

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA – UNIPAMPA

ABÍLIO VAZ GONÇALVES

**AVALIAÇÃO DE COLIFORMES TERMOTOLERANTES EM AMOSTRAS DE
CARNE BOVINA E SUPERFÍCIE DE BALANÇA EM PONTOS DE VENDA NA
REGIÃO SUL DO RS**

Bagé / RS

2014

ABÍLIO VAZ GONÇALVES

**AVALIAÇÃO DE COLIFORMES TERMOTOLERANTES EM AMOSTRAS DE
CARNE BOVINA E SUPERFÍCIE DE BALANÇA EM PONTOS DE VENDA NA
REGIÃO SUL DO RS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao programa de Pós-graduação Stricto Sensu em PROCESSOS AGROINDUSTRIAIS da Universidade Federal do Pampa, como requisito parcial para obtenção do Título de ESPECIALISTA em PROCESSOS AGROINDUSTRIAIS Orientador: Prof.Dr. Estevão Martins de Oliveira

Bagé / RS

2014

ABÍLIO VAZ GONÇALVES

**AVALIAÇÃO DE COLIFORMES TERMOTOLERANTES EM AMOSTRAS DE
CARNE BOVINA E SUPERFÍCIE DE BALANÇA EM PONTOS DE VENDA NA
REGIÃO SUL DO RS**

Monografia apresentada ao Curso de Especialização em Processos Agroindustriais da Universidade Federal do Pampa, como requisito para obtenção do Título de Especialista em Processos Agroindustriais.

Monografia defendida e aprovada em: 16/12/2014

Banca examinadora:

Prof. Dr. Estevão Martins de Oliveira

Orientador

(UNIPAMPA)

Prof^a. Dr^a. Andressa Carolina Jacques

(UNIPAMPA)

Prof. Msc. Roger Junges da Costa

(IFSul)

Dedico este trabalho aos meus pais Fideles e Rozimeri, meu irmão Afonso, minha avó Ana e minha namorada Renata, que me apoiaram em todos os momentos com amor e compreensão.

AGRADECIMENTO

Agradeço primeiramente a Deus por me conceder uma vida cheia de graças, realizações e aprendizados, juntamente com minha família e amigos.

Aos meus pais Fideles Espinosa Gonçalves e Rozimeri Silveira Vaz Gonçalves e minha avó Ana Silveira Vaz por tanto amor, carinho e compreensão na minha educação, o oportunizando a realização de um sonho que é ser Médico Veterinário.

Ao meu irmão Afonso Vaz Gonçalves que sempre esteve do meu lado me ajudando em tudo que estava ao seu alcance e a minha namorada Renata Marin Nogueira que em todos os momentos esteve ao meu lado me apoiando. E aos meus amigos Pedro Oliveira Duarte e Gabriel Martins Plada que participaram me auxiliando durante a Pós-Graduação.

Ao meu orientador Dr. Estevão Martins de Oliveira e a minha orientadora de mestrado Dr^a. Eduarda Hallal Duval por todos os conhecimentos passados, paciência e confiança.

Enfim, a todos que, de uma forma ou outra, deram força para minha formação.

Resumo

A carne é um alimento importante para a nutrição dos seres humanos, por ser uma fonte de proteínas, sendo um alimento muito perecível necessita que seja armazenada e exposta em refrigeração desde o abate até seu consumo. Os manipuladores são importantes para garantir a qualidade durante o processamento dos cortes, os casos de contaminação podem representar um grave risco para a saúde dos consumidores. O objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade higiênico-sanitária de cortes cárneos em pontos de venda e superfície de balanças. As coletas foram realizadas em quatro pontos de venda nos municípios de Bagé e Pelotas no Estado do RS. Foram realizada duas coletas em cada ponto de venda e foram amostradas superfícies de dianteiros, cortes dos balcões de atendimento e auto-atendimento, da carne moída e da superfície de balanças. Em todas as amostras foram realizadas contagens de Coliformes Termotolerantes(CTT). Foram verificadas as menores contagens nas amostras de dianteiros onde 93,75% (15/16) das amostras apresentaram contagens $<3 \text{ NMP.cm}^{-2}$. Os demais cortes as contagens obtidas foram maiores nos cortes expostos no balcão de atendimento sendo que 62,5%(10/16) das amostras apresentaram contagens $1,73.10^2 \text{ NMP.g}^{-1}$, nos cortes expostos nos balcões de auto-atendimento 87,5% (14/16) das amostras apresentaram contagens de $2,48.10^2 \text{ NMP.g}^{-1}$. Já a carne moída 68,75% (11/16) apresentaram contagens de $1,24.10^2 \text{ NMP.g}^{-1}$, sendo o único corte analisado que apresentou contagens superiores aos limites de detecção da técnica utilizada. Nas amostras das balanças 100%(16/16) apresentaram contagens abaixo dos limites de detecção da técnica. Com os dados obtidos pode-se concluir que há falhas higiênico-sanitárias durante o processamento dos cortes nos pontos de venda, devido aos dianteiros apresentarem as menores contagens em relação aos demais cortes.

