spp. And *Escherichia coli*, but with the adoption of appropriate hygiene measures and training of food handlers, the quality of the meat being marketed can be improved. There are already works that investigated bacteria with pathogenic potential in ground beef, but there is still little association between the lack of use of Personal Protective Equipment and the hygiene of the manipulator with the findings of bacteria in the raw bovine meat commercialized. Thus, the objective of this research was to evaluate the hygienic-sanitary quality of the meat commercialized in Araguaína through microbiological indicators, as well as to delimit the antimicrobial resistance profile of *E. coli* and *Salmonella* sp

**Keywords:** Microorganisms; bacteria; foods



## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

DTA	-	Doenças transmitidas por alimentos
EPI	-	Equipamento de proteção individual
EaggEC	-	Enterogregative <i>E. coli</i>
EHEC	-	Enterohaemorrhagic <i>E. coli</i>
EIEC	-	Enteroinvasive <i>E. coli</i>
EPEC	-	Enteropathogenic <i>E. coli</i>
ETEC	-	Enterotoxigenic <i>E. coli</i>
STEC	-	Shiga Toxin-producing <i>Escherichia coli</i>
SHU	-	Síndrome Hemolítico Urêmica
PCA	-	Ágar Padrão de Contagem
NMP	-	Número mais provável
VBBL	-	Caldo Verde Brilhante Bile Lactose
EC	-	Caldo <i>Escherichia coli</i>
TSI	-	<i>Triplice Sugar Iron</i>
VM	-	Vermelho Metila
UFC	-	Unidades formadoras de colônias
°C	-	Graus <i>Celcius</i>
g	-	Gramma
kg	-	Quilograma
CDC	-	<i>Centers for diseases Control and Prevention</i>
BPF	-	Boas Práticas de Fabricação

## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO II

- Figura 1:** Cidade de Araguaína dividida em quadrantes: Pontos demonstrando os locais de coleta de carne moída no município.....39
- Figura 2:** Formulário de observação .....43

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO II

**Tabela 1.** Resultados das análises da presença de *Escherichia coli* em carne moída bovina vendida no comércio de Araguaína-TO de fevereiro a novembro de 2015.....44

**Tabela 2.** Análise das variáveis pesquisadas na 1º coleta com os achados de *Escherichia coli* em carne moída bovina vendida no comércio de Araguaína-TO de fevereiro a junho de 2015.....46

**Tabela 3.** Análise das variáveis pesquisadas na 2º coleta com os achados de *E. coli* em carne moída bovina vendida no comércio de Araguaína-TO de agosto a novembro de 2015.....49

**Tabela 4.** Resultados das análises da presença de mesófilos em carne moída bovina vendida no comércio de Araguaína-TO de fevereiro a novembro de 2015.....50

**Tabela 5.** Resultados das análises da presença de *Salmonella spp*, em carne moída bovina vendida no comércio de Araguaína-TO de fevereiro a novembro de 2015.....51

**Tabela 6.** Análise das variáveis pesquisadas na 1º coleta com os achados de *Salmonella spp.* em carne moída bovina vendida no comércio de Araguaína-TO de fevereiro a junho de 2015.....52

**Tabela 7.** Análise das variáveis pesquisadas na 2º coleta com os achados de *Salmonella spp.* em carne moída bovina vendida no comércio de Araguaína-TO de agosto a novembro de 2015.....54

**Tabela 8.** Resultados das análises da presença de Coliformes totais e termotolerantes de carne moída bovina vendida no comércio de Araguaína-TO, de acordo com o padrão estabelecido pela RDC para carnes frescas a 45º C, de fevereiro a novembro de 2015.....55

### CAPÍTULO III

**Tabela 1.** Percentual de resistência antimicrobiana de cepas de *Escherichia coli* isoladas de carne bovina moída coletadas em Araguaína-TO.....68

**Tabela 2.** Percentual de resistência antimicrobiana de cepas de *Salmonella spp.* isoladas de carne bovina moída coletadas em Araguaína-TO.....71

## SUMÁRIO

CAPÍTULO I .....	15
<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>16</b>
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>19</b>
2.1 MESÓFILOS TOTAIS .....	19
2.2 COLIFORMES TOTAIS .....	20
2.3 COLIFORMES TERMOTOLERANTES.....	22
2.4 <i>ESCHERICHIA COLI</i> .....	23
2.5 <i>SALMONELLA SPP.</i> .....	24
<b>2.6 USO DE ANTIBIÓTICOS.....</b>	<b>27</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>29</b>
CAPÍTULO II .....	34
<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>37</b>
<b>2 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>39</b>
2.1 AMOSTRAS.....	39
2.2 DETERMINAÇÕES MICROBIOLÓGICAS.....	40
<b>2.2.1 Contagem de mesófilos heterotróficos .....</b>	<b>40</b>
<b>2.2.2 Determinação do número mais provável (NMP) de coliformes         totais/grama .....</b>	<b>41</b>
<b>2.2.3 Determinação do NMP de coliformes termotolerantes e <i>E. coli</i> .....</b>	<b>41</b>
2.2.3.1 <i>Escherichia coli</i> .....	42
<b>2.2.4 Pesquisa de <i>Salmonella spp.</i>.....</b>	<b>42</b>
<b>2.3 OBSERVAÇÃO VISUAL DO ASPECTO HIGIÊNICO DOS PONTOS DE     COLETA DAS AMOSTRAS .....</b>	<b>43</b>
2.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	44
<b>3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>45</b>
<b>4 CONCLUSÃO .....</b>	<b>58</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>59</b>
CAPÍTULO III .....	62
<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>64</b>
<b>2 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>66</b>
<b>3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>68</b>

<b>4 CONCLUSÃO .....</b>	<b>76</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>77</b>
<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>81</b>

CAPÍTULO I  
**Revisão Bibliográfica**

## 1 INTRODUÇÃO

A bovinocultura é destaque para o agronegócio brasileiro por estar em segundo lugar no quesito maior rebanho do mundo, com aproximadamente 200 milhões de cabeças. O Brasil lidera o *ranking* de exportações de carne bovina desde 2008, abrangendo 180 países, com dois segmentos lucrativos de carne e leite que geram valor bruto de R\$ 67 bilhões por ano. O estado do Tocantins tem tradição em criação de bovinos de corte, com um rebanho atual de 8 milhões de cabeças representando 20% de toda a carne bovina que é exportada (SEAGRO, 2016). Isto denota a importância da bovinocultura para a economia do País (MAPA, 2016).

A carne por ser um alimento de composição nutricional importante para fornecimento de proteínas e vitaminas para o homem é de extrema importância para o desenvolvimento dos seres vivos. Porém, este alimento pode ser propício a proliferação de microrganismos, justamente por ter elevada atividade aquosa, nutrientes e pH próximo ao neutro, o que torna o ambiente favorável às bactérias patogênicas (BERGAMINI et al., 2007).

Os microrganismos provenientes de animais abatidos para o consumo humano geralmente são de solo, pele e pelos. Apesar da aplicação das Boas Práticas de Fabricação e procedimentos padrões de higiene sanitária durante abate e evisceração, bactérias que podem ser patogênicas ou não, estão presentes na superfície da carne. Tais bactérias podem vir a se multiplicarem mesmo com a redução da temperatura de estocagem (OLIVEIRA et al., 2008a).

Outro fator que deve ser levado em conta é a higiene individual dos manipuladores, pois se trata de fonte ativa de contaminação dos alimentos. Os microrganismos presentes nas mãos, pele, boca e cavidades nasais podem favorecer esta contaminação, caso o manipulador não realize hábitos higiênicos corretos. Portanto, alguns fatores que determinam a qualidade higiênico-sanitária dos alimentos são as condições de abate, o processamento ao qual foi submetido e a higiene no processo de moagem (JAY, 2005).

Quando se trata de carne moída, sua alta superfície de contato externa, aliada a grande manipulação, pode juntamente com a moagem, favorecer a multiplicação de bactérias em decorrência, principalmente, da má higienização dos moedores, pois estes acumulam restos de moagens anteriores as quais, mesmo em



quantidades mínimas, podem aumentar exponencialmente a quantidade de bactérias (FERREIRA; SIMM, 2012; DIAS et al., 2008).

Em alguns estados do país, como Minas Gerais, já foram sancionadas leis que proíbem a venda de carne pré-moída, sendo permitido no máximo de 1kg por sacola, devendo a carne ser moída na hora que o consumidor fizer o pedido. Isso impede carne oriunda de diversos cortes, com excessiva manipulação, diminuindo assim os riscos de contaminação da mesma (BAPTISTA et al., 2013).

Por serem importantes veiculadores de enterobactérias como *Salmonella spp.* e *E. coli* a carne bovina moída destaca-se por ser um dos alimentos que mais causam surtos de intoxicações alimentares (ABREU; MERLINI; BEGOTTI, 2011). Não necessariamente as bactérias presentes na carne são patogênicas, porém, a presença de microrganismos indica que o produto tem condições para o favorecimento de multiplicação das mesmas.

De acordo com Pigarro; Santos (2008) microrganismos indicadores de qualidade higiênica da carne moída são principalmente padrão de microrganismos mesófilos, coliformes totais, coliformes termotolerantes, enfatizando a *Escherichia coli* e *Salmonella spp.*, por serem uns dos principais microrganismos causadores de toxinfecções alimentares causadas por produtos de origem animal e por serem bactérias com potencial de resistência em relação aos fármacos utilizados para seu controle.

Muitos mecanismos de resistência podem ser transferidos de uma bactéria para outra, que podem ser de origem genética ou não genética, através de mutações cromossômicas ou por contato de uma com outra. Outra preocupação é a transferência de bactérias resistentes via alimentos de origem animal para o homem, que pode se dá através do consumo de alimentos contendo estas bactérias com alto perfil de resistência e possivelmente pode passar essa resistência por contato com outras bactérias, tornando este, um grave problema de saúde pública (JAWETZ et al., 1991).

Diante do exposto, o presente trabalho objetivou discorrer sobre os indicadores microbiológicos que avaliam a qualidade higiênica da carne moída comercializada em supermercados e açougues de Araguaína-TO, entre eles foi dado

ênfase na pesquisa de *E. coli* e *Salmonella spp.*, uma vez que, a proliferação destes microrganismos na carne, tendem a causar prejuízos graves à saúde dos consumidores, tendo como hipótese um *link* zoonótico entre o consumo da carne e doenças em seres humanos. Além disso, objetiva discorrer sobre a resistência de *E. coli* e *Salmonella spp.* frente aos antimicrobianos mais comumente usados em tratamentos de infecções em humanos e animais.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

As doenças transmitidas por alimentos (DTA) podem surgir através da ingestão de alimentos e água contaminados por agentes químicos, físicos e biológicos, como microrganismos, sendo este o que mais causa doenças nos seres humanos, sendo a alimentos de origem animal, como ovos, carne e leite os principais causadores de surtos de toxinfecções alimentares (NOTERMANS; VERDEGAAL, 1992; ABREU; MERLINI; BEGOTTI, 2011).

Segundo as estatísticas de toxinfecções alimentares, pode se dizer que a *Salmonella* spp. é um dos microrganismos mais patogênicos transmitido via carne que podem acometer o homem e os animais, causando gastroenterites. Mas a presença *E. coli* também é bastante comum em alimentos, sendo o agente etiológico mais envolvido em surtos alimentares (MARCHI et al., 2012).

Outros indicadores microbiológicos importantes para identificação de falhas de higiene nos alimentos são as contagens de mesófilos, coliformes totais e termotolerantes, os quais são indicativos de manipulação com higiene deficiente, armazenamento inadequado e possivelmente contaminação fecal. Devido a isso a carne moída exige, devido à sua alta superfície de contato, manipulação higiênica e temperaturas baixas de conservação, para que se tenha um produto de qualidade e livre de microrganismos que possam contaminar futuramente o consumidor final (PIGARRO; SANTOS, 2008).

### 2.1 MESÓFILOS TOTAIS

Os mesófilos totais têm sua temperatura ótima entre 30°C e 40°C, porém esses microrganismos podem se multiplicar em temperaturas entre 20°C e 45°C (JAY, 2005).

A Legislação brasileira (BRASIL, 2001), não estabelece limites de tolerância para o grupo de mesófilos totais em carne moída, porém, alta carga microbiana está relacionada a uma qualidade higiênica deficiente, que aliada à temperatura, local de estocagem e tempo inadequados, propiciam ambiente ótimo para proliferação destes microrganismos (LIVONI et al., 2013). A presença destes microrganismos na carne moída fresca, em altas quantidades, também indica que essa carne está com prazo de vida útil comprometida ou até mesmo fora do prazo de validade.

Principalmente em temperaturas de refrigeração é comum que se observe espécies de mesófilos em diversos tipos de alimentos. Normalmente, estes organismos só se multiplicam em faixas ótimas de temperatura, alguns exemplos são: *Escherichia coli* e *Salmonella spp* (JAY, 2005).

No estudo de Marchi et al. (2012) sobre avaliação microbiológica e físico-química da carne bovina moída comercializada em supermercados e açougues de Jaboticabal-SP, de 30 amostras analisadas 56,6% apresentaram populações de  $10^5$  a  $10^9$  UFC/g de mesófilos, entretanto as médias ficaram na ordem de  $10^5$  UFC/g.

Resultados semelhantes ocorreram no trabalho de Manfrin (2013), em que das 18 amostras de carne moída analisadas, provenientes de Brasília e Taguatinga-DF, 15 amostras (84,33%) estavam com contagens acima de  $10^5$  UFC/g, indicando início de putrefação.

No trabalho de Lundgren et al. (2009), o valor médio do número de bactérias aeróbias mesófilas foi  $3,0 \times 10^7$  UFC/g, um valor que indica carnes em início de putrefação, exalando odores.

Carneiro e Santos (2010) em seu estudo de análise microbiológica da carne bovina comercializada em açougues do Distrito Federal antes e após o processo de moagem, teve como resultado 100% (8) das amostras positivas para mesófilos totais, sendo uma média de  $6,5 \times 10^5$  UFC/g, que não indica deterioração, porém grandes quantidades dessas bactérias denotam que há fermentação e esse produto pode estar em início de deterioração, cuja contagem inicia-se na faixa de  $10^6$  UFC/g.

Dessa forma, elevadas contagens microbianas de mesófilos é indicativo de multiplicação de bactérias na carne, inclusive patogênicas, determinando risco para os consumidores, pois à medida que essa população de patógenos aumenta, cresce também a possibilidade que outros patógenos venham a liberar toxinas nos alimentos, sendo um problema de saúde pública (APHA, 2001).

## 2.2 COLIFORMES TOTAIS

Animais de sangue quente geralmente são portadores de microrganismos patogênicos em seu trato intestinal. Há várias formas de contaminação, entre elas estão: durante o abate, após o abate e também no processo de armazenamento e distribuição. O nível de contaminação por bactérias pode variar de acordo com a

higiene no abate, o transporte e as boas práticas de fabricação (COSTA; MOREIRA 2008).

O grupo dos coliformes totais inclui as bactérias aeróbias e anaeróbias facultativas, Gram-negativas que tem forma de bastonetes, não-esporogênicos e capazes de fermentar a lactose com produção de gás, em 24 a 48 horas a 35 °C. Esta é a mesma definição para os coliformes termotolerantes, porém a capacidade de fermentar a lactose ocorre com produção de gás em 24 horas na temperatura de 44,5 °C a 45,5 °C (CARDOSO, 2003).

Altas contagens de coliformes indicam não só falha da higiene no processamento das carnes como também pode haver presença de patógenos de origem fecal e a ocorrência de enteropatógenos nos alimentos (FRANCO; LANDGRAF, 2004).

Não necessariamente a presença de coliformes totais indica que há bactérias patogênicas, porém indica que o alimento tem condição propícia de contaminação e proliferação de bactérias, pois uma alta contagem destes indica que há falhas no processamento, na higienização do local de manipulação das carnes e refrigeração ineficaz (FERREIRA; SIMM, 2012; CARVALHO; CORTEZ, 2005).

Mesmo a legislação brasileira não estabelecendo padrões de contagem de coliformes totais, sabe-se que sua alta contagem indica falhas na higiene do local, o que deve ser analisado, pois altas concentrações de coliformes podem ser prejudiciais a qualidades dos produtos, podendo afetar diretamente a saúde do consumidor (LIVONI et al., 2013).

Por não haver parâmetro para a contagem de coliformes totais em carne moída na legislação brasileira, usa-se o parâmetro para carnes bovinas fracionadas, que a 45 °C tem limite máximo de  $5,0 \times 10^3$  NMP/g (BRASIL, 2001; ALVES et al., 2011).

No estudo de Alves et al. (2011) sobre coliformes e *Salmonellas* em carne moída, na contagem de coliformes a 35 °C, foi possível observar que de 30 amostras coletadas de carne, 93% apresentaram contaminação destas bactérias. Os resultados tiveram variação de 1,36 a 3,38 NMP/g, apesar de ser um resultado relativamente baixo e a RDC nº 12/200 de 02 de janeiro de 2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (BRASIL, 2001) não delimitar no Brasil parâmetros microbiológicos de coliformes totais para carne bovina *in natura*, altas contagens de coliformes nas carnes é indicativo de deterioração.