Palavras-chave: pontos de venda; cortes cárneos; coliformes termotolerantes.

Abstract

Meat is an important food for the human nutrition, being a source of protein, but is a highly perishable food, and needs to be stored and displayed at low temperatures since slaughter until consumption. The handlers are very important to maintain quality during processing of the cuts, cases of contamination can represent a serious risk to consumer health. The objective of this study was to evaluate the sanitary quality of meat cuts at points of sale and surface of weighing-machine. The samples were collected at four points of sales in the counties of Bagé and Pelotas in state of RS. Were held two samples at each point of sale and were sampled chuck surfaces, cuts in service counters and self-service, ground beef and surface of weighing-machine. In all samples were performed thermotolerant coliforms count (CTT). The lowest scores were found in samples chuck where 93.75% (15/16) of the samples had counts <3 NMP.cm⁻². In the other cuts, the counts obtained were higher in exposed at the counter of which 62.5% (10/16) of the samples had counts $1,73.10^2$ NMP.g⁻¹, exposed cuts in the self-service counters 87.5% (14/16) of the samples had counts $2,48.10^2$ NMP.g⁻¹. Already ground beef 68.75% (11/16) had counts $1,24.10^2$ NMP.g⁻¹, it is the only cut analyzed that showed superior detection limits of the technique counts. Samples of the weighing-machine 100% (16/16) had scores below the detection limits of the technique. With the data obtained it can be concluded that there are sanitary-hygienic failures during processing of the cuts in retail points, due to chuck show the lowest scores compared to other cuts.

Keywords: points of sales; meat cuts; thermotolerant coliforms.

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1. Contagens de Coliformes Termotolerantes em amostras de dianteiros 21
- Tabela 2. Contagens de Coliformes Termotolerantes em amostras de cortes do Balcão de Atendimento.....21
- Tabela 3. Contagens de Coliformes Termotolerantes em amostras de cortes do Balcão de Auto Atendimento.....22
- Tabela 4. Contagens de Coliformes Termotolerantes em amostras de carne moída..22

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	9
2.1 Objetivo Geral	11
2.2 Objetivos Específicos	11
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	12
3.1 A Carne	12
3.2 Controle de Temperatura da carne	12
3.3 Os Manipuladores	13
3.4 Contaminação e falta de higiene	14
3.5 Doenças transmitidas por alimentos	16
3.6 Enterobactérias	17
3.6.1 Anatomia e composição celular.....	17
3.6.2 Coliformes	18
4. MATERIAIS E MÉTODOS	19
4.1 Coleta de amostras	19
4.2 Cortes cárneos	19
4.3 Superfície da balança.....	20
4.4 Análises Microbiológicas	20
4.5 Análise estatística	20
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	21
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	24
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	25

1. INTRODUÇÃO

A carne possui características sensoriais excepcionais que, somadas ao seu valor nutritivo, a tornam um dos alimentos de origem animal mais valorizado e consumido pelo ser humano (PEREDA et al., 2005). Contudo esta constituição nutricional é muito favorável ao desenvolvimento de micro-organismos patogênicos e deteriorantes, fator que conciliado ao fato de que a carne apresenta elevada atividade de água e o pH próximo a neutralidade, determina que a carne seja um dos alimentos mais propícios à deterioração (FERREIRA, SIMM, 2012).