Dias et al. (2008) encontraram todas as amostras com contagens acima do padrão esperado de coliformes totais ( $5 \times 10^3$ ) ao avaliar 24 amostras de carne bovina moída de 10 diferentes estabelecimentos da região Sul do Rio Grande do Sul. O estudo indicou que quanto maior a contagem de coliformes totais, piores eram as condições de higiene dos locais e dos produtos elaborados.

Desta forma, o consumidor deve estar atento na compra da carne moída para que se evite contaminações por via dos alimentos. Dentre estes cuidados destaca-se a higiene geral do estabelecimento, assim como das mãos dos manipuladores, dos utensílios que entram em contato com a carne e do moedor, o uso de equipamentos de proteção individual (EPI's), a validade da carne, e a temperatura, que tem que estar adequada para a conservação da mesma. Além disso, a temperatura de conservação durante o transporte do alimento desde a obtenção da matéria prima até a mesa do consumidor final é de suma importância para evitar surtos alimentares. Dessa forma, o ideal seria obter um produto de qualidade, com contagens microbianas mais baixas possíveis (FONTOURA et al., 2010).

### 2.3 COLIFORMES TERMOTOLERANTES

São definidos como coliformes termotolerantes aqueles que são capazes de fermentar a lactose a 44-45° C, tendo como agente mais importante a *Escherichia coli*, que representa 90% dos coliformes, no entanto, também há outros gêneros como *Klebsiella*, *Enterobacter* e *Citrobacter*, que não são de origem fecal. Por isso, a presença desses coliformes não são indicadores diretos de contaminação fecal em relação à contagem de *E.coli*, que correspondem ao melhor indicador neste aspecto, porém são bem mais significativos do que a contagem de coliformes totais (FRANCO; LANDGRAF, 2004; PIGARRO; SANTOS, 2008).

A Resolução RDC nº 126 (ANVISA, 2005) não estabelece padrões microbiológicos para coliformes em carne bovina *in natura*, então usa-se o padrão para carnes fracionadas ( $5 \times 10^3$  NMP/g). Estas bactérias coliformes têm sido usadas como indicadores de condições precárias de higiene nos alimentos como a carne, devido à rapidez do diagnóstico e a facilidade do isolamento da bactéria, podendo tomar providências em tempo hábil. Além disso, a presença de coliformes indica falhas na manipulação da carne, assim como também indica contaminação fecal (LIVONI et al., 2013).

Na pesquisa de Abreu, Merlini e Begotti (2011), das 10 amostras coletadas de carne moída, em 90% destas amostras foram encontradas coliformes termotolerantes sendo que 30% apresentaram níveis de contaminação considerados preocupantes (acima de  $5 \times 10^3$  NMP/g), assim como Fritzen et al. (2006) no Paraná que encontraram 76% das amostras em desacordo com os padrões de carne fracionada, portanto sendo de grande importância a ausência, ou poucas quantidades destes microrganismos nos alimentos.

## 2.4 *ESCHERICHIA COLI*

Por pertencer à microbiota intestinal, a *Escherichia coli* é considerada o melhor dos indicadores de contaminação de origem fecal nos alimentos. Além de sua presença indicar higiene ineficaz dos alimentos, sua importância está ligada a cepas patogênicas que estão envolvidas em surtos de doenças transmitidas por alimentos de origem animal, causando grandes problemas à saúde pública, dentre eles leves diarreias, febre, tenesmo, até doenças gastrointestinais, doenças do trato genito-urinário e óbito, assim como perdas econômicas (MENG et al., 2007).

A *E. coli* se difere das outras espécies do gênero pela sua capacidade de fermentar a lactose, produzir indol a partir do triptofano, sua motilidade ser positiva e não ser capaz de utilizar citrato como fonte de carbono (QUINN et al., 2005).

São reconhecidos seis grupos de *E. coli* diarreinogênicas, baseados nos sintomas de cada doença e suas características sorológicas. São elas *E. coli* enteroagregativas (EaggEC), *E. coli* enteroinvasiva (EIEC), *E. coli* enterotoxigênica (ETEC), *E. coli* enteropatogênica (EPEC), *E. coli* enterohemorrágicas (EHEC) e *E. coli* produtora de Shiga toxina (STEC) (FDA, 2009; HUANG et al., 2006).

Para a saúde pública um dos patótipos de maior importância é a STEC, devido ao seu envolvimento em surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTA's) (LUCATELLI, 2012).

As STEC são motivos de alerta para a saúde pública devido não só aos surtos alimentares, mas por ser o principal causador da Síndrome Hemolítico Urêmica (SHU) em crianças. De acordo com o Center for disease control and prevention - CDC (2010), nos Estados Unidos ocorrem anualmente 73.000 casos de infecção com 3000 hospitalizações e pelo menos 90 mortes causadas por esse

patotipo STEC, e na maioria dos surtos, os alimentos eram os principais veiculadores da doença (CDC, 2010; KARMALI, 2010).

A *E. coli* foi isolada em altos índices em alimentos de origem animal na Argentina, atingindo o ranking mundial de causadora de Síndrome Hemolítico Urêmica em crianças. Desses surtos o principal alimento envolvido foi a carne moída (RIVAS, 2003).

Os ruminantes são os principais reservatórios naturais das STEC, sendo que estes animais quando infectados, viram portadores assintomáticos da doença. Também são encontradas no intestino de diversos animais de sangue quente, denotando uma facilidade de infecção nos seres humanos através da carne (KAPER et al., 2004; MONEY et al., 2010).

Os surtos notificados de *E. coli*, em sua maioria, tem sido transmitidos por alimentos de origem animal, mais precisamente de carne moída crua ou mal passada, incluindo também casos esporádicos (CVE, 2010).

No estudo de Oliveira et al. (2008b) o resultado da pesquisa com carne moída delimitou que em 70% das 30 amostras, houve a presença de *Escherichia coli* pelas provas bioquímicas. Na pesquisa de Lundgren et al. (2009) foi confirmada, por meio de provas bioquímicas que das 10 amostras coletadas, a presença de *E. coli*, equivalia a 60%.

Tendo em vista que a carne ainda é um importante transmissor de *E. coli* para os seres humanos, juntamente com ovos, leite e produtos de origem animal, é essencial que haja maior controle de vigilância destes microrganismos, pois são capazes de sobreviver até nas condições mais desfavoráveis, principalmente em produtos que são refrigerados ou congelados por longos períodos. Tal fator contribui para o aumento dos surtos de doenças transmitidas por alimentos aos consumidores (PISSETI, 2012).

## 2.5 SALMONELLA SPP.

De acordo com a RDC nº 12 da ANVISA, a presença de *Salmonella spp.* nas amostras de um estabelecimento é considerada inaceitável, uma vez que os padrões microbiológicos adotados no Brasil para a carne moída estabelecem a ausência de *Salmonella spp.* em 25 g da amostra (ALVES et al., 2011; BRASIL, 2001).



Segundo Ferreira e Simm (2012), a *Salmonella spp.* está envolvida em diversos surtos alimentares por todo o mundo, podendo provocar danos graves à saúde. Por estar presente em produtos cárneos a preocupação ainda é maior, pois, além disso, se verifica o surgimento e disseminação de cepas multirresistentes e potencialmente mais patogênicas (ROWLANDS et al., 2014).

Por ser uma bactéria que habita a microbiota entérica dos animais, a *Salmonella spp.* exerce um papel oportunista, por essa razão é a afecção clínica de maior ocorrência em animais. O período de incubação das gastroenterites causadas por ingestão de alimentos contaminados por *Salmonella spp.* variam entre 12 e 24 horas, podendo persistir por até 3 a 5 dias, apresentando sintomas de vômitos, diarreias, com ou sem sangue e ocasionalmente febre, tenesmo e dores abdominais. Muitos casos de DTA'S não são notificados por apresentarem sintomas semelhantes a gripes, diarreias e vômitos discretos. Pessoas imunossuprimidas, idosos e crianças, são mais susceptíveis, uma vez que a patogenicidade do agente é influenciada pela idade, dose infectante e pelo status imunológico do hospedeiro (SOUZA, 2007; PIGARRO; SANTOS, 2008; AMSON, HARACEMIV; MASSON, 2006).

Pelo menos mais de 2000 diferentes sorotipos foram descritos no gênero *Salmonella*, e embora vários destes tenham sido identificados em animais, não existe espécie-especificidade nas infecções por este microrganismo. Portanto, todos os sorotipos de *Salmonella* podem transmitir doenças aos seres humanos, embora a maioria das infecções seja causada por um número limitado (STEVENS et al., 2008).

Há duas formas de manifestações clínicas da salmonelose em humanos, a forma não tifóide (gastroentérica) que é causada pela *Salmonella enterica* subsp. *enterica* sorovariedade Enteritidis e *S.sorovariedade typhimurium*, e a forma tifóide e paratifóide (entérica) causada por *Salmonella enterica* subsp. *enterica* sorovariedade *typhi*. A forma gastroentérica é mais associada ao consumo de alimentos de origem animal contaminados, principalmente ovos e carnes. Se tratando da forma entérica, há um elevado risco de multiplicação bacteriana no sangue, aumentando a gravidade da doença podendo levar à morte (EFSA, 2008; FRANCO; LANDGRAF, 2004).

Segundo Seixas, Touchetto e Ferraz (2009), o Brasil deveria seguir e desenvolver programas de controle de *Salmonella*, atendendo às exigências crescentes

dos consumidores e melhorando o padrão sanitário dos produtos de origem animal (CARVALHO; CORTEZ, 2005).

A presença de *Salmonella spp.* na carne moída dos estabelecimentos comerciais pode estar relacionada a diversos fatores, entre eles: instalações físicas inadequadas, treinamento ineficaz ou nulo, uso de adornos pelos manipuladores, falta de produtos adequados para a higienização das mãos dos manipuladores e temperaturas altas para conservação das carnes (OLIVEIRA et al. 2008b; ABREU; MERLINI; BEGOTTI, 2011).

No Brasil, os trabalhadores do setor de carnes possuem baixos níveis sociais e culturais. Por esta razão, é importante que se dê atenção ao treinamento desses profissionais, para que os hábitos de higiene sejam seguidos, uma vez que, é fundamental garantir uma boa qualidade dos produtos manipulados. A utilização dos EPI's deve ser de caráter contínuo, enfatizando que a saúde e higiene são necessários para uma boa qualidade dos alimentos. Esta educação deve se estender desde a obtenção da matéria-prima até higiene das instalações, moedores e utensílios que entram em contato com a carne moída (ABRAHÃO; NOGUEIRA; MALLUCELLI, 2005).

No estudo de Marchi et al. (2012) sobre a avaliação microbiológica de carne moída comercializada em mercados públicos de 30 amostras coletadas de carne moída, notou-se que nenhuma amostra coletada atendia a legislação vigente, onde diz que carne moída refrigerada deve ser mantida à temperatura de 0°C a 4°C, mas a menor temperatura aferida foi de 6°C e a maior 21°C. Resultado semelhante foi encontrado no trabalho de Oliveira et al. (2008a), em que a carne avaliada estava com temperatura acima de 7° C.

Desta forma, alimentos de origem animal são os principais veiculadores das salmoneloses humanas, podendo tornar-se um problema potencial de saúde pública em decorrência dos quadros de infecção alimentar. O Brasil como grande exportador mundial de carne bovina e de aves deve ter rigidez no controle sanitário e na vigilância desses alimentos, para que os padrões exigidos pelos países importadores sejam alcançados e se evite perdas econômicas (QUINN et al. 2005; CARVALHO; CORTEZ, 2005).

Seixas, Touchetto e Ferraz (2009) em seu trabalho observaram que as quinze cepas de *Salmonella* identificadas pertenciam a cinco sorovariedades, destacando-se *S. enterica* subsp. *enterica* sorovariedade Typhimurium, em 46,7% (7/15) dos

isolados, assim como Minharro et al. (2015) que identificou em sua pesquisa 38,46% de *Salmonella enterica* subsp. *enterica* sorovariedade Enteritidis.

Segundo Greig e Ravel (2009), das infecções alimentares notificadas em diversos países, a *Salmonella spp.* foi responsável por diversos casos nos anos de 1998 a 2007, sendo a carne o principal veículo da doença em 5,1 % de 991 casos de infecção alimentar por *Salmonella enterica* sorovariedade Enteritidis e 8,5 % de 270 casos por *Salmonella enterica* Typhimurium, sendo a S. Enteritidis o sorotipo que mais causou surtos alimentares notificados entre 1998 e 2002 nos EUA (CDC, 2013).

Em 2013, nos Estados Unidos foram infectadas 22 pessoas por *Salmonella enterica* Typhimurium, e todas foram hospitalizadas, apesar de nenhuma morte ter sido relatada. A carne moída crua ou mal cozida ainda continua sendo um dos meios comuns de transmissão desta cepa (CDC, 2013).

De acordo com a Vigilância epidemiológica de DTA do Brasil, *Salmonella spp.*, *S. aureus* e *Escherichia coli* são os principais microrganismos responsáveis por surtos alimentares no Brasil e, em sua grande maioria, a contaminação ocorre em casa resultando em 38,4% dos casos em 2015, seguido dos restaurantes/padarias com 15,5% dos casos relatados em 2015 (LANZA, 2016).

## 2.6 USO DE ANTIBIÓTICOS

Antimicrobianos são compostos capazes de causar a morte em bactérias e fungos ou inibir o crescimento, sendo classificados como bactericidas e bacteriostáticos, respectivamente (WASH, 2003).

As sulfonamidas foram os primeiros antibióticos efetivos contra infecções que foram descobertos, porém não tinham amplo espectro de ação, então descobriu-se a Penicilina em 1928, que representou um grande marco para a medicina. Após essa descoberta, rapidamente foram aparecendo novos antimicrobianos como os B-lactâmicos, aminoglicosídeos, tetraciclina, quinolonas e pleuromutilinas entre os anos de 1940- 1960. A partir daí apareceram os antibióticos semi-sintéticos, que eram obtidos a partir dos protótipos naturais microbianos (NICOLAOU; MONTAGNON, 2008).

Nos anos de 1980-2000, houve uma redução no descobrimento de novos antibióticos à medida que ocorreu a incidência de resistência bacteriana,

possivelmente, por esse motivo, os antibióticos utilizados há mais tempo no mercado estão com seu uso restrito no tratamento de infecções (FERNANDES, 2006), sendo seu uso proibido como aditivos zootécnicos melhoradores de desempenho em animais (MAPA, 2009).

O uso de antimicrobianos é comumente utilizado no tratamento de infecções na medicina humana e veterinária. Apesar de atualmente haver uma gama de princípios ativos, o surgimento de resistência é um problema de saúde pública, por estas bactérias resistentes causarem mutações espontâneas e reestruturação de genes, os quais selecionam estas bactérias mais aptas e repassam o gene de resistência para outras (SOUZA, 1998).

Tais fatores, aliados ao uso de subdosagens ou por tempo prolongado destes antibióticos, têm tornado o tratamento de infecções mais difíceis, tendo em vista que muitas bactérias já se encontram resistentes aos principais medicamentos utilizados na medicina humana e animal (PEREIRA; ÁVILA; FERNANDES, 2004).

Para controlar essa situação é necessário que haja campanhas para orientação de profissionais da saúde, principalmente da área veterinária, para uma correta utilização de antimicrobianos, tanto em uso na terapêutica quanto em produtos de origem de animal (MOTA et al., 2005).

## REFERÊNCIAS

ABRAHÃO R.C.; NOGUEIRA P.A.; MALLUCELI M.I.C. O comércio clandestino de carne e leite no Brasil e o risco da transmissão da tuberculose bovina e de outras doenças ao homem: um problema de saúde pública. **Archives of Veterinary Science**, v.10, n.2, p.1-17, 2005.

ABREU, C. O.; MERLINI, L. S.; BEGOTTI, I. L. Pesquisa de *Salmonella* spp, *Staphylococcus aureus*, coliformes totais e coliformes termotolerantes em carne moída comercializada no município de Umuarama-PR. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, v.14, n.1, p. 19-23, 2011.

ALVES, V. B. et al. Coliformes e *Salmonella SPP.* em carne moída comercializada em Teresina-PI. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v.1, n.33, p.32-36, 2011.

AMSON, V. G; HARACEMIV, C. M. S; MASSON, L. M. Levantamento de dados epidemiológicos relativos às ocorrências/ surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTAs) no estado do Paraná – Brasil, no período de 1978 a 2000. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. 6, p. 1139-1145, 2006.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução nº 126, de 16 de maio de 2005.** Disponibilização do bulário eletrônico da ANVISA. Disponível em: <https://www.diariodasleis.com.br/busca/exibelink.php?numLink=1-9-34-2005-05-16-126>. Acesso em:15 de janeiro de 2016

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

BAPTISTA, A. L. et al. aspectos qualitativos da carne moída comercializada na região metropolitana do Recife-PE. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.7, n.1 p.38-47, 2013.

BERGAMINI, G.et al. prevalence and characteristics of shiga toxin-producing *Escherichia coli* (stec) strains in ground beef in São Paulo, Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**. v.38, p. 553-556, 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução RDC n. 12, de 2 de janeiro de 2001. Aprova o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**. Brasília, 10 jan 2001, Seção 1, n. 7-E, p. 45-53.

CARDOSO L. A. Parâmetros de qualidade em produtos prontos para consumo imediato e congelados artesanais comercializados no distrito Federal no período de 1997-2001. **Higiene Alimentar**, v.17, n.109, p.40-44, 2003.

CARNEIRO, L. A.; SANTOS, P. F. B. Avaliação microbiológica da carne moída comercializada em açougues de Brasília/DF. **Ciências da Saúde**, Brasília, v.8, n. 1, p. 33-43, 2010.

CARVALHO, A. C. F. B.; CORTEZ, A. L. L. *Salmonella* spp. em carcaças, carne mecanicamente separada, linguiças e cortes comerciais de frango. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.35, n.6, p.1465-1468, 2005.

CDC - **Center for Disease Control and Prevention**. 2010. Disponível em: <[http://www.cdc.gov/nczved/divisions/dfbmd/diseases/ecoli\\_o157h/index.html#who](http://www.cdc.gov/nczved/divisions/dfbmd/diseases/ecoli_o157h/index.html#who)>. Acesso em: 03/04/2015

CDC - CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Surveillance for Foodborne-Disease Outbreaks - United States, 1998-2002**. Morbidity and Mortality Weekly Report(MMWR) November, 2013. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/ss5510a1.htm#>>. Acesso em: 05/05/2015.

COSTA, F.N; MOREIRA, A. P. O. Avaliação microbiológica da carne bovina moída comercializada no município de Jaboticabal, SP. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 160, n. 22, p. 62-65, 2008.

CVE/SP- Informe net DTA. Informações sobre doenças transmitidas por água e alimentos. **Divisão de Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar**. 2010. Disponível em: <http://www.cve.saude.sp.gov.br/htm/hidrica/Ecolinet.html>. Acesso em: 28/04/2015

DIAS, P. A. et al. Qualidade Higiênico-Sanitária de Carne Bovina Moída e de Embutidos Frescos Comercializados no Sul do Rio Grande do Sul, Brasil. **Arquivo Instituto Biológico**. São Paulo, v.75, n.3, p.359- 363, 2008. Disponível em: <http://www.ufpel.tche.br/veterinaria/inspleite/documentos/2008/AIBembutidos.pdf>. Acesso em: 02/05/2015

EFSA. Report of the Task Force on Zoonoses Data Collection on the Analysis of the baseline survey on the prevalence of *Salmonella* in slaughter pigs, Part A: *Salmonella* prevalence estimates. **EFSA Journal**, v.135, 111p. Disponível em: [www.efsa.europa.eu](http://www.efsa.europa.eu), 2008.

FDA-FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins Handbook- *Escherichia coli* O157: H7**. 2009. Disponível em: <http://vm.cfsan.fda.gov/%7Emow/chap15.html>. Acesso em: 03/04/2015

FERNANDES, P. Antibacterial discovery and development- the failure of success **National Biotechnology**, v. 24, p.1497-1503, 2006.

FERREIRA, S. F.; SIMM, E. M. Análise microbiológica da carne moída de um açougue da região central do município de Pará de Minas/MG. **SynThesis Revista Digital FAPAM**, v.3, p.37 - 61, 2012.

FONTOURA, C. L.; ROSSI JUNIOR, O. D.; MARTINELLI, T. M.; CERESER, N. D. Estudo microbiológico em carcaças bovinas e influência da refrigeração sobre a microbiota contaminante. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.77, p.189-193, 2010.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Editora Atheneu, 2004.

FRITZEN, A.L.; SCWERZ, D.L.; GABIATTI, E.C.;PADILHA, V.; MACARI, S.M. Análise microbiológica de carne moída de açougues pertencentes a 9o Regional de Saúde do Paraná. **Higiene Alimentar**, v.20, n.144, 2006

GREIG, J.D.; RAVEL, A. Analysis of foodborne outbreak data reported internationally for source attribution. **International Journal of Food Microbiology**. v.130 p.77–87, 2009. Disponível em: [www.sciencedirect.com](http://www.sciencedirect.com) in [www.elsevier.com/locate/ijfoodmicro](http://www.elsevier.com/locate/ijfoodmicro)

HUANG, D. B. et al. A review of an emerging enteric pathogen: enteriaggregative *Escherichia coli*. **Journal of medical Microbiology**, v. 55, p. 1303-1311, 2006.

JAY J. M. **Microbiologia de alimentos**. 6a ed. Porto Alegre: Editora Artmed, Porto Alegre, p.711, 2005.

JAWETZ, E. et al. **Microbiologia médica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991. 519 p.

KAPER, J.B.; NATARO, J.P.; MOBLEY, H.L.T. Pathogenic *Escherichia coli*. **Nature Reviews Microbiology**, v. 2, p.123-140, 2004

KARMALI, M. A. Verocytotoxin-producing *Escherichia coli* (VTEC). **Veterinary Microbiology**, v.140, p. 360-370, 2010.

LANZA, J. Surtos alimentares no Brasil-Dados atualizados em Janeiro de 2016. 2016. Disponível em: < <http://foodsafetybrazil.org/surtos-alimentares-no-brasil-dados-atualizados-em-janeiro-de-2016/>>. Acesso em: 17 ago. 2016.

LIVONI, J. F. L. S.; BEGOTTI, I. L.; MERLINI, L. S. Qualidade higiênico-sanitária da carne bovina moída comercializada no município de Umuarama, PR, Brasil. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.9, N.16; p.1881, 2013.

LUCATELLI, A. ***Escherichia coli* produtora de toxina Shiga em carne moída comercializada na cidade de São Paulo-SP**. 2012. 56f. Dissertação (Mestrado na área de Bromatologia) Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

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

MANFRIN, L. C. **Avaliação da qualidade microbiológica de carne moída bovina comercializada nos supermercados das cidades de Brasília e Taguatinga - DF**.

2013. 61 f. Monografia (Bacharelado em Farmácia) - Universidade de Brasília, Brasília, 2013. Disponível em: [bdm.unb.br/handle/10483/7020](http://bdm.unb.br/handle/10483/7020). Acesso em: 29/04/2015.

MAPA. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/animal/especies/bovinos-e-bubalinos>.2016. Acesso em 15 de janeiro de 2016.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 26 de 09/07/2009. **REGULAMENTO TÉCNICO PARA A FABRICAÇÃO, O CONTROLE DE QUALIDADE, A COMERCIALIZAÇÃO E O EMPREGO DE PRODUTOS ANTIMICROBIANOS DE USO VETERINÁRIO, na forma dos Anexos a presente Instrução Normativa**. Disponível em: <https://www.diariodasleis.com.br/busca/exibmlink.php?numlink=211608>

MARCHI, P. G. F. et al. Avaliação microbiológica e físico-química da carne bovina moída comercializada em supermercados e açougues de Jaboticabal – SP. **Revista Eletrônica da Univar**, n.7 p. 81-87, 2012.

MENG, J. et al. Enterohemorrhagic *Escherichia coli*. In: DOYLE, M. P.; BEUCHAT, L. R. **Food Microbiology: fundamental and frontiers**. 3. ed. Washington, D.C.: American Society for Microbiology, cap.12, p.249-269, 2007.

MINHARRO, S. et al. Antimicrobial susceptibility of Salmonella serovars isolated from edible offal and carcasses of slaughtered poultry in the state of Tocantins, Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 36, n. 4, p. 2661-2670, jul./ago. 2015.

MONEY, P. et al. Cattle, weather and water: mapping *Escherichia coli* O157:H7 infections in humans in England and Scotland. **Environmental Microbiology**, v. 12(10), p. 2633-2644, 2010.

MOTA, R. A. et al. Utilização indiscriminada de antimicrobianos e sua contribuição a multirresistência bacteriana. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 42, n. 6, p. 465-470, 2005.

NICOLAOU, K. C.; MONTAGNON, T. Molecules that Changed the World. **Wiley VCH**: Weinheim, 2008, cap. 13.

NOTERMANS, S.; VERDEGAAL, A. H. Existing and emerging foodborne diseases. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 15, p. 197-205, 1992.

OLIVEIRA M. M. M. et al. Condições Higiênico-sanitárias de Máquinas de Moer Carne, Mãos de Manipuladores e Qualidade Microbiológica da Carne Moída. **Ciência e Agrotecnologia** Lavras, v. 32, n. 6, p. 1893-1898, nov./dez., 2008b.

OLIVEIRA, S. et al.. Avaliação das condições higiênico-sanitárias de carne bovina comercializada em supermercados de João Pessoa. **Alimentos e nutrição**. v.19, n.1, p. 61-66, 2008a.



PEREIRA, R. N.; ÁVILA, F. A.; FERNANDES, S. A. Estudo do perfil epidemiológico da Salmonelose em bezerros e da sensibilidade a antimicrobianos na região de Ribeirão Preto–SP, Brasil. **Ars. Veterinaria**, v. 20, n. 1, p.62-66, 2004.

PIGARRO, M. A. P.; SANTOS, M. **Avaliação microbiológica da carne moída de duas redes de supermercados da cidade de Londrina- PR**. 2008. 59 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Pós-Graduação em Higiene e Inspeção de Produtos de Origem Animal) - Universidade Castelo Branco, Instituto Qualittas, Londrina, 2008.

PISSETTI, C. **Ocorrência de *Salmonella enterica*, *Listeria monocytogenes* e frequência de isolados de *Escherichia coli* resistentes a antimicrobianos em fezes e carcaças suínas na etapa de pré-resfriamento**. 2012. 91f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2012.

QUINN, P. J. et al. **Microbiologia veterinária e doenças infecciosas**. 3º ed. Artmed, Porto Alegre, p.115-130, 2005.

RIVAS, M. et al. **Emerging Infectious Diseases**. v.9, n.9, 2003. Disponível em <<http://www.cdc.gov/ncidod/eid/vol9no9/02-0563.htm>>.

ROWLANDS, R. E. G. et al. Prevalência de resistência antimicrobiana e características de virulência em *Salmonella* spp. isoladas de alimentos associados ou não com salmonelose no Brasil. **Revista do Instituto de Medicina tropical de São Paulo**. v.56, n.6, p. 461-467, 2014.

SEAGRO. **Secretaria da agricultura e da pecuária**. Disponível em: <http://seagro.to.gov.br/agronegocios/pecuaria/>. Acesso em 15 de janeiro de 2016.

SEIXAS, F. N.; TOCHETTO, R.; FERRAZ, S. M. Presença de *Salmonella* sp. em carcaças suínas amostradas em diferentes pontos da linha de processamento. **Ciência Animal Brasileira**, v. 10, n. 2, p. 634-640, 2009.

SOUZA, C. S. Uma guerra quase perdida. **Revista Ciência Hoje**, v. 23, n. 138, p. 27-35, 1998.

SOUZA, S. F. **Microbiologia da carne**. Universidade de Córdoba, Argentina, 2007. Disponível em: [www.blog.medicinavet.com.br/2007/07/29/microbiologia-da-carne/](http://www.blog.medicinavet.com.br/2007/07/29/microbiologia-da-carne/) – Acesso em março, 2015.

STEVENS, A. et al. 2008. Epidemiological analysis of *Salmonella enterica* from beef sampled in the slaughterhouse and retailers in Dakar (Senegal) using pulsed –field electrophoresis and antibiotic susceptibility testing. **International Journal Food Microbiology**.123: 191-97, Disponível em: [www.sciencedirect.com](http://www.sciencedirect.com) in [www.elsevier.com/locate/ijfoodmicro](http://www.elsevier.com/locate/ijfoodmicro)

WALSH, C. Antibiotics: Actions, Origins, Resistance. **American Society for Microbiology Press**, Washington, 2003.

## **CAPÍTULO II**

### **Avaliação da qualidade higiênico-sanitária de carne moída em Araguaína-TO**

## **Avaliação da qualidade higiênico-sanitária de carne moída em Araguaína-TO**

### **EVALUATION OF THE SANITARY QUALITY OF GROUND BEEF IN ARAGUAÍNA-TO**

**Resumo:** Por ser um alimento mundialmente consumido, a carne moída é um veiculador de microrganismos muito importante quando se trata de um produto de má qualidade. Portanto deve se tomar alguns cuidados para que este alimento, rico em proteínas, seja manipulado da forma mais higiênica possível, desde a obtenção da matéria-prima até a mesa do consumidor final. Para averiguar a qualidade destas carnes no município de Araguaína, foram feitas coletas em estabelecimentos comercializadores de carnes da zona urbana, mais precisamente em 106 lugares na 1º etapa e 101 lugares na 2º etapa. Foram realizados testes de mesófilos totais, coliformes totais, coliformes termotolerantes, *Escherichia coli* e *Salmonella spp.* por serem os principais indicadores de contaminação da carne. Os resultados encontrados na 1º coleta foram 19 (17,9%) amostras positivas para *E. coli* e 11 (10,4%) para *Salmonella spp.*, enquanto que na 2º coleta foram encontrados 21 (20,8%) de *E. coli* e 24 (23,76%) de *Salmonella spp.*, representando uma diferença significativa na quantidade de *Salmonellas* encontradas. Tais achados foram comparados com o uso de equipamentos de proteção individual e a higiene pessoal dos manipuladores destas carnes, para investigar se havia relação com o aparecimento dos microrganismos. Os resultados foram consistentes para o uso de adornos, barba/bigode, presença de baratas e não uso de toucas os quais representaram os principais fatores de risco encontrados. Julgando-se que a prática de má higiene pessoal aliada ao não uso dos equipamentos de proteção individual comprometem a qualidade das carnes comercializadas, contribuindo para a disseminação de bactérias patogênicas como *E. coli* e *Salmonella spp.*

**Palavras-chave:** Indicadores. Doenças transmitidas por alimentos. Inspeção.

**Abstract** Because it is a food consumed world-wide, the ground meat is a carrier of microorganisms very important when it is a product of poor quality. Therefore, care must be taken to ensure that this food, rich in proteins, is handled in the most hygienic way possible, from obtaining the raw material to the table of the final consumer. In order to ascertain the quality of these meats in the municipality of Araguaína, collections were made in establishments selling meat from the urban zone, more precisely in 106 places in the 1st stage and 101 places in the 2nd stage. Total mesophylls, total coliforms, thermotolerant coliforms, *Escherichia coli* and *Salmonella spp.* As they are the main indicators of meat contamination. The results found in the first collection were 19 (17.9%) positive samples for *E. coli* and 11 (10.4%) for *Salmonella spp.*, While in the second collection 21 (20.8%) of *E. coli* and 24 (23.76%) of *Salmonella spp.*, Representing a significant difference in the amount of *Salmonellas* found. These findings were compared with the use of personal protective equipment and the personal hygiene of the manipulators of these meats, to investigate if there was any relation with the appearance of the microorganisms. The results were consistent for the use of adornments, beard / mustache, presence of cockroaches and non-use of caps which represented the main risk factors found. It is believed that the practice of poor personal hygiene combined with the non-use of personal protective equipment compromises the

quality of the commercialized meat, contributing to the spread of pathogenic bacteria such as *E. coli* and *Salmonella* spp.

**Key words:** Indicators. Foodborne diseases. Inspection.

## 1 INTRODUÇÃO

De acordo com o Ministério da Agricultura (BRASIL, 2012) até o ano de 2020 espera-se que o Brasil supra 44,5% do mercado mundial de carnes, melhorando os índices de exportação e obviamente não deixando de produzir carne com qualidade, uma vez que carne bovina brasileira é bastante apreciada e é uma importante fonte de proteína de origem animal. Portanto, é fundamental que este produto seja de qualidade e livre de bactérias patogênicas (OLIVEIRA et al., 2008).

Dentre as formas de comercialização da carne bovina, a carne moída ganha destaque, por ser um alimento de escolha para crianças, idosos e doentes por sua palatabilidade, maciez e facilidade de ingestão e aos preços serem mais acessíveis do que alguns cortes cárneos, mas que como desvantagem pelo processo de moagem se não bem executada, pode favorecer a contaminação da carne moída justamente pelos moedores, que muitas vezes não são bem higienizados e lavados antes de serem usados, ou sanitização deficiente após o término do uso das mesmas (DIAS, et al., 2008).

A carne moída pode propiciar um ambiente favorável à multiplicação de bactérias pelas suas condições de pH, atividade aquosa e superfície de contato favoráveis, aliadas a falta de higiene dos manipuladores e dos locais em que essas carnes estão sendo manipuladas e mau acondicionamento (CARNEIRO; SANTOS, 2010; OLIVEIRA, 2008).