Os micro-organismos envolvidos durante o processamento dos cortes cárneos podem ser provenientes do solo e água, pele, pelos, fezes e conteúdo intestinal dos animais de abate, mas principalmente oriundas das mãos dos manipuladores e instrumentos utilizados durante o seu processamento, enquanto ainda no frigorífico, e mais ainda durante sua comercialização. Logo, a carne está exposta à contaminação em todas as fases da sua produção (PARDI et al., 2006).

Mais especificamente, um dos grupos de micro-organismos mais comumente encontrados em carnes de açougues são os coliformes termotolerantes, ou coliformes a 45°C, assim chamados por serem capazes de fermentar a lactose com produção de gás e/ou ácido a temperatura de 45°C. São enterobactérias, com morfologia de bastonetes gram-negativos e anaeróbios facultativos. Habitam o trato gastrointestinal de humanos e animais de sangue quente, e se presentes em alimentos, podem indicar contaminação de origem fecal e higiene inadequada (FRANCO, LANDGRAF, 2008).

Assim, faz-se importante a manutenção da higiene adequada dos colaboradores, processos e equipamentos na cadeia produtiva conciliando-os a uma temperatura adequada. Neste contexto o uso de temperaturas de refrigeração são as mais indicadas, pois diminuem o desenvolvimento de micro-organismos, apesar não o fazer com a eficiência do congelamento, mantendo a carne com as características sensoriais mais apreciadas menos alteradas.

As condições higiênico-sanitárias inadequadas durante a manipulação dos cortes cárneos nos pontos de venda direta ao consumidor podem ser fontes de contaminação por micro-organismos patogênicos e deteriorantes nestas linhas de produção.

A escolha de cortes cárneos e dos coliformes termotolerantes, foi devido a carne ser uma excelente fonte de substrato para estes micro-organismos e estes estarem relacionados com contaminação de origem fecal, contudo a pouca instrução dos colaboradores e práticas de higiene inadequadas durante o processamento dos cortes nos açougues podem ser fontes de contaminação para os cortes cárneos.

2. Objetivo Geral

Avaliar as contagens de coliformes termotolerantes em dianteiros e cortes de carne bovina comercializados nas cidades de Bagé e Pelotas/RS.

2.1 Objetivos Específicos

- Avaliar a contaminação por coliformes a 45°C em superfícies de balanças específicos de pontos de venda direto ao consumidor;
- Avaliar a contaminação de coliformes a 45°C em cortes cárneos oferecidos em pontos de venda direta ao consumidor.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 A Carne

A carne é considerada um alimento de alto valor nutritivo para o ser humano, já que representa uma fonte de proteínas, energia, nutrientes, vitaminas, minerais e lipídios (MOTTA et al., 2000; PARDI et al., 2006). As características pelas quais o consumidor costuma avaliar a qualidade da carne são, em princípio, a aparência do corte e da gordura de cobertura (COSTA, 2002).

A elevada atividade de água e o pH próximo da neutralidade, dentre outros fatores, tornam a carne um excelente meio para a proliferação de micro-organismos. Estes fatores, quando não controlados, podem causar prejuízos tanto de ordem econômica quanto à saúde do consumidor (FERREIRA, SIMM, 2012; FRAZIER, WESTHOFF, 1993).

A carne dos animais sadios pode ser considerada, *in natura*, como um produto que apresenta ausência ou reduzida carga microbiana. Logo no início da produção da carne, esta pode ser contaminada com a flora microbiana comensal dos animais. A contaminação superficial ocorre durante o abate e as operações que seguem até o consumo (EVANGELISTA, 2008; PARDI et al., 2006). Sendo que a qualidade microbiológica da carne processada reflete diretamente todas as etapas de produção dentro das instalações dos estabelecimentos (CASTELLANI et al., 2014).

3.2 Controle de Temperatura da carne

O controle dos alimentos desde o recebimento da matéria-prima, estocagem, exposição dos cortes até o consumo final é o que irá assegurar a qualidade para o consumidor (HEUVELINK et al., 2001; PANZA, 2007). O método mais utilizado para prolongar a vida de prateleira da carne é o emprego da refrigeração, necessitando que a temperatura esteja abaixo de 7°C, sendo que esta temperatura dificulta o crescimento dos micro-organismos. Onde a temperatura ideal de crescimentos dos micro-organismos psicrófilos é de 10°C em média e dos micro-organismos mesófilos é de 37°C. Além disso, o transporte deve ser refrigerado também, mantendo sempre

as condições higiênico-sanitárias necessárias para a conservação dos produtos (FRANCO, LANDGRAF, 2008; RIO GRANDE DO SUL, 2009).

A temperatura é um dos fatores mais importantes na atividade metabólica dos micro-organismos. (FRANCO, LANDGRAF, 2008). Quanto mais rápido o resfriamento do corte menor será a possibilidade de crescimento de micro-organismos. A carne naturalmente apresenta fatores, intrínsecos e extrínsecos, que auxiliam ou retardam a ação de micro-organismos. Sendo estes, pH, umidade, atividade de água, presença e/ou atividade de outros micro-organismos presentes no alimentos, além da temperatura de armazenamento (FRAZIER, WESTHOFF, 1993; JAY, 2005; PARDI et al., 2006).

A refrigeração possui uma série de vantagens de interesse durante a conservação dos cortes tais como: prolongar a conservação dos cortes, minimizar a modificação sensorial e do valor nutritivo e não ser nociva a saúde (FRAZIER, WESTHOFF, 1993). Por não possuir ação esterilizante sobre os micro-organismos, não melhora as condições precárias dos alimentos, conseguindo apenas retardar o desenvolvimento da atividade microbiana já instalada e impedir novas contaminações. Este processo tem por principal objetivo manter a qualidade original do alimento até seu consumo (EVANGELISTA, 2008; PEREDA et al., 2005).

Tendo isto em vista, são utilizados balcões refrigeradores para manter a temperatura adequada da carne durante a sua comercialização. No entanto, estes balcões muitas vezes permanecem abertos durante a exposição dos produtos cárneos para os consumidores, o que provoca a elevação da sua temperatura, desde o seu acondicionamento até o momento da venda. Os cortes cárneos devem ser posicionados corretamente nos balcões a fim de evitar obstruções no fluxo de frio, mantendo a temperatura recomendada (MORELLI, et al., 2012)

3.3 Manipuladores

Os manipuladores desempenham um papel importante para garantir a segurança dos alimentos durante o processamento, armazenamento e preparação. Onde suas mãos sem uma higiene adequada são um veículo de contaminação cruzada. A fim de evitar a contaminação dos alimentos durante o processamento os manipuladores devem ser instruídos dos procedimentos adequados a fim de minimizar os riscos (ABD-ELALEEM et al., 2014; JIANU, GOLET, 2014).

Os colaboradores que trabalham em locais de venda de cortes cárneos são um importante veículo de contaminação, carreando micro-organismos devido a práticas de manuseio inadequadas. O que através da contaminação da carne pode levar a doenças de origem alimentar, conseqüentemente, que representam um risco potencial para saúde pública (CAMPOS et al., 2009).

A saúde dos colaboradores deve ser monitorada através de exames periódicos e a higiene das roupas deve ser fiscalizada periodicamente, para evitar riscos de contaminação dos produtos manipulados, esta entre outras é uma estratégia de controlar os riscos (ABD-ELALEEM et al., 2014).

3.4 Contaminação e falta de higiene

O homem entre outros animais, é um dos principais veículos de contaminação de alimentos, podendo ser contaminante em situações eventuais, quando acometido de alguma patogenia também em condições oportunistas devido ao fato de ser portador de diversos micro-organismos, sendo que estes ainda podem prover do solo, da água, pêlos, fezes e conteúdo gastrointestinal dos animais. Com isso, a carne está exposta à contaminação por diversas formas e em todas as etapas de sua produção (COUTINHO, 2007; EVANGELISTA, 2008; PARDI et al., 2006).

A falta de higiene nos locais de manipulação pode atrair insetos e animais que também podem ser veiculadores de contaminação aos alimentos. Os utensílios utilizados durante o processamento dos alimentos também podem ser meios diretos ou indiretos de contaminação dos alimentos devido a falhas na higienização, resultando na transmissão de micro-organismos de um alimento para outro, tendo como fontes principais as facas, bandejas, tábuas, máquinas de moer e roupas dos colaboradores. (EVANGELISTA, 2008; FRANCO, LANDGRAF, 2008; PEREDA et al. 2005; JAY, 2005).