Doenças transmitidas por alimentos de origem animal, podem se transformar em problema de Saúde Pública, pois alia-se a falta higiene eficiente à deficiência nas implementações de Boas práticas de fabricação (BPF) que devem ocorrer desde a obtenção da matéria-prima até a mesa do consumidor final, contribuindo para a diminuição de contaminação por bactérias (MARCHI et al., 2012).

De acordo com Pigarro e Santos (2008) microrganismos indicadores de qualidade higiênica sanitária da carne moída são principalmente microrganismos mesófilos, coliformes totais e coliformes termotolerantes, enfatizando a *Escherichia coli* e *Salmonella* spp. que são algumas das bactérias de importância para a Saúde Pública, pois são responsáveis por muitos surtos de origem alimentar, causados principalmente por ingestão de alimentos de origem animal.

Considerando a importância que a carne moída representa na alimentação humana e o seu crescente consumo, objetivou-se neste estudo avaliar a qualidade microbiológica e presença de *Salmonella spp.* e *Escherichia coli* em carne moída comercializada em Araguaína-TO.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 AMOSTRAS

Para avaliação das condições higiênico-sanitárias da carne moída de Araguaína-TO, avaliou-se 207 amostras divididas em dois períodos sendo 106 na primeira coleta entre os meses de fevereiro a junho e 101 na segunda coleta entre os meses de agosto a novembro do ano de 2015, nas quais os endereços dos locais de venda foram fornecidos pela Vigilância Sanitária.

Assim, o número de amostras foi estimado contabilizando o total de casas/estabelecimentos de carne cadastrados na Vigilância Sanitária de Araguaína (140) de forma a abranger todos os estabelecimentos distribuídos em 119 bairros, a nível confiança de 95%, prevalência esperada de 50% e erro estatístico de 5%, (SAMPAIO, 2007), obteve-se 103 estabelecimentos. Os pontos de coleta estão apresentados na Figura 1.





Foi retirada de cada amostra 25g de carne assepticamente, que foi transferida para sacos contendo 225 mL de água peptonada estéril, em seguida homogeneizadas, para obter a diluição  $10^{-1}$ , em seguida fez-se a diluição seriada em solução salina, transferindo 1 mL para cada diluição, até obter-se a diluição  $10^{-4}$ . Logo depois em placas Petri esterilizada foi depositado 1 mL desta solução e acrescentado 20 mL de ágar padrão para contagem (PCA), fundido e resfriado a temperatura de 45°C. Após homogeneização e solidificação do ágar em temperatura ambiente, as placas foram invertidas e incubadas a 35°C por 24 a 48 horas. As contagens de mesófilos foram realizadas em contador de colônias.

O resultado foi obtido pela média do número das colônias contadas nas placas, multiplicado pelo fator de diluição da placa correspondente, forneceu o número de microrganismos mesófilos por grama da amostra analisada (APHA, 2001; ICMSF, 2000).

### **2.2.2 Determinação do número mais provável (NMP) de coliformes totais/grama**

Foi feita a preparação de meios de cultura necessários para o teste presuntivo e confirmativo (APHA, 2001).

Para o teste presuntivo foram preparados em solução salina 0,85% estéril diluições  $10^{-1}$  a  $10^{-3}$  e transferido 1 mL de cada diluição, para três tubos contendo 9 mL de caldo Lauril Sulfato Triptose (triplicata), totalizando 9 tubos de Lauril por amostra. Após a inoculação, estes tubos foram incubados a 35°C por 24 a 48 horas. Os positivos foram aqueles que se apresentaram turvos e com formação de gás.

O teste confirmativo foi realizado partindo de cada tubo positivo de Lauril Sulfato Triptose no teste presuntivo, transferindo com auxílio de alça bacteriológica calibrada de 0,1µL do inóculo para tubos correspondentes, contendo 10 mL caldo lactose-verde brilhante-bile a 2%. A incubação foi realizada a 35°C por 24 a 48 horas e foram considerados positivos os tubos que apresentaram gás e estiveram turvos. De acordo com o número de tubos positivos foi determinado o NMP de coliformes totais por grama da amostra de acordo com a Norma Técnica L5. 202 da CETESB (1993).

### **2.2.3 Determinação do NMP de coliformes termotolerantes e *E. coli***

Os coliformes termotolerantes foram determinados a partir de cada tubo de caldo Lauril Sulfato Triptose com resultado positivo no teste presuntivo para coliformes totais, foram inoculados, com uma alçada em tubos contendo 10 mL caldo Escherichia Coli (EC) e tubo de Durhan invertido. A incubação foi realizada em banho-maria a 45 °C por 24 horas e foram considerados positivos os tubos com estavam turvos e houve presença de gás (APHA, 2001; ICMSF, 2000).

#### 2.2.3.1 *Escherichia coli*

Pesou-se de forma asséptica 1g da amostra de carne moída, em seguida acrescentou-se 10 mL de caldo Selenito, o qual promove o enriquecimento seletivo, incubando-se a amostra a 37 °C por 18 a 24 horas.

Passado esse período, com auxílio de alça de platina, coletou-se uma fração da cultura e fez-se a semeadura por esgotamento em uma placa de petri estéril contendo Ágar MacConkey. Encubou-se novamente a 37 °C por um período de 24 horas. Passado esse tempo, pescou-se uma unidade formadora de colônia totalmente isolada, inoculando-a em um tubo de ensaio contendo Ágar Tríplice Açúcar Ferro (TSI) (Krieg, Holt, 1984).

Após nova incubação a 37 °C por 24 horas realizou-se as provas bioquímicas: Uréia, Indol, VM, Citrato, Glicose, Lactose e Sacarose e complementado pelo teste Bactray®, que serve para identificação bioquímica de bactérias. Foi usado o Bactray® II para identificação de fermentadores de glicose e bactérias não fermentadoras por meio das provas de ramnose, adonitol, arabinose, sorbitol, sacarose e manitol. O teste é descartável e possui todas as provas bioquímicas capazes de identificar as bactérias de interesse (LABORCLIN, 2009).

#### 2.2.4 Pesquisa de *Salmonella* spp.

Pré-enriquecimento: de cada amostra foram retirados, assepticamente, 25 gramas e adicionados a 225 mL de água peptonada. A seguir, procedeu-se a incubação a 37 °C por 24 horas, após o qual foi realizado o enriquecimento seletivo.

Enriquecimento seletivo: nesta fase, alíquota de 1 mL da cultura de pré-enriquecimento foi inoculada em 9 mL de caldo selenito cistina e em 10 mL de caldo

Rappaport-Vassiliadis (BRASIL, 2003). Em seguida, os caldos seletivos foram incubados a 37 °C por 24 horas.

Plaqueamento seletivo: com auxílio de alça, cada cultura em caldo de enriquecimento foi semeada pela técnica de esgotamento, em ágar MacConkey e ágar Salmonella Shigella, seguido de incubação a 37 °C por 24 horas.


Identificação presuntiva: das culturas obtidas no plaqueamento seletivo foram pescadas, com auxílio de uma agulha, previamente flambada, de cada uma das placas semeadas, 2 a 4 colônias com características sugestivas do gênero *Salmonella* (ágar de coloração amarelo vermelho ou amarelo vermelho com H<sub>2</sub>S) e inoculadas em tubos contendo meio TSI.

Uma vez detectados os cultivos compatíveis com as características bioquímicas de *Salmonella*, os tubos foram destinados para a execução dos testes bioquímicos complementares, que consistem em: Uréia, Indol, VM, Citrato, Glicose, Lactose e Sacarose. Assim como feito com *E. coli*, em seguida foi feito o teste Bactray® que serve para identificação bioquímica. Foi usado o Bactray® II para identificação de fermentadores de glicose e bactérias não fermentadoras através das provas de ramnose, adonitol, arabinose, sorbitol, sacarose e manitol. O teste é descartável e possui todas as provas bioquímicas capazes de identificar as bactérias de interesse (LABORCLIN, 2009).

### 2.3 OBSERVAÇÃO VISUAL DO ASPECTO HIGIÊNICO DOS PONTOS DE COLETA DAS AMOSTRAS

Ao fazer as coletas das carnes nos estabelecimentos foram registrados os aspectos visuais dos estabelecimentos, simulando uma compra comum, a fim de evitar o mascaramento da qualidade dos produtos. Fatores como o uso de EPI's, uso de barba/bigode, visualização de pragas como baratas, moscas, insetos e ratos, aspectos gerais de equipamentos, teto, piso e parede e se o atendente é o mesmo que recebe o dinheiro e entrega a carne ao consumidor foram registrados. O estudo da associação destes fatores com o aparecimento de bactérias foi realizado através do programa Epi info 3.5.4 e com ajuda do programa Open epi.

Figura 2: Formulário de observação

	<b>FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS</b> <b>ESCOLA DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA</b>	<b>Nº da Amostra:</b>  
Nome Fantasia:		
Endereço:		
Bairro:	Telefone:	
Coordenadas:Região:		
1. EPI: <input type="checkbox"/> Jaleco ( ), Toca ( ), botas ( ), luvas ( ), adornos ( ), barba/bigode ( )		
2. Lixeira com tampa: <input type="checkbox"/> sim ( ) não		
3. Indicação da presença de pragas: <input type="checkbox"/> moscas ( ) baratas		
4. Indicação de roedores: <input type="checkbox"/> sim ( ) não		
5. Condições dos equipamentos: <input type="checkbox"/> insatisfatório -1 ( ) satisfatório, mas precisa melhorias-2 ( ) excelente-3		
6. Condições das Instalações: <input type="checkbox"/> 1 a 3 ( ) piso, ( ) parede, ( ) teto		
7. Caixa diferente do manipulador de alimento: <input type="checkbox"/> sim ( ) não		
8. Produtos de outras espécies <input type="checkbox"/> aves ( ) suínos ( ) pescados ( ) ovinos ( ) Outros		
Obs: _____		

## 2.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados das análises microbiológicas obtidos nas amostras foram enquadrados em um teste de frequência relativa e absoluta e comparados em teste de Q-quadrado, com significância de 5% (STEEL; TORRIE, 1960), utilizando o programa Epi info 3.5.4.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da pesquisa microbiológica de *E. coli* da carne bovina moída analisada estão expostos na Tabela 1. Pode-se notar que em média 19,35% (20/207) foram positivas para *E. coli* nas duas etapas. A importância deste microrganismo em alimentos como a carne está ligada a patogenicidade das cepas que estão envolvidas em surtos de doenças transmitidas por alimentos de origem animal, causando grandes problemas à saúde pública (MENG et al., 2007).

**Tabela 1.** Resultados das análises da presença de *Escherichia coli* em carne moída bovina vendida no comércio de Araguaína-TO de fevereiro a novembro de 2015.

<i>E. coli</i>	1ª coleta	2ª coleta	P bicaudal
Positivo	19 (17,9%)	21 (20,8%)	0,6
Negativo	87 (82,1%)	80 (79,2%)	
<b>Total</b>	<b>106/ 100%</b>	<b>101 /100%</b>	

Campos et al. (1999) detectaram *E. coli* acima do padrão estabelecido pela Resolução RDC nº 12 de 2001 (BRASIL, 2001) de  $5 \times 10^3$  em produtos cárneos fracionados refrigerados, por meio das provas bioquímicas em 17,6% de suas amostras analisadas. Em sua pesquisa com carne moída oriunda de Minas Gerais-MT, Junior et al. (2013) encontraram resultados superiores a este, das 25 amostras analisadas, 80% estavam contaminadas com *E. coli*.

Tais resultados, mesmo que em discordância, estão aliados a higiene ineficaz dessas carnes, indicando contaminação fecal. Sabendo-se que os ruminantes são reservatórios de *E. coli*, excretando-as pelas fezes, pode haver contaminação logo no abatedouro durante as etapas após a sangria. Alia-se isso ao transporte e armazenamento ineficiente que podem favorecer a multiplicação desses patógenos nas carnes (OLIVEIRA et al., 2008).

Segundo CDC (2014), 12 pessoas foram contaminadas por *E. coli* produtora de toxinas *Shiga* em surtos causados por carne moída nos EUA e 58% delas foram hospitalizadas em estado grave. Deve-se levar em conta que carne contaminada com *E. coli* pode causar sérios problemas de saúde aos seres humanos, devendo haver uma atenção redobrada com os alimentos consumidos para que não venham a se tornar um problema maior de saúde pública.

Quanto à influência dos EPI's com o aparecimento da *E. coli*, foi feita uma análise de correlação de ambos, para observar qual o grau de chance de aparecimento do patógeno com o não uso ou o mau uso dos equipamentos e condutas de higiene.

Das variáveis pesquisadas, os fatores que influenciaram na 1<sup>o</sup> etapa para a multiplicação de *E. coli* na carne moída, foram a presença de baratas, e o uso de barba e bigode pelos manipuladores, como mostrado na tabela 2. Apesar de estatisticamente não influenciar na presença de *E. coli* na carne como demonstra a Tabela 2, os números encontrados de manipuladores que não usam os EPI'S foram extremamente altos, 78,5%(84) dos manipuladores não usavam jaleco, 90,7% (97) não usavam luvas,75,7% (81) não faziam o uso de toucas e 82,2% (88) não usavam botas, sendo estes requisitos básicos para se manipular um alimento, evitando assim a disseminação de microrganismos patogênicos.

**Tabela 2.** Análise das variáveis pesquisadas na 1<sup>o</sup> coleta com os achados de *Escherichia coli* em carne moída bovina vendida no comércio de Araguaína-TO de fevereiro a junho de 2015.

Variável		<i>E.coli</i>						
		Negativo	%	Positivo	%	Odds Ratio(OR)	IC	Valor p
Jaleco	SIM	16	69,6	7	30,4	2,58	7,61-0,82	0,07
	NÃO	71	85,5	12	14,5			
Luvas	SIM	7	70	3	30	2,14	9,18-0,5	0,25
	NÃO	80	83,3	16	16,7			
Botas	SIM	15	78,9	4	21,1	1,11	3,67-0,28	0,45
	NÃO	71	80,7	17	19,3			
Touca	SIM	20	76,9	6	23,1	1,53	4,56-0,48	0,30
	NÃO	67	83,8	13	16,3			
Bar/Big	SIM	41	74,5	14	25,5	3,10	10,37-1,05	0,03
	NÃO	46	90,2	5	9,8			
Adornos	SIM	38	82,6	8	17,4	0,93	2,59- 0,32	0,55
	NÃO	49	81,7	11	18,3			
Baratas	SIM	0	0	3	100			0,005
	NÃO	87	84,5	16	15,5			
Moscas	SIM	75	85,2	13	14,8	0,35	1,17- 0,11	0,07
	NÃO	12	66,7	6	33,3			
Roedores	SIM	10	83,3	2	16,7	0,73	0,10- 3,36	0,52
	NÃO	70	78,7	19	21,3			

\*IC: Intervalo de confiança, Odds Ratio: Razão de chances.

A presença de barba e bigode foi um fator de risco para o aumento da multiplicação de *E. coli* na carne moída, aumentando em 3,10 vezes a chance de encontrar esse patógeno nas carnes (Tabela 2). Isso indica que a barba/bigode é um grande disseminador de bactérias quando usado pelo manipulador, tornando seu uso inviável para pessoas que manipulam alimentos.

Na pesquisa realizada por Neto e Ribeiro (2010) sobre a condição de sanduíches comercializados em Várzea Grande-MT, constataram que 100% dos manipuladores dos alimentos estavam em desconformidade de higiene, sem o uso de jalecos, toucas, máscaras no rosto e coçavam cabeça e barba com frequência.

Assim como os achados desta pesquisa, algumas das variáveis que tiveram maior influência na contaminação das carnes moídas por *E. coli*, foram a presença de baratas no local, a barba e bigode usados pelos manipuladores.

Quanto às baratas nos locais pesquisados, foram observadas somente em 3 (2,83%) estabelecimentos, sendo consideradas fatores de risco ( $P \leq 0,05$ ). O pequeno número de estabelecimentos positivos para a presença de baratas pode ser justificado pela observação superficial desta variável, considerando que os estabelecimentos não foram inspecionados.

Na pesquisa de Silva et al. (2014) sobre a adequação às boas práticas em serviços de alimentação, dos 32 estabelecimentos verificados, 65,6% estavam inadequados para entrada de vetores e pragas urbanas. A explicação para a superioridade deste trabalho em relação ao presente se dá pela diferença de como foi avaliada, enquanto Silva et al.(2014) avaliou a possível entrada de vetores e pragas, o presente estudo avaliou os insetos encontrados no local.

Segundo a legislação sobre ambientes de manipulação de alimentos, o controle de pragas e vetores é essencial para que se impeça a atração, abrigo, proliferação e acesso de vetores e pragas que possam vir a contaminar os alimentos dos estabelecimentos (BRASIL, 2004).