O controle da contaminação nos matadouros é de suma importância. Ao processo de esfolagem (remoção do couro) deve-se evitar o contato do couro do animal com a carcaça. A evisceração incorreta também pode contribuir para o aumento da contaminação através do extravasamento do conteúdo gastrointestinal, os quais devem ser visualizados e retirados imediatamente, aumentando assim o controle dos seus procedimentos e visando por um produto de qualidade (GILL, BRYANT, LANDRES, 2003). Para isto, utilizam-se a implementação de programas de higiene,

tendo pontos de controle definidos nos estabelecimentos com objetivo de evitar contaminação durante o processo (BLAGOJEVIC, ANTIC, 2014).

Caso haja contaminação da carne ainda no frigorífico, certamente haverá o desenvolvimento de micro-organismos durante e após o transporte. Estes problemas de contaminação da carne prosseguem durante seu processamento principalmente durante as etapas de subdivisão dos cortes, quando estes ficam desguarnecidos de refrigeração (EVANGELISTA, 2008; MORELLI et al., 2012). Os colaboradores precisam de uma higiene pessoal adequada, pois estes podem ser fonte de contaminação dos alimentos (FAWZI et al., 2009; ABD-ELALEEM et al., 2014).

Os cortes desossados ou moídos são mais propensos à contaminação. Estes cortes são submetidos a repetidos contatos manuais e possuem uma grande superfície de contato. Ainda, os cortes retalhados dispostos em recipientes, como bandejas plásticas, por exemplo, e guardados em câmaras frias durante o processamento, podem favorecer a disseminação de micro-organismos aeróbios. (EVANGELISTA, 2008; JAY, 2005).

Os consumidores precisam estar conscientes dos riscos durante a preparação dos cortes onde alguns fatores como qualidade da matéria prima e de higiene durante a manipulação influenciam diretamente na contaminação dos cortes cárneos. Porém, a segurança do alimento pode ser condicionada ao consumidor após a aquisição da carne. Podendo ainda o alimento ser contaminado durante a manipulação em sua residência, devendo ter consciência e responsabilidade para os possíveis riscos durante o preparo da carne (CATELLANI et al., 2014; MORELLI et al., 2012).

Os pontos de venda desempenham um papel importante na distribuição e comercialização de cortes cárneos. As falhas nesta etapa podem reduzir a vida de prateleira e aumentar a contaminação dos cortes (OLIVEIRA et al., 2008). A falta de higiene nos equipamentos, instalações precárias, bem como práticas inadequadas contribuem para a ocorrência de doenças alimentares, porém com programas de segurança de alimentos e treinamento dos colaboradores pode-se reduzir a contaminação dos utensílios e dos manipuladores, obtendo-se assim alimentos com menores níveis ou isentos de contaminação para o consumidor (COUTINHO, 2007; FRAZIER; WESTHOFF, 1993; SOARES et al., 2013).

3.5 Doenças transmitidas por alimentos

As doenças transmitidas por alimentos representam um grave problema à saúde pública, tendo sérias consequências econômicas. A qualidade microbiológica dos alimentos está condicionada, primeiramente, à quantidade e ao tipo de micro-organismos inicialmente presentes e depois à multiplicação destes micro-organismos no alimento (GIBSON et al., 2013; HOFFMANN, 2001; LAIKKO-ROTO, NEVAS, 2014).

Os micro-organismos podem ser utilizados para indicar a qualidade microbiológica dos alimentos em relação à vida de prateleira. Contudo estes micro-organismos podem ainda ser utilizados para avaliar aspectos gerais de qualidade, onde o aumento da concentração é inversamente proporcional com a qualidade do produto (ABD-ELALEEM et al., 2014; JAY, 2005; MORELLI et al., 2012).

Com a utilização de indicadores de segurança assumiu-se que os patógenos de interesse eram provenientes de fontes intestinais, resultado de contaminação fecal de origem direta ou indireta. Sendo primeiro micro-organismo usado como indicador foi a *Escherichia coli*. Estes indicadores devem estar em altas concentrações nas fezes e ser possível sua detecção de forma fácil e rápida (JAY, 2005; TORTORA, FUNKE, CASE, 2012).