Verifica-se assim, que há necessidade de medidas educativas voltadas às pessoas que manipulam essas carnes, demonstrando a eles a importância do uso dos EPI's, de higiene geral do local, bem como das mãos e boas práticas que se resumem a não cuspir, espirrar ou fumar próximo aos alimentos e manter-se com a barba sempre feita e sem uso de adornos, para comercialização de um produto de melhor qualidade e livre de microrganismos (ALVES et al., 2011).

Na análise de dados feita para a 2<sup>o</sup> coleta, os fatores que influenciaram nas chances de contaminação por *E. coli* na carne moída foi o uso de adornos pelos manipuladores na hora do manuseio da carne, em que houve o aumento de 3,11 vezes as chances de contaminação por *E. coli* com o uso dos mesmos (Tabela 3).

Isso porque, a maioria dos adornos identificados nos manipuladores foram anéis, que são os principais responsáveis por acúmulo de sujidades e microrganismos, pelo fato de dificilmente serem retirados na hora da lavagem das mãos. Zeferino, Germano e Germano (2014) em sua pesquisa com garçons de um restaurante comercial detectou que 60% usavam adornos, entre eles alianças e colares, e mostravam-se resistentes à retirada da aliança.



Segundo a Portaria nº 368 (BRASIL,1997), a pessoa que está de serviço em uma área de manipulação de alimentos, deve se manter higienizada, e deve se retirar todo objeto de adornos, anéis e pulseiras, bem como, sempre usar uniforme e vestimenta adequados, luvas, botas e sempre manter os cabelos presos por toucas.

Nesta coleta, também verificou-se que 81,4% (83) dos manipuladores não usavam jalecos, 89,2% (91) não usavam luvas, 56,9%(59) não faziam o uso de botas e 56,9% (59) também não usavam toucas. Comparando-se com a primeira coleta, houve uma melhoria no uso de botas e toucas, mas estatisticamente não significativo, tendo em vista que o nível de contaminação permaneceu estável nas duas coletas.

**Tabela 3.** Análise das variáveis pesquisadas na 2<sup>o</sup> coleta com os achados de *E. coli* em carne moída bovina vendida no comércio de Araguaína-TO de agosto a novembro de 2015.

Variável		<i>E.coli</i>						
		Negativo	%	Positivo	%	Odds Ratio (OR)	IC	Valor p
Jaleco	SIM	15	78,9	4	21,4	1,01	0,26- 3,37	0,60
	NÃO	65	79,3	17	20,7			
Luvas	SIM	10	90,9	1	9,1	0,35	0,01- 2,64	0,33
	NÃO	72	80	18	20			
Botas	SIM	36	81,8	8	18,2	0,75	0,26-2,02	0,37
	NÃO	44	77,2	13	22,8			
Touca	SIM	34	77,3	10	22,7	1,22	0,45-3,27	0,42
	NÃO	46	80,7	11	19,3			
Bar/Big	SIM	3	60	2	40	2,66	0,29-19,13	0,27
	NÃO	77	80,2	19	19,8			
Adornos	SIM	9	60	6	40	3,11	0,9-10,26	0,05
	NÃO	71	82,6	15	17,4			
Baratas	SIM	8	72,7	3	27,3	1,49	0,29-6,08	0,41
	NÃO	72	80	18	20			
Moscas	SIM	8	100	0	0			0,14
	NÃO	72	77,4	21	22,6			
Roedores	SIM	10	83,3	2	16,7	0,73	0,10-3,36	0,52
	NÃO	70	78,7	19	21,3			

\*IC: Intervalo de confiança, Odds ratio\*: razão de chances.

Quanto às bactérias mesófilas, Franco e Landgraf (2004) em sua pesquisa delimitaram que quando a carne crua não sofreu deterioração microbiana, as contagens de bactérias aeróbias mesófilas ficam entre  $10^3$  e  $10^5$  UFC/G. Porém, carnes com altas concentrações microbianas apresentam valores de  $10^5$  a  $10^7$  UFC/G, indicando qualidade comprometida e possível início de deterioração. Acima de  $10^8$  UFC/g a carne já se encontra com sinais de putrefação e odores característicos de deterioração.

Pode se observar na Tabela 4, que em 20,76% das amostras (22) analisadas na 1ª etapa foram encontrados valores acima de  $10^5$  UFC/g, enquanto que na 2ª coleta foram 38,61 % das amostras (39) acima de  $10^5$  UFC/g, delimitando que na 2ª coleta as carnes estavam com mais tempo de prateleira, significando que estavam mais próximas do período de vencimento ou até mesmo deterioradas.

**Tabela 4.** Resultados das análises da presença de mesófilos em carne moída bovina vendida no comércio de Araguaína-TO de fevereiro a novembro de 2015.

Mesófilos	1ª coleta	2ª coleta	P bicaudal
Menor que $10^5$ UFC/g	84 (79,24%)	62 (61,38%)	0,01
Maior que $10^5$ UFC/g	22 (20,76%)	39 (38,61%)	
<b>Total</b>	<b>106/ 100%</b>	<b>101 /100%</b>	

Marchi et al. (2012) encontraram 60,0% das 30 amostras pesquisadas com populações de mesófilos nos intervalos entre  $10^5$  a  $10^8$ . Heredia et al. (2001) observaram, que todas as 88 amostras pesquisadas tinham a presença desses microrganismos em números elevados, na ordem  $10^6$ . A grande quantidade de mesófilos encontrado nessas carnes demonstra a higiene precária dos utensílios que entram em contato com o produto, incluindo os moedores. Isso compromete principalmente a vida útil de prateleira dessas carnes, fazendo com que seu prazo de validade diminua proporcionalmente ao aumento desses microrganismos.

A tabela 5 abaixo demonstra os resultados das duas coletas realizadas quanto a presença/ausência de *Salmonella* spp.; em que das 106 amostras analisadas na 1ª coleta, 11 (10,4%) foram positivas para *Salmonella* spp., enquanto que na 2ª etapa foram 24 (23,76%) positivas. Assim, como na análise anterior de mesófilos, o número de *Salmonella* spp. na 2ª coleta aumentou consideravelmente. Esse aumento pode ter ocorrido por falhas nas etapas de abate, transporte, manipulação e refrigeração.

**Tabela 5.** Resultados das análises da presença de *Salmonella* spp, em carne moída bovina vendida no comércio de Araguaína-TO de fevereiro a novembro de 2015.

<i>Salmonella</i>	1º Coleta	2º Coleta	P bicaudal
Positivo	11 (10,4%)	24 (23,76%)	0,01
Negativo	95 (89,6%)	77(76,23%)	
<b>Total</b>	<b>106/ 100%</b>	<b>101/100%</b>	

A resolução RDC nº 12 de 2001 (BRASIL, 2001) diz que em 25 g de amostra de carne *in natura* deve haver ausência de *Salmonella*, denotando que as carnes com presença deste microrganismo encontram-se impróprias para consumo. Damer et al. (2014) evidenciaram que em 14,28% das 14 amostras analisadas foram encontradas *Salmonella*, indicando que essas carnes fornecem riscos à saúde de quem consumi-la.

Sabe-se que a maioria das estirpes desse gênero são patogênicas, com diferentes sintomatologias, porém, por ser uma zoonose muito comum, com sintomas leves, semelhantes a gripes acompanhadas de febre e diarreia, não são notificadas, exceto quando a doença se manifesta em pessoas imunossuprimidas, crianças e idosos. Assim, representa um problema recorrente na saúde pública, merecendo bastante atenção.

Na análise das variáveis com os achados de *Salmonella* spp. como mostra a Tabela 6, verifica-se que aumentou em 1,43 as chances de contaminação da carne com a presença de barba e bigode nos manipuladores, sendo significativos os valores achados.

**Tabela 6.** Análise das variáveis pesquisadas na 1<sup>o</sup> coleta com os achados de *Salmonella spp.* em carne moída bovina vendida no comércio de Araguaína-TO de fevereiro a junho de 2015.

Variável		<i>Salmonella spp.</i>																																																																																																																		
		Negativo	%	Positivo	%	Odds Ratio (OR)	IC	Valor p																																																																																																												
Jaleco	SIM	20	87	3	13	1,40	0,31-6,77	0,93																																																																																																												
	NÃO	75	90,4	8	9,6				Luvas	SIM	9	90	1	10	0,95	0,04-7,76	0,61	NÃO	86	89,6	10	10,4	Botas	SIM	16	84,2	3	15,8	1,85	0,36-7,56	0,66	NÃO	79	90,8	8	9,2	Touca	SIM	23	91,3	3	8,8	1,17	0,2-6,56	0,88	NÃO	72	90	8	10	Bar/Big	SIM	48	87,3	7	12,7	1,43	0,36-6,69	0,02	NÃO	47	92,2	4	7,8	Adornos	SIM	40	87	6	13	1,64	0,33-5,28	0,64	NÃO	55	91,7	5	8,3	Baratas	SIM	2	66,7	1	33,3	5,07	0,15-72,46	0,71	NÃO	93	90,3	10	9,7	Moscas	SIM	79	89,8	9	10,2	0,91	0,28-45,19	0,75	NÃO	16	94,4	2	5,6	Roedores	SIM	8	88,9	1	11,1	1,21	0,04-9	0,62	NÃO
Luvas	SIM	9	90	1	10	0,95	0,04-7,76	0,61																																																																																																												
	NÃO	86	89,6	10	10,4				Botas	SIM	16	84,2	3	15,8	1,85	0,36-7,56	0,66	NÃO	79	90,8	8	9,2	Touca	SIM	23	91,3	3	8,8	1,17	0,2-6,56	0,88	NÃO	72	90	8	10	Bar/Big	SIM	48	87,3	7	12,7	1,43	0,36-6,69	0,02	NÃO	47	92,2	4	7,8	Adornos	SIM	40	87	6	13	1,64	0,33-5,28	0,64	NÃO	55	91,7	5	8,3	Baratas	SIM	2	66,7	1	33,3	5,07	0,15-72,46	0,71	NÃO	93	90,3	10	9,7	Moscas	SIM	79	89,8	9	10,2	0,91	0,28-45,19	0,75	NÃO	16	94,4	2	5,6	Roedores	SIM	8	88,9	1	11,1	1,21	0,04-9	0,62	NÃO	87	89,7	10	10,3										
Botas	SIM	16	84,2	3	15,8	1,85	0,36-7,56	0,66																																																																																																												
	NÃO	79	90,8	8	9,2				Touca	SIM	23	91,3	3	8,8	1,17	0,2-6,56	0,88	NÃO	72	90	8	10	Bar/Big	SIM	48	87,3	7	12,7	1,43	0,36-6,69	0,02	NÃO	47	92,2	4	7,8	Adornos	SIM	40	87	6	13	1,64	0,33-5,28	0,64	NÃO	55	91,7	5	8,3	Baratas	SIM	2	66,7	1	33,3	5,07	0,15-72,46	0,71	NÃO	93	90,3	10	9,7	Moscas	SIM	79	89,8	9	10,2	0,91	0,28-45,19	0,75	NÃO	16	94,4	2	5,6	Roedores	SIM	8	88,9	1	11,1	1,21	0,04-9	0,62	NÃO	87	89,7	10	10,3																								
Touca	SIM	23	91,3	3	8,8	1,17	0,2-6,56	0,88																																																																																																												
	NÃO	72	90	8	10				Bar/Big	SIM	48	87,3	7	12,7	1,43	0,36-6,69	0,02	NÃO	47	92,2	4	7,8	Adornos	SIM	40	87	6	13	1,64	0,33-5,28	0,64	NÃO	55	91,7	5	8,3	Baratas	SIM	2	66,7	1	33,3	5,07	0,15-72,46	0,71	NÃO	93	90,3	10	9,7	Moscas	SIM	79	89,8	9	10,2	0,91	0,28-45,19	0,75	NÃO	16	94,4	2	5,6	Roedores	SIM	8	88,9	1	11,1	1,21	0,04-9	0,62	NÃO	87	89,7	10	10,3																																						
Bar/Big	SIM	48	87,3	7	12,7	1,43	0,36-6,69	0,02																																																																																																												
	NÃO	47	92,2	4	7,8				Adornos	SIM	40	87	6	13	1,64	0,33-5,28	0,64	NÃO	55	91,7	5	8,3	Baratas	SIM	2	66,7	1	33,3	5,07	0,15-72,46	0,71	NÃO	93	90,3	10	9,7	Moscas	SIM	79	89,8	9	10,2	0,91	0,28-45,19	0,75	NÃO	16	94,4	2	5,6	Roedores	SIM	8	88,9	1	11,1	1,21	0,04-9	0,62	NÃO	87	89,7	10	10,3																																																				
Adornos	SIM	40	87	6	13	1,64	0,33-5,28	0,64																																																																																																												
	NÃO	55	91,7	5	8,3				Baratas	SIM	2	66,7	1	33,3	5,07	0,15-72,46	0,71	NÃO	93	90,3	10	9,7	Moscas	SIM	79	89,8	9	10,2	0,91	0,28-45,19	0,75	NÃO	16	94,4	2	5,6	Roedores	SIM	8	88,9	1	11,1	1,21	0,04-9	0,62	NÃO	87	89,7	10	10,3																																																																		
Baratas	SIM	2	66,7	1	33,3	5,07	0,15-72,46	0,71																																																																																																												
	NÃO	93	90,3	10	9,7				Moscas	SIM	79	89,8	9	10,2	0,91	0,28-45,19	0,75	NÃO	16	94,4	2	5,6	Roedores	SIM	8	88,9	1	11,1	1,21	0,04-9	0,62	NÃO	87	89,7	10	10,3																																																																																
Moscas	SIM	79	89,8	9	10,2	0,91	0,28-45,19	0,75																																																																																																												
	NÃO	16	94,4	2	5,6				Roedores	SIM	8	88,9	1	11,1	1,21	0,04-9	0,62	NÃO	87	89,7	10	10,3																																																																																														
Roedores	SIM	8	88,9	1	11,1	1,21	0,04-9	0,62																																																																																																												
	NÃO	87	89,7	10	10,3																																																																																																															

\*IC: Intervalo de confiança, Odds ratio\*: razão de chances.

Assim como a associação de *E. coli* na 1<sup>o</sup> coleta apresentou associação significativa com a presença de Barba/bigode, a variável pesquisada que influenciou significativamente para o aumento de *Salmonella spp.* na carne moída, foi a presença de barba e bigode nos manipuladores.

Coutinho et al. (2012) em sua pesquisa em feiras livres de Bananeiras e Solânea-PB, encontrou 100% dos locais com o uso inadequado de adornos, luvas, toucas e principalmente barba e cabelo por fazer, assim como Souza et al.(2013) que pesquisou o perfil higiênico-sanitário de ambulantes em Salvador-BA e verificou

que 90,5% dos colaboradores dos 82 pontos de venda estavam com asseio desfavorável e falta de boa apresentação corporal.

Devido ao maior contato das mãos com a barba ou bigodes, e a não lavagem adequada das mesmas, o índice de multiplicação das bactérias tendem a aumentar, sendo de grande importância o cumprimento das resoluções para as pessoas que vão manipular alimentos.

Dessa forma, foram encontrados nesta pesquisa que 78,3% (83) dos manipuladores não usavam jaleco, 90,56% (96) não usavam luvas, 82,07%(87) não usavam botas e 75,47% (80) não usavam toucas, demonstrando que o uso de EPI's, não é comum por parte dos manipuladores, acarretando numa exposição ainda maior das carnes aos microrganismos.

Como mostra a tabela 7 o não uso da touca aumentou em 3,45 as chances de contaminação pelo não uso de toucas no momento da manipulação das carnes moídas e 36,4% dos estabelecimentos encontrados com o desuso de toucas, foram positivos para os achados de *Salmonella spp.* Um achado significativo que colaborou para o aumento e multiplicação dessas bactérias nos alimentos.

**Tabela 7.** Análise das variáveis pesquisadas na 2<sup>o</sup> coleta com os achados de *Salmonella spp.* em carne moída bovina vendida no comércio de Araguaína-TO de agosto a novembro de 2015.

Variável		<i>Salmonella spp.</i>						
		Negativo	%	Positivo	%	Odds Ratio (OR)	IC	Valor p
Jaleco	SIM	14	73,7	5	26,3	1,18	0,34- 3,65	0,99
	NÃO	63	76,8	19	23,2			
Luvas	SIM	7	63,6	4	36,4	1,98	0,46-7,57	0,50
	NÃO	70	77,8	20	22,2			
Botas	SIM	31	70,5	13	29,5	1,74	0,68-4,49	0,33
	NÃO	46	80,7	11	19,3			
Touca	SIM	28	63,6	16	36,4	3,45	1,32-9,54	0,02
	NÃO	49	86	8	14			
Bar/Big	SIM	2	40	3	60	5,24	0,73-46,51	0,15
	NÃO	75	78,1	21	21,9			
Adornos	SIM	11	73,3	4	26,7	1,19	0,3-4,1	0,96
	NÃO	66	76,7	20	23,3			
Baratas	SIM	10	90,9	1	9,1	0,29	0,01-1,89	0,40
	NÃO	67	74,4	23	25,6			
Moscas	SIM	71	76,3	22	23,7	0,93	0,18-7,11	0,72
	NÃO	6	75	2	25			
Roedores	SIM	11	91,7	1	8,3	0,26	0,01-1,67	0,32
	NÃO	66	74,2	23	25,8			

\*IC: Intervalo de confiança, Odds ratio\*: razão de chances.

Resultados semelhantes foram achados por Vuelma et al. (2014), que observaram que 23,66% das 100 colaboradoras da unidade de alimentação e nutrição do Rio Grande do Sul não usavam touca adequadamente, como é preconizado pela Resolução nº 275/2012 do Ministério da Saúde.

Estatisticamente, houve diferença significativa no aumento de *Salmonella* com o não uso da touca, denotando a importância de não manter os cabelos soltos, para que não venham entrar em contato com os alimentos e nem haja o contato das mãos com os cabelos. Mas que se pode observar é que por parte dos

manipuladores essas premissas raramente são aplicadas, uma vez que a maioria dos manipuladores tem baixa escolaridade e poucas informações acerca de como manipular higienicamente um alimento. A grande maioria nunca recebeu curso profissionalizante e nem tem acesso á material de boas práticas de fabricação, tornando mais difícil alcançar níveis altos de qualidade alimentar (Andreotti et al., 2003).

Com relação aos coliformes totais e termotolerantes, nessa pesquisa foram analisadas em apenas uma etapa tanto coliformes totais quanto termotolerantes e verificou-se que 62,61% (67) das amostras estavam contaminadas com coliformes totais acima do padrão usado que a 45 °C tem limite máximo de  $5,0 \times 10^3$  NMP/g (BRASIL, 2001) (Tabela 8).

**Tabela 8.** Resultados das análises da presença de Coliformes totais e termotolerantes de carne moída bovina vendida no comércio de Araguaína-TO, de acordo com o padrão estabelecido pela RDC para carnes frescas a 45° C, de fevereiro a novembro de 2015.

<b>COLIFORMES</b>			
	<b>Menor que <math>5,0 \times 10^3</math> NMP/g</b>	<b>Maior que <math>5,0 \times 10^3</math> NMP/g</b>	<b>Total</b>
<b>Coliformes Totais</b>	40 (37,38%)	67 ( 62,61%)	107 (100%)
<b>Coliformes Termotolerantes</b>	50 (46,72%)	57( 53,27%)	

Cinquenta e sete (53,27%) das amostras estavam acima da média para coliformes termotolerantes (Tabela 8), adotando-e o parâmetro para carnes bovinas frescas ou preparadas, e 45 °C o máximo de  $5,0 \times 10^3$  NMP/g (BRASIL, 2001).

Os resultados sugerem, portanto, que a multiplicação de coliformes está alta e pode estar ligada à falta de higiene, na obtenção e principalmente na manipulação da carne, aliado à má refrigeração tanto no transporte quanto na chegada aos açougues (ALVES et al., 2011).

Marchi et al. (2012) encontraram em 26,7% de 30 amostras analisadas de carne a presença de coliformes totais no limite de  $10^3$ . Em um trabalho realizado por Chaves et al. (2014) sobre qualidade microbiológica de mãos de manipuladores, equipamentos e utensílios, foi constatado que 38,46 % de 13 amostras estavam contaminadas com coliformes totais a 35 °C, enquanto que em 45,45% das 11 amostras de utensílios estavam também com altas contagens de coliformes totais. Isto delimita que o manipulador tem uma parcela de responsabilidade para o aumento desses microrganismos nas carnes.



Como já foi exposto, não há padrão em legislação vigente para Coliformes termotolerantes, sendo assim foi usado o padrão para carnes bovinas frescas e preparadas a 45 °C que é  $5,0 \times 10^3$  NMP/g (BRASIL, 2001). Na tabela 8 estão expostos os resultados que foram similares aos de Oliveira et al. (2008) em que os achados de coliformes termotolerantes acima do preconizado foram em 57% das amostras, em concordância com Venancio et al. (2014) que em sua pesquisa com carne moída em Santo André-SP encontraram 41,7% das amostras impróprias para consumo com altas contagens de coliformes termotolerantes. A detecção destes microrganismos em alimentos sugere, seguramente, falhas higiênicas no processamento e armazenamento, indicando contaminação fecal e recontaminação ao longo dos processos até chegar à mesa do consumidor final.

Levando em consideração os resultados obtidos, mais de 50% dos açougues estão em baixas condições de higiene, podendo representar risco à saúde de quem consumir a carne, principalmente pela presença de bactérias como *E. coli*, *Salmonella spp.* ou de outros enteropatógenos, não necessariamente de origem fecal, porém com potencial patogênico. Deve se buscar medidas de controle como o aumento da fiscalização das boas práticas de fabricação desde o processamento dos alimentos até a manipulação dentro das casas de carne, cursos preparatórios para manipuladores de alimentos e com a ajuda da Vigilância Sanitária, oferecer palestras de conscientização quanto à higiene pessoal e dos locais de trabalho. Assim, a qualidade dos alimentos oferecidos será maior e o risco de surtos causados por enterobactérias será diminuída, proporcionando um alimento de qualidade para os consumidores (DAMER et al., 2014).

#### 4 CONCLUSÃO

Levando em consideração os parâmetros da Resolução RDC nº12/2001 (BRASIL, 2001) para carne *in natura*, em média 17% das carnes analisadas estavam inapropriadas para o consumo, em função da presença de *Salmonella*.

Além dessa premissa, ainda que não haja padrão regulamentado para carne moída, a presença de *E. coli*, bactérias aeróbias mesófilas, coliformes totais e termotolerantes também são indicadores de má qualidade higiênico-sanitária destas carnes, denotando que, de acordo com os resultados encontrados e levando em consideração os padrões utilizados, pode se afirmar que as carnes comercializadas pesquisadas estão com qualidade comprometida, oferecendo ambiente favorável para a multiplicação de bactérias, o que pode atentar contra a saúde dos consumidores finais.

## REFERÊNCIAS

ALVES, V. B.; FILHO, C. C.; RIOS, F. P. B.; LIMA, C. E.; KELLER, K. M.; E MURATORI, M. C. S. Coliformes e *Salmonella SPP.* em carne moída comercializada em Teresina-PI. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v.1, n.33, p.32-36, 2011.

ANDREOTTI, A. et al. Importância do treinamento para manipuladores de alimentos em relação à higiene pessoal. **Cesumar**, v.5, n.1, p. 29-33, 2003.

APHA. **American Public Health Association**. Committee on microbiological methods for foods. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 4 ed. Washington: APHA, 2001. 676p.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Abastecimento. Portaria 368 de 04/08/1997. **Regulamento técnico sobre condições higiênico-sanitárias e de boas práticas de fabricação para estabelecimentos Produtores/industrializadores de alimentos**. Diário Oficial da União, de 08/09/1997

BRASIL. Resolução RDC nº 12 de 01/01/2001. **Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 2001. p. 60.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Instrução Normativa Nº 62, 26 de Agosto de 2003 do Poder Executivo, Brasília, DF, **Oficializa os métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água**. 2003, seção 1, p 14.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 216, de 15 de setembro de 2004. **Regulamento técnico de boas práticas de serviço de alimentação**. Disponível em: [www.anvisa.gov.br](http://www.anvisa.gov.br). Acesso em 02/05/2016

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Exportação 2012**. Disponível em <<http://www.agricultura.gov.br/animal/exportacao>> Acesso em 15 de AGOSTO de 2016.

CAMPOS, M. R. H. et al. Estudo das condições microbiológicas no fluxograma de preparação de carne bovina do cardápio de um serviço de alimentação, na cidade de Goiânia-GO. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v.13, p. 66-67, 1999.

CARNEIRO, L.A; SANTOS, P.F.B. dos. Avaliação microbiológica de carne moída comercializada em açougues de Brasília/DF. **Ciências da Saúde**, Brasília, v. 8, n. 1, p. 33- 43, 2010.

CDC - **Center for Disease Control and Prevention**. 2014. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/nchs/data/hus/hus14.pdf>>. Acesso em: 03/04/2015.

CETESB, **Norma Técnica L5.202**. Janeiro de 1993.

CHAVES, N.P. et al. Qualidade microbiológica de mãos de manipuladores, equipamentos, utensílios e água de múltiplos usos em uma unidade de alimentação e nutrição na cidade de São Luis, MA. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v.28, n. 236/237, p.169-174, set/out, 2014.

COUTINHO, E.P. et al. Aspectos higienicossanitários feiras livres dos municípios de Bananeiras e Solânea, PB. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v.26, n. 206/207, p.43-47, mar/abr, 2012.

DAMER, J.R.S. et al. Contaminação de carne bovina moída por *Escherichia coli* e *Salmonella* sp. **Revista Contexto & Saúde**, v.14 n.26, p.20-27, 2014.

DIAS, P. A. et al. Qualidade Higiênico-Sanitária de Carne Bovina Moída e de Embutidos Frescais Comercializados no Sul do Rio Grande do Sul, Brasil. **Arquivo Instituto Biológico**. São Paulo, v.75, n.3, p.359- 363, 2008. Disponível em: <http://www.ufpel.tche.br/veterinaria/inspleite/documentos/2008/AIBembutidos.pdf>. Acesso em: 02/05/2016

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Editora Atheneu, 2004.

HEREDIA, N. et al. Microbiological condition of ground meat retailed in Monterrey, Mexico. **Journal of food Protection**, Ames, v.64, n.8, p.1249-1251, 2001.

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

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

KRIEG, N. R.; HOLT, H.J Facultatively anaerobic gram-negative rods: Family I. Enterobacteriaceae Rahn, 1937. In: Brenner, D. J. **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology**, USA: Willian& Wilkins, v.01, 1984, p. 408-420.

LABORCLIN. Sistema Bactray. **Manual de Técnicas**. Laborclin Produtos para Laboratório Ltda, 2009. Disponível em: <<http://www.laborclin.com.br>>

MARCHI, P. G. F. et al. Avaliação microbiológica e físico-química da carne bovina moída comercializada em supermercados e açougues de Jaboticabal – SP. **Revista Eletrônica da Univar**, n.7 p.81-87, 2012.

MENG, J. et al. Enterohemorrhagic *Escherichia coli*. **Food Microbiology: fundamental and frontiers**. 3. ed. Washington, D.C.: American Society for Microbiology, cap.12, p.249-269, 2007.

NETO, A.C; RIBEIRO, R.M. Condições higiênico-sanitárias de sanduíches tipo baguncinha, comercializados nas ruas do município de Várzea Grande, MT. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v.24, n.184/185, p.154-162, maio/jun, 2010.

OLIVEIRA, M.M.M.; BRUGNERA, D.F.; MENDONÇA, A.T.; PICCOLI, R. H. Condições higiênico-sanitárias de máquinas de moer carne, mãos de manipuladores e qualidade microbiológica da carne moída. **Ciências Agrotecnológicas**, Lavras, v.32, n.6, p.1893-1898, nov/dez, 2008.

PIGARRO, M. A. P.; SANTOS, M. **Avaliação microbiológica da carne moída de duas redes de supermercados da cidade de Londrina- PR**. 2008. 59 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Pós-Graduação em Higiene e Inspeção de Produtos de Origem Animal) - Universidade Castelo Branco, Instituto Qualittas, Londrina, 2008.

SAMPAIO, I. B. M. Estatística aplicada á experimentação animal. Fundação de Estudo e Pesquisa em Medicina Veterinária, Belo Horizonte, 2007, 264p.

SILVA, S.F.; MEDEIROS, L.B.; SACCOL, A.L.F. Viabilização da adequação às boas Práticas em serviços de alimentação. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v.28, n.236/237, p. 56-62, mar/abr, 2014.

SOUZA, A.L.C.; CAMARDELLI, J.R.; SILVA, M.C. Perfil hogoênicossanitário do comércio ambulante de alimentos no centro de Salvador, BA. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v.27, n.224/225, p.58-61, set/out, 2013.

STEEL, R. G. D.; TORRIE, J. H. Principles and Procedures of Statistics. **With special Reference to the Biological Sciences**. McGraw-Hill Book Company, New York, Toronto, London 1960, 6<sup>o</sup> ed.

VENANCIO, D.S.; DIAS, B.M.; SANTOS, V.C.P. Avaliação da qualidade da carne bovina moída comercializada nas cidades de Mauá e Santo André, SP. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v.28, n.238/239, p.103-107, nov/dez, 2014.

VUELMA, G.L.; BERNARDI, J.R.; RICALDE, S.R. Utilização de equipamentos de proteção individual e adornos por colaboradores em unidades de alimentação e nutrição. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v.28, n.236/237, p.33-37, set/out, 2014.

ZEFERINO, E.M.; GERMANO, M.I.S.; GERMANO, P.M.L. Avaliação de procedimentos de boas práticas de garçons de um restaurante comercial: riscos de contaminação ?. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v.28, n.238/239, p.67-72, nov/dez, 2014.

### **CAPÍTULO III**

**Perfil de resistência antimicrobiana de *Escherichia coli* e *Salmonella spp.*  
isoladas de carne moída bovina coletadas em Araguaína-TO**

**Perfil de resistência antimicrobiana de *Escherichia coli* e *Salmonella spp.*  
isoladas de carne moída bovina coletadas em Araguaína-TO**

**ANTIMICROBIAL RESISTANCE PROFILE OF *ESCHERICHIA COLI* AND  
*SALMONELLA SPP.* ISOLATED FROM BOVINE GROUND BEEF COLLECTED IN  
ARAGUAÍNA-TO**

**Resumo:** Com o crescente número de resistência a antibióticos que enterobactérias tem apresentado, aumenta-se a preocupação com os microrganismos que causam estas toxinfecções. O objetivo do presente estudo foi realizar o antibiograma de 40 isolados de *Escherichia coli* e 35 de *Salmonella spp.* em carne bovina moída na cidade de Araguaína-TO, para detectar resistência frente a 12 antibióticos utilizados na terapêutica humana e animal. O antibiograma foi feito segundo método de Bauer et al. (1966) e a análise do de *E. coli* detectou 15% de multirresistência a 3 ou mais dos antibióticos testados, enquanto os isolados de *Salmonella spp.* apresentaram 80% de multirresistência com 100% das estirpes sendo resistentes a Penicilina G e 37,14% a Doxiciclina, Tetraciclina e Sulfonamidas. A análise de resistência frente aos antimicrobianos alerta quanto aos riscos do uso indiscriminado dos mesmos para a Saúde Pública.

**Palavras-chave:** Toxinfecções. Antibióticos. Antibiograma.

**Abstract:** With the increased number of antibiotic resistance that enterobacteria has, a concern is raised with the microorganisms that cause these toxinfecções. The objective of the present study was to evaluate the antibiogram of 40 isolates of *Escherichia coli* and 35 of *Salmonella spp.* In beef cattle ground in the city of Araguaína-TO, to detect resistance against 12 antibiotics used in human and animal therapy. The antibiogram was done according to Bauer et al. (1966) and an *E. coli* analysis detected 15% of multidrug resistance to 3 or more of the antibiotics tested, considering the *Salmonella spp.* They presented 80% of multiresistance with 100% of the strains being resistant to Penicillin G 37.14% to Doxycycline, Tetracycline and Sulphonamides. Antimicrobial resistance analysis alerts to the risks of public health use.

**Key words:** Toxinfecções. Antibiotics. Antimicrobial.

## 1 INTRODUÇÃO

As doenças transmitidas por alimentos são geralmente um dos grandes problemas relacionados com a saúde pública. Todos os países são afetados por infecções de origem alimentar, que atingem não só a saúde e o bem-estar das pessoas como também dependendo da enfermidade podem causar impactos econômicos para os países (AKBAR; ANAL, 2013).

Os alimentos e água contaminados são uns dos principais veículos para a disseminação de bactérias e acredita-se que o uso frequente de antimicrobianos de maneira indiscriminada na produção animal, tanto como promotores de crescimento como para fins terapêuticos, têm sido uma das principais causas de linhagens de bactérias resistentes (MARTINS, et al., 2003).

Dentre os antimicrobianos produzidos, apenas 50% são usados em humanos, sendo o resto usado para fins de tratamento de animais, como probióticos de crescimento e extermínio de pragas (MACEDO et al., 2007).

O uso de antibióticos como promotores de crescimento na alimentação animal, quando usados abusivamente, pode selecionar alguns patógenos, resultando assim em uma microbiota resistente, que pode oferecer perigo a quem consumir os produtos oriundos de animais (RODRIGUES, 2001).

Entre as bactérias que mais causam toxinfecções alimentares está *E. coli*, a qual tem potencial patogênico e, como principal sintoma a diarreia, podendo causar também colite hemorrágica, Síndrome Hemolítico Urêmica, febre, entre outras manifestações clínicas, que podem levar à morte quando acometem indivíduos imunodeprimidos, crianças e idosos (FRANCO; LANDRGRAF, 2008).

Assim como a *E. coli*, a *Salmonella spp.* também é causadora de infecções alimentares, necessitando de uma quantidade pequena no alimento para provocar intoxicação. Seus sintomas variam de leves gripes, a dores estomacais, febre e vômitos. Devido aos sintomas serem geralmente leves e não tendo necessidade obrigatória de consultas médicas, na maioria das vezes, não são identificadas e nem notificadas (JAY, 2005).

Aquelas bactérias que não são inibidas pelas concentrações habituais alcançadas pelo correspondente antibiótico, são consideradas resistentes, e essa resistência pode ser genética ou adquirida, sendo um problema, pois o desenvolvimento da resistência de alguns patógenos, tanto de humanos quanto de



animais, cresce mais rápido do que a capacidade dos laboratórios de desenvolverem novos fármacos (RODRIGUEZ, 2000; WEBER et al., 2015; MOTA, et al., 2005).

Tanto a *Escherichia coli* como a *Salmonella spp.* são possíveis de serem transmitidas por produtos de origem animal como carne bovina, de aves e suínos, tendo a necessidade de supervisionamento da resistência antimicrobiana destes microrganismos (PUTTURU; THIRTHAM; EEVURI, 2013; FRANCO, et al. 2010). Portanto, o presente estudo tem como objetivo verificar o perfil de resistência antimicrobiana de cepas de *E. coli* e *Salmonella spp.* isoladas na carne moída bovina comercializada em Araguaína-TO.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

Neste trabalho foram estudadas 40 cepas de *Escherichia coli* e 35 de *Salmonella spp.* isoladas de carne bovina moída provenientes de Araguaína- TO, comercializadas no período de fevereiro a novembro de 2015.

As cepas estavam estocadas em ágar nutriente e foram repicadas em Ágar MacConkey e incubadas a 37 °C por 24 horas, para crescimento e obtenção de colônias isoladas. Após crescimento, transferiu-se 1 a 3 colônias para 1 mL de caldo Mueller Hinton e foram novamente incubadas a 37 °C até atingir a turvação igual a de uma solução padrão nº 0,5 da escala de McFarland (aproximadamente 10<sup>8</sup> microrganismos/mL). Este processo foi realizado com todas as amostras de *E. coli* e *Salmonella spp.*

Após 2 a 8 horas sendo incubadas a 37 °C, foram semeados homogeneamente os inóculos com ajuda de um *Swab* estéril em placas contendo Mueller Hinton Agar (MHA) e, após absorção, foram inseridos os polidiscos da marca Sensifar® e Laborclin® utilizando uma pinça previamente flambada, sendo em seguida incubados a 37° C por 24 horas para posterior leitura dos resultados.

O antibiograma e sua interpretação seguiram o método recomendado segundo CLSI (2012) (antigo NCCLS), o qual é baseado no método de Bauer et al. (1966) originalmente.

Os respectivos antibióticos e concentrações utilizados foram os seguintes: Cloranfenicol - 30µg, Doxiciclina – 30µg, Florfenicol - 30 µg, Meropenem – 10µg, Ceftiofur - 30µg, Enrofloxacin - 5 µg, Sulfonamida - 300 µg, Penicilina G – 10U, Gentamicina - 10 µg, Amoxicilina + Ácido Clavulânico – 20/10µg, Tetraciclina - 30 µg e Ciprofloxacina - 5µg.

O resultado consistiu na medição do diâmetro da zona de inibição com a ajuda de um paquímetro em milímetros. A interpretação do teste foi baseada na tabela que determina as medidas padrões dos halos de inibição de cada antimicrobiano, segundo a classificação fornecida pelo fabricante, que seria resistente, intermediário e sensível.

De acordo com Rahimi (2013) e Duarte et al. (2009) 70% e 80% é a frequência mínima que o antibiótico deve apresentar para ser considerado eficiente frente à *E. coli* e *Salmonella spp.*, respectivamente.

Para avaliação dos resultados de identificação foi utilizado o teste de frequência absoluta e relativa.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O perfil de susceptibilidade antimicrobiana dos 40 isolados de *Escherichia coli* está sumarizado na tabela 01, os resultados demonstraram que, quanto à susceptibilidade aos antibióticos testados, o Meropenem e a Gentamicina apresentaram 100% de eficácia contra a *E. coli* nas amostras avaliadas, seguidos da Ciprofloxacina (97,5%), Florfenicol (92,5%), Cloranfenicol (92,5%), Doxiciclina (90%), Tetraciclina (87,5%) e Enrofloxacina (85%).

As Sulfonamidas apresentaram o maior perfil quanto a resistência intermediária (35%), seguida de Ceftiofur (25%) e Amoxicilina + Ácido Clavulânico (17,5%).

A Penicilina G foi a que apresentou o maior número de resistência (92,5%). Possivelmente devido o uso de este fármaco ser indicado principalmente para tratamento de infecções por bactérias Gram+, sendo o antibiótico de eleição para o tratamento de Sífilis em humanos, bem como para melhorias de crescimento e eficiência alimentar de animais de produção (PASSOS, et al., 2004) (Tabela 01).

Quando exclui-se a Penicilina G do grupo dos  $\beta$ -Lactâmicos, observa-se que 16/40 (40%) amostras foram sensíveis para todos os antibióticos testados, 16/40 apresentaram resistência intermediária e 8 foram resistentes a alguns dos fármacos testados. O uso errôneo deste antibiótico causa preocupações, pois os  $\beta$ -Lactâmicos são usados na terapia humana, mas sem o efeito esperado devido a sua resistência, torna-se esse um problema de Saúde Pública (MOTA, et al. 2005).

Trabalho realizado por Franco et al. (2010) também demonstraram 100% de resistência de *E. coli* para Penicilina G, ao analisarem amostras de carne suína, denotando que a utilização incorreta, em diversas espécies animais como aves, suínos e bovinos, podem comprometer a saúde dos seres humanos, que possivelmente adquirem bactérias resistentes diretamente destes animais, através da alimentação.

**Tabela 1.** Percentual de resistência antimicrobiana de cepas de *Escherichia coli* isoladas de carne bovina moída coletadas em Araguaína-TO.

Grupos	Resistente	Intermediário	Sensível
<b>Aminoglicosídeos</b>			
Gentamicina	0	0	40(100%)
<b>β-Lactâmicos</b>			
Amoxicilina + ác.clavulânico	3 (7,5%)	7 (17,5%)	30 (75%)
Ceftiofur	2 (5%)	10(25%)	28(70%)
Meropenem	0	0	40 (100%)
Penicilina G	37(92,5%)	0	3 (7,5%)
<b>Sulfonamidas</b>			
Sulfonamida	5 (12,5%)	14 (35%)	21 (52,5%)
<b>Pleuromutilinas</b>			
Florfenicol	1(2,5%)	2 (5%)	37 (92,5%)
Cloranfenicol	1(2,5%)	2 (5%)	37 (92,5%)
<b>Quinolonas e fluorquinolonas</b>			
Ciprofloxacina	1(2,5%)	0	39(97,5%)
Enrofloxacina	2 (5%)	4 (10%)	34 (85%)
<b>Tetraciclinas</b>			
Doxiciclina	1 (2,5%)	3 (7,5%)	36 (90%)
Tetracilina	4 (10%)	1 (2,5%)	35(87,5%)

A resistência intermediária apresentado pelo grupo das Sulfonamidas (35%) demonstra que o medicamento está tornando-se resistente, diminuindo a gama de antibióticos capazes de tratar infecções. Bean et al. (2005) em seu estudo sobre resistência de *E. coli* às sulfonamidas, encontraram 45,5% de resistência à esse antimicrobiano, Wu et al. (2010) notaram que a resistência a Sulfonamida é muito comum em *Escherichia coli*, em seu estudo detectaram 21,75% de resistência à esse antimicrobiano, assim como Tadesse et al. (2012) que identificaram 36,26% de resistência em relação ao mesmo, delimitando mais um problema à Saúde Pública.

Considerando o fato de que a resistência a Sulfonamida não mudou desde 1999 mesmo estando em desuso para humanos, a alta prevalência de resistência

clínica a sulfonamidas foi relatada em bactérias entéricas isoladas de animais saudáveis, alimentos e seres humanos (BEAN, et al., 2005; KOZAK, 2009).

Quanto a resistência intermediária ao Ceftiofur (25%) e Amoxicilina + ácido clavulânico (17,5%), estes dados corroboraram com Yadav et al. (2007) que em seu estudo de *E. coli* em carne de ovelha relataram resistência à esses antibióticos de 33,36% e 16,70%, respectivamente. A proporção de bactérias resistentes intermediárias, mesmo que em pequenas quantidades, sugere uso de subdosagens ou prolongado dos antibióticos, principalmente por eles pertencerem a um grupo que é usado comumente no tratamento de infecções em seres humanos e em animais. Tais resultados são importantes por evidenciar que o uso desregulado dos antimicrobianos leva a resistência bacteriana, dificultando assim os tratamentos de doenças de origem alimentar e outros tipos de infecções (MANTILA; FRANCO, 2012).

A alta eficiência do Meropenem que mostrou-se 100% eficaz no combate à *E. coli*, poderia ser explicada possivelmente pelo alto custo do antibiótico e pouca disponibilidade no mercado, mas sugerindo uma boa alternativa no combate à infecções. Gales et al. (2002), em sua pesquisa com comparação antimicrobiana em enterobactérias também encontraram 100% de eficiência do meropenem em *E. coli*.

A Gentamicina, mesmo que muito comumente usada em animais de produção, também se mostrou eficaz contra todas as cepas analisadas (100%), sendo um antimicrobiano efetivo, muito indicado no controle de infecções de *Listeria* e *Klebsiella*. Em concordância com este estudo, Franco et al. (2006) também observou 100% de cepas de *E. coli* susceptíveis à gentamicina no seu trabalho.

Do grupo das Quinolonas e Fluorquinolonas, os antibióticos trabalhados Ciprofloxacina (97,5%) e Enrofloxacin (85%) são de eleição para tratamentos veterinários e muito usados em infecção de aves, apresentando uma boa eficácia. Dhaka et al. (2016) encontraram 93,3% de sensibilidade quanto à Ciprofloxacina em seu estudo com *E. coli* isoladas de alimentos contaminados, e Yadav et al. (2007) encontraram 73,33% de cepas susceptíveis a Enrofloxacin, sendo estes antibióticos considerados ainda eficazes no combate à *E. coli*.

No grupo das Pleuromutilinas o Florfenicol e Cloranfenicol apresentaram a mesma susceptibilidade (92,5%). De acordo com a Instrução Normativa nº 9 (BRASIL, 2003) é proibida a comercialização e qualquer tipo de uso veterinário do antibiótico Cloranfenicol, explicando assim o seu alto índice de susceptibilidade.

Porém, denota que está havendo a circulação de cepas resistentes, tendo em vista que não foi eficiente em 7,5% das cepas. Já o Florfenicol é bastante usado no tratamento de infecções de bovinos, suínos e no controle bacteriostático de pescados, ainda assim apresentou uma alta eficiência contra as bactérias, uma explicação para isso seria que ele não é desativado pela enzima acetil-transferase, responsável pelo principal mecanismo de resistência bacteriana ao cloranfenicol (FORTUNA, 2013).

Quanto às Tetraciclina, apresentaram sensibilidade de 90% e 87,5%, respectivamente para Doxiciclina e Tetraciclina. Schroeder et al. (2002) em concordância aos resultados obtidos neste trabalho, encontraram 91% de sensibilidade às Doxiciclina em relação as *E. coli* produtoras de toxina *Shiga*. Bem como Rajkawa e Sarma (2014), que encontraram 87,34% de bactérias susceptíveis a Tetraciclina. Tais resultados são devido às tetraciclina serem raramente usadas para tratamento de infecções entéricas em humanos e serem proibidas pelo Ministério da Agricultura (MAPA), de serem usadas como aditivos zootécnicos melhoradores de desempenho ou como conservantes de alimentos para animais. (REGITANO; LEAL, 2010; MAPA, 2009).

Segundo Wannaprasat et al. (2011) as cepas que apresentam resistência a 3 ou mais antimicrobianos são caracterizadas como multirresistentes. Das amostras estudadas 15% foram multirresistentes a pelo menos 3 dos antibióticos testados.

Apesar de apresentar um baixo índice de resistência, a multirresistência preocupa médicos e pesquisadores devido ao número de resistentes intermediários, pois eles têm potencial para tornarem-se resistentes (YADAV, et al. 2007), aliado a isso, o uso indiscriminado de antibióticos em infecções do trato urinário e em outras enfermidades, contribui para a multirresistência. A *E. coli* tem desenvolvido uma série de mecanismos de resistência antimicrobiana que atualmente tomam proporções inimagináveis (GARCÍA, 2013).

Atualmente, foi identificado no Brasil, um gene de multirresistência *mcr-1* em *E. coli* isoladas de animais de produção, que são multirresistentes aos antibióticos mais potentes do mundo. Uma das maiores preocupações é que o gene se transfere facilmente para outras espécies bacterianas, e já foi identificado também em *Salmonella spp.* e *Klebsiella pneumoniae*, que são enterobactérias bastante comuns e com potencial letal em humanos (FERNANDES, et al. 2016). Outro fator preocupante são os alimentos enriquecidos com antibióticos, que formam bactérias

entéricas com potencial de multirresistência, agravando assim os problemas de saúde pública.

Os resultados do perfil de resistência a antibióticos testados para *Salmonella spp.* estão na Tabela 2. Pode-se notar um alto número de resistência iniciando-se pela Penicilina G (100%), seguida pela Tetraciclina (68,57%), Doxiciclina (65,61%), Sulfonamida (42,85%) e Amoxicilina (42,85%), e uma resistência intermediária a Ciprofloxacina (45,72%), seguida de Ceftiofur (40%) e Enrofloxacina (34,28%). Tais resultados podem ser explicados pelo fato de alguns destes fármacos citados serem usados por longos prazos como promotores de crescimento, dessa forma contribuindo para a pressão de seleção das bactérias, favorecendo as mais resistentes, podendo ser transferida aos seres humanos através dos alimentos contaminados, dificultando o recobro das infecções (BIFFI, et al., 2012).

**Tabela 2.** Percentual de resistência antimicrobiana de cepas de *Salmonella spp.* isoladas de carne bovina moída coletadas em Araguaína-TO.

Grupos	Resistente	Intermediário	Sensível
<b>Aminoglicosídeos</b>			
Gentamicina	0	3 (8,58%)	32 (91,42%)
<b>β-Lactâmicos</b>			
Amoxicilina + ác.clavulânico	15 (42,85%)	9 (25,72%)	11 (31,43%)
Ceftiofur	3 (8,58%)	14 (40%)	18 (51,42%)
Meropenem	0	1 (2,85%)	34 (97,14%)
Penicilina G	35(100%)	0	0
<b>Pleuromutilinas</b>			
Florfenicol	0	4 (11,42%)	31 (88,55%)
Cloranfenicol	2 (5,72%)	6 (17,14%)	27 (77,14 %)
<b>Sulfonamidas</b>			
Sulfonamida	15 (42,85%)	8 (22,85%)	12 (34,20%)
<b>Tetraciclinas</b>			
Doxiciclina	23 (65,61%)	0	12 (34,28%)
Tetracilina	24 (68,57%)	1 (2,85%)	10 (28,57%)
<b>Quinolonas e fluorquinolonas</b>			
Ciprofloxacina	0	16 (45,72%)	19 (54,28%)
Enrofloxacina	2 (5,72%)	12 (34,28%)	21 (60%)



A alta resistência para a Penicilina G (100%) demonstra a ineficiência deste medicamento frente às infecções causadas por *Salmonella spp.* Pereira; Ávila e Fernandes (2004) encontraram também 100% de resistência de *Salmonella spp.* em isolados de fezes de bezerros diarréicos, assim como Palmeira (2007) que também encontrou 100% de resistência para à Penicilina em seus isolados de *Salmonella spp.* em frangos e perus. Uma explicação para este resultado pode ser devido ao uso por muitos anos do antibiótico na terapêutica humana e animal aumentando a pressão de seleção da flora (PEREIRA; ÁVILA E FERNANDES, 2004).

Seguidos dos outros antibióticos que fazem parte dos  $\beta$ -Lactâmicos, a Amoxicilina + ác. Clavulânico e Ceftiofur obtiveram uma resistência de 42,85% e uma moderada resistência de 40% respectivamente. Minharro et al. (2015) ao analisarem a resistência à Amoxicilina + Ác. Clavulânico em aves abatidas no Tocantins encontraram resultados diferenciados deste, com 100% de resistência das *Salmonella spp.* estudadas. Apesar da diferença das espécies estudadas, os resultados podem apontar a mesma evolução de resistência, como ocorreu para os produtos oriundos de aves.

Dentre as amostras analisadas encontrou-se também resistência aos antibióticos do grupo de tetraciclina, com índice de resistência de 68,57% e 65,61%, para tetraciclina e doxiciclina, respectivamente. Biffi et al. (2012) em sua pesquisa de *Salmonella spp.* em aves encontraram nível de resistência para a Doxiciclina de 82,14% e para a tetraciclina de 57,14%. A resistência geralmente ocorre frente a antimicrobianos que são usados há muito tempo contra infecções em humanos e em animais, e também pelo uso indiscriminado em rações profiláticas e como promotores de crescimento, mesmo que esteja proibido seu uso para tais fins, sendo essas algumas das explicações para a alta resistência de antibióticos como Tetraciclina e Doxiciclina (TESSMAN, et al., 2008; MAPA, 2009).

As cepas isoladas de *Salmonella spp.* também demonstraram resistência a Sulfonamidas (42,85%). Putturu; Thirtham e Eevuri (2013) encontraram em seu estudo com *Salmonella spp.* em diversas amostras de carne, frango e fezes, uma alta resistência a Sulfonamida (76%), e embora esses achados sejam superiores ao demonstrado no presente trabalho, deve se levar em conta a diferença regional, a origem da bactéria isolada e também os tipos de sorovares em questão (FRANCO, et al. 2010).

Uma resistência intermediária à Ciprofloxacina (45,72%) e Enrofloxacina (34,28%) foi demonstrada nos achados do presente estudo. Esta resistência a quinolonas é preocupante devido a ela ser determinada por alterações no cromossomo, que são responsáveis por conferir resistência aos genes das bactérias de forma horizontal, selecionando assim as mais resistentes e tornando seu uso um problema de saúde pública (RUIZ, 2003).

Dentre as amostras testadas 68,57% (24) apresentaram múltipla resistência a 3 ou mais antimicrobianos, sendo desses 28,57% multirresistentes a pelo menos 5 dos antibióticos testados. Entre eles 37,14% obtiveram múltipla resistência a Penicilina G, Tetraciclina, Doxiciclina e Sulfonamidas. Ribeiro et al. (2008) encontraram em sua pesquisa resultados semelhantes, com 66,1% de multirresistência das *Salmonella spp.* estudadas, assim como Duarte et al. (2009) que observaram 63,15% de múltipla resistência em cepas isoladas de carcaças de aves.

Altos índices de resistência ocorrem com estes antibióticos há mais tempo disponíveis no mercado e a múltipla resistência pode significar um risco à vida dos consumidores, pois os surtos causados por bactérias multirresistentes dificultam o tratamento, aumentam os custos e apresentam risco de morte para os grupos de risco (RIBEIRO et al., 2008).

Portanto, a ampla multirresistência das cepas encontradas no presente estudo, sugere que ingerir carnes com bactérias com esse perfil contaminante, pode oferecer risco à saúde dos consumidores. Considerando que a *E. coli* e *Salmonella spp.* são enterobactérias que acometem o homem e os animais, geralmente sendo filogeneticamente semelhantes e transmitidas via alimentos de origem animal, a preocupação é que a multirresistência venha a prejudicar tratamentos de infecções, tornando surtos destas bactérias de difícil reversão (ARIAS; CARILLO, 2012).

Em concordância com os dados desta pesquisa, Nepomuceno (2015) no seu estudo de resistência quanto à *E. coli* em aves no Tocantins encontrou 26,72% de multirresistência aos antimicrobianos testados, denotando que a fiscalização nesta área está sendo positiva, mas indicando que pode haver uma maior exposição humana a bactérias multirresistentes através da ingestão de carne bovina (VAN DEN BOOGARD et al., 2000).

Tessman et al. (2008) em pesquisa de *Salmonella spp.* em carne suína encontraram 39,1% de bactérias multirresistentes, valor inferior quanto aos achados

deste estudo, que pode ter diferido devido às cepas estudadas serem de bovinos e se tratar de regiões diferentes.

Portanto, tem-se necessidade de sanar o uso errôneo de antimicrobianos, principalmente no emprego destes em produtos de uso veterinário, que muitas vezes não respeitam a legislação, como informa a Instrução Normativa nº 26 de 2009 do MAPA, a qual preconiza que o uso dos anfenicóis, tetraciclinas, beta lactâmicos (benzilpenicilâmicos e cefalosporinas), quinolonas e sulfonamidas são de uso exclusivo para o controle de infecções, sendo vedado o uso em produtos melhoradores de desempenho e conservantes alimentares. Como medida de controle deve se intensificar os serviços de fiscalização de produtos de origem animal destinados à alimentação humana e animal, assim como as Boas práticas de Fabricação dentro e fora das indústrias. Pois o aumento da resistência destas bactérias patogênicas quanto aos antibióticos, prejudicam o tratamento das toxiinfecções podendo futuramente haver uma escassez de antibióticos eficientes para seres humanos e animais.

#### 4 CONCLUSÃO

Nesta pesquisa as cepas de *E.coli* e *Salmonella spp.* apresentaram 15% e 80% de multirresistência, respectivamente, à antibióticos usados rotineiramente no controle de enfermidades transmitidas por alimentos. Estes dados servem de alerta sobre restritas possibilidades terapêuticas na Saúde Pública em função de uma seleção natural das bactérias resistentes, que podem ser advindas de uso prolongado, de subdosagens, uso desnecessário em humanos e animais, ou como promotores de crescimento em animais. Desta maneira o perfil de resistência microbiana deve ser alvo de campanhas de monitoramento por profissionais da saúde a fim de implementar medidas de controle e nortear quando ao uso correto destes fármacos.

## REFERÊNCIAS

ARIAS, M. V. B.; CARILLO, C. M .D. M. Resistência antimicrobiana nos animais e no ser humano. Há motivo para preocupação. **Semina: Ciências Agrárias**, v.33, n.2, p.775-790, 2012.

AKBAR, A.; ANAL, A. K. Prevalence and antibiogram study of Salmonella and Staphylococcus aureus in poultry meat. **Food Engineering and Bioprocess Technology**, v.3, n.2, p.163-168, 2013.

BAUER, A.W. et al. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. **Journal of Clinical Pathology**, v.45, p.493–496, 1966.

BEAN, D. C. et al. Resistance among *Escherichia coli* to sulphonamides and other antimicrobials now little used in man. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v.56, p. 962-964, 2005

BIFFI, C. P. et al. Diferentes níveis de resistência antimicrobiana em cepas de *Salmonellas* de origem avícola. **22º SIC UDESC**, Universidade do Estado de Santa Catarina. 2012.

BRASIL. Ministério da Agricultura, pecuária e abastecimento. Instrução Normativa 9 de 30/06/2003. Disponível em: <http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=visualizarAtoPortalMapa&chave=2112258128>

CLSI. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; seventeenth informational supplement. [CLSI documents]. Wayne: **Clinical and Laboratory CLSI**. Standards Institute; 2012.

DHAKA, P. et al. Genetic diversity and antibiogram profile of diarrhoeagenic *Escherichia coli* pathotypes isolated from human, animal, foods and associated environmental sources. **Infection ecology and epidemiology**, v.6, 2016.

DUARTE, D. A. M. et al. Occurrence of *Salmonella* spp. in broiler chicken carcasses and their susceptibility to antimicrobial agents. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 40, p. 569-573, 2009.

FERNANDES, M. R. et al. First Report of the Globally Disseminated IncX4 Plasmid Carrying the *mcr-1* Gene in a Colistin-Resistant *Escherichia coli* ST101 isolated from a Human Infection in Brazil. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 2016. Disponível em: <http://aac.asm.org/content/early/2016/07/19/AAC.01325-16.full.pdf+html>. Acesso em : 24 ago 2016.

FORTUNA, J. L. **Pesquisa de Salmonella spp. em hambúrguer cru utilizando a metodologia microbiológica convencional, o método Salmosyst e o método de Reação em cadeia da polimerase**. 2013. 229f. Tese (Doutorado na área de Higiene Veterinária e Processamento tecnológico de produtos de Origem animal) Programa

de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Editora Atheneu, 2004.

FRANCO R.M.; OLIVEIRA, L.A.T.; CARVALHO, J.C.A.P. Probióticos-Revisão. **Higiene Alimentar**, v. 20, p.22-33, 2006.

FRANCO, R. M. et al. Resistência antimicrobiana de *Escherichia coli* isoladas de carne e dejetos suínos. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.4, n.1, p.31-36, 2010.

GALES, A. C. et al. Comparação das atividades antimicrobianas de meropenem e imipenem/cilastatina: o laboratório necessita testar rotineiramente os dois antimicrobianos?. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 38, n.1, p. 13-20, 2002.

GARCÍA, M. M. *Escherichia coli* multirresistentes. **Revista Cubana de Urologia**, v.2, n.1, p.4-6, 2013.

JAY J. M. **Microbiologia de alimentos**. 6a ed. Porto Alegre: Editora Artmed, Porto Alegre, p.711, 2005.

KOZAK, G. K. Distribution of sulfonamide resistance genes in *Escherichia coli* and *Salmonella* isolates from swine and chickens at abattoirs in Ontario and Québec, Canada. **Applied and Environmental Microbiology**, v.75, p.5999–6001, 2009.

MACEDO, N.R. et al. Detecção de cepas patogênicas pela PCR multiplex e avaliação da sensibilidade a antimicrobianos de *Escherichia coli* isoladas de leitões diarreicos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.59, p.1117-1123, 2007.

MANTILLA, S. P. S.; FRANCO, R. M. perfil de sensibilidade microbiana *in vitro* de linhagens patogênicas de *Escherichia coli* isoladas de carne bovina. **Colloquium Agrariae**, v. 8, n.1, p. 10-17, 2012.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 26 de 09/07/2009. **REGULAMENTO TÉCNICO PARA A FABRICAÇÃO, O CONTROLE DE QUALIDADE, A COMERCIALIZAÇÃO E O EMPREGO DE PRODUTOS ANTIMICROBIANOS DE USO VETERINÁRIO, na forma dos Anexos a presente Instrução Normativa**. Disponível em: <http://www.diariodasleis.com.br/busca/exibmlink.php?numlink=211608>

MARTINS, S. C. S.; et al. Screening de linhagens de *Escherichia coli* multiresistentes a antibióticos, em alimentos de origem animal no estado do Ceará, Brasil. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v.17,n.104/105,p.71-76,jan/fev. 2003.

MINHARRO, S. et al. Antimicrobial susceptibility of *Salmonella* serovars isolated from edible offal and carcasses of slaughtered poultry in the state of Tocantins, Brazil. **Semina: Ciências Agrárias, Londrina**, v. 36, n. 4, p. 2661-2670, 2015.

- MOTA, R. A. et al. Utilização indiscriminada de antimicrobianos e sua contribuição a multirresistência bacteriana. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 42, n. 6, p. 465-470, 2005.
- NEPOMUCENO, Leandro Lopes. **Susceptibilidade antimicrobiana de Escherichia Coli isoladas de aves abatidas sob inspeção no estado do Tocantins**. 2015. 59f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal Tropical) – Universidade Federal do Tocantins, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal Tropical, Araguaína, 2015.
- PALMEIRA, A. L. B. Prevalência e perfil de resistência aos antimicrobianos dos sorovares de *Salmonella sp* isolados das carcaças de frango e peru na região sul do Brasil no período de 2004 a 2006. **Jornal Brasileiro de Ciência Animal**, v.8, n. 15, p. 574-614, 2007. Disponível em: <http://hdl.handle.net/10183/28483>, Acesso em: 20 de agosto de 2016.
- PASSOS, M. R. L. et al. Estudo de equivalência entre Azitromicina e Penicilina G benzatina no tratamento de Sífilis. **DST – Jornal Brasileiro de Doenças Sexualmente Transmissíveis**, v. 16 (1), p.52-66, 2004.
- PEREIRA, R. N.; ÁVILA, F. A.; FERNANDES, S. A. Estudo do perfil epidemiológico da Salmonelose em bezerros e da sensibilidade a antimicrobianos na região de Ribeirão Preto–SP, Brasil. **Ars Veterinaria**, v. 20, n. 1, p.62-66, 2004
- PUTTURU, R.; THIRTHAM, M.; EEUUVURI, T.R. Antimicrobial sensitivity and resistance of Salmonella Enteritidis isolated from natural samples. **Veterinary World**, v. 5, p. 185-188, 2013.
- RAHIMI, Morad. Antibioresistence Profile of Avian pathogenic *Escherichia coli* Isolates Recovered from broiler chicken farms with colibacillosis in Kermanshah Province, Iran. **Global veterinária**, v. 10, n. 4, p. 447-452, 2013.
- RAJKHOWA, S.; SARMA, D. K. Prevalence and antimicrobial resistance of porcine O157 and non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* from India. **Tropical Animal Health Production**, V.46, n. 6, p. 932-937, 2014.
- REGITANO, J. B.; LEAL, R. M. P. Comportamento e impacto ambiental de antibióticos usados na produção animal brasileira. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, v.34, p.601-616, 2010.
- RIBEIRO, A. R. et al. Resistência antimicrobiana em *Salmonella* Enteritidis isoladas de amostras clínicas e ambientais de frango de corte e matrizes pesadas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, n.5, p. 1259- 1262, 2008.
- RODRIGUES, D. P. R. Papel dos alimentos na veiculação da resistência antimicrobiana. **XII ENCONTRO NACIONAL DE ANALISTAS DE ALIMENTOS (ENAAL)**, 12. 2001, Maceió-Alagoas. Anais, p. 33-34.

RODRIGUEZ, J. A. G. et al. Procedimientos em microbiología clínica. **Métodos básicos para el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos**. 2000.

RUIZ, J. Mechanisms of resistance to quinolones: target alterations, decreased accumulation and DNA gyrase protection. **Antimicrobial Chemotherapy**, v.51, p.1109-1117, 2003.

SCHROEDER, C. M. et al. Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* O157 isolated from humans, cattle, swine, and food. **Applied Environment Microbiology**, v.68, n. 2, p. 576-581, 2002.

TADESSE, D. A. et al. Antimicrobial drug resistance in *Escherichia coli* from humans and food animals, United States, 1950–2002. **Emergical Infectious Diseases**, v.18, n. 5, 2012.

TESSMANN, C. et al. Ocorrência e perfil de sensibilidade a antibióticos de *Salmonella* spp. isolada em cortes de carne suína comercializados em feiras-livres de Pelotas (RS). **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos- Ceppa**, v. 26, n. 2, p. 307-313, jul.-dez. 2008.

VAN DEN BOGAARD, A. E.; STOBBERINGH, E. E. Epidemiology of resistance to antibiotics. Link between animals and humans. **International Journal of Antimicrobial Agents, Amsterdam**, v. 14, n. 4, p. 327-335, 2000.

WEBER, T. et al. Metabolic engineering of antibiotic factories: new tools for antibiotic production in actinomycetes. **Trends in Biotechnology**, v.33, n.1, p.15-26, 2015.

WU, S. et al. Prevalence and characterization of plasmids carrying sulfonamide resistance genes among *Escherichia coli* from pigs, pig carcasses and human. **Acta Veterinary**, v. 52, p.47, 2010.

YADAV, M. M.; ROY, A.; SHARDA, R.; ARYA, G. Detection of toxin genes and antibiogram pattern in *Escherichia coli* isolates from sheep meat on Indian market. **Veterinary archive**, v. 77, p. 485;494, 2007.

WANNAPRASAT, W.; PADUNGTOD, P.; CHUANHUEN, R. Class 1 integrons and virulence genes in *Salmonella enterica* isolates from pork and humans. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 37, p.457-461, 2011.



## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante dos resultados expostos, pode-se dizer que a carne moída bovina pode ser um importante meio de multiplicação e transmissão de bactérias, em decorrência de seu ambiente ótimo com pH, temperatura, atividade aquosa e nutrientes na medida certa para proliferação destes microrganismos, portanto é importante que haja a educação sanitária às pessoas que entram em contato com esses alimentos, afim de que se evite a contaminação externa. Para isso é essencial o uso de equipamentos de proteção individual sempre que se for manipular os alimentos e manter o padrão de higiene necessário para a minimização da contaminação, principalmente por microrganismos patogênicos como *Salmonella spp.* e *Escherichia coli*.

Uma vez que estas bactérias além de causar danos à saúde dos consumidores, podem apresentar multirresistência aos antibióticos de escolha para tratamento de humanos ou animais.

Como foi visto nesta pesquisa, diversos antibióticos já caíram em desuso em razão da alta resistência por parte das bactérias, deixando claro que o uso prolongado, excessivo ou errôneo destes medicamentos pode ser causada seleção microrganismos multiresistentes e deixando um pequeno espectro de medicamentos para serem usados contra as doenças causadas por alimentos.

Estima-se que, se não for tomado providência, uma simples gastroenterite causada por *Escherichia coli* poderá matar os indivíduos devido à falta de medicamentos eficazes. Sendo assim, essa pesquisa pode oferecer subsídios de estudo para uma melhoria na qualidade dos produtos cárneos e alimentícios em geral e atentar para que as bactérias multirresistentes não se tornem um problema maior de Saúde Pública.