O uso destes micro-organismos possibilita a avaliação da higiene geral e da contaminação de origem fecal, podendo existir níveis elevados de micro-organismos patogênicos entre os micro-organismos indicadores. Porém quando são encontrados níveis reduzidos de micro-organismos indicadores também há redução de micro-organismos patogênicos. Não sendo comprovada esta relação, porém são utilizadas para avaliar as tendências gerais do processo de higiene (ABD-ELALEEM et al., 2014; MILIOS, DROSINOS, ZIOPOULOS, 2014).

Nos cortes oferecidos no mercado podem ser encontradas bactérias pertencentes a distintas famílias bacterianas. Um deles é o *Enterobacteriaceae*, com capacidade de crescer em temperaturas de refrigeração. Como também existe a possibilidade de que os cortes e os produtos cárneos se contaminem com outros patógenos, sobre tudo micro-organismos de origem intestinal (FRAZIER, WESTHOFF, 1993; HIRSH, ZEE. 2003).

3.6 Enterobactérias

Os micro-organismos desta família são bacilos Gram negativos, amplamente distribuídos nos mais diversos tipos de ambientes, existindo espécies patogênicas e espécies não patogênicas, e fazem parte da microbiota normal do trato gastrointestinal dos animais de sangue quente (CARTER, 1988; TRABULSI, ALTHERTHUM, 2008).

As bactérias deste grupo são anaeróbias facultativas e utilizam vários substratos simples para sua multiplicação. Em anaerobiose dependem da presença de carboidratos fermentáveis. Já em aerobiose, dependem de ácidos orgânicos, aminoácidos e carboidratos. Uma importante característica bioquímica de todas as espécies desta família é a ausência do Citocromo C, o que as torna oxidase-negativas (HIRSH, ZEE, 2003; TRABULSI, ALTHERTHUM, 2008).

3.6.1 Anatomia e composição celular

Esta família fornece informações sobre a ocorrência de contaminação de origem fecal, através da pesquisa de coliformes termotolerantes, indicando condições higiênico-sanitárias inadequadas durante o processamento, produção ou armazenamento. Estes micro-organismos necessitam de condições adequadas para sua multiplicação podendo variar de acordo com o substrato e proporção destes no alimento (FRANCO, LANDGRAF, 2008; JAY, 2005; TORTORA FUNKE; CASE, 2012).

A parede celular é constituída interna e externamente por membranas separadas por glicopeptídeo. Várias proteínas são observadas em cada membrana, algumas pertencendo a ambas. Por vezes estão presentes cápsulas, flagelos e adesinas (HIRSH, ZEE, 2003; TORTORA, FUNKE; CASE, 2012).

A cápsula (antígeno K) é a estrutura que compõe a maior parte da parede celular e é composta por carboidratos. A variação da composição destes, juntamente com diferentes tipos de açúcares determinam os antígenos capsulares. As bactérias entéricas encapsuladas são relativamente hidrofílicas, em função da cápsula (FRANCO, LANDGRAF, 2008; TRABULSI, ALTHERTHUM, 2008)

Os antígenos somáticos (antígenos O) são compostos de determinantes antigênicos formados por diferentes configurações dos tipos de açúcar e pela

ligação entre açúcares observada em frações repetidas dos lipopolissacarídeo (HIRSH, ZEE, 2003; TRABULSI, ALTHERTHUM, 2008).

Os flagelos (antígenos H) que são organelas celulares usadas para locomoção, são compostos por subunidades de proteínas (flagelina). Mais uma vez, dependendo do tipo de unidade protéica, formam-se diferentes determinantes antigênicos (ALONSO et al., 2012; TORTORA, FUNKE, CASE, 2012).

Fímbria ou *pili* são adesinas protéicas compostas de subunidades de pilina reunidas em várias configurações, resultando em tipos diferentes. A fímbria mais comumente encontrada tem afinidade por compostos que contém manose (HIRSH, ZEE, 2003; FRANCO, LANDGRAF, 2008).

3.6.2 Coliformes

Os coliformes à 45°C, também chamados de coliformes termotolerantes, constituem o grupo das enterobactérias capazes de fermentar a lactose com produção de gás e/ou ácido a temperatura de 45°C, são bastonetes Gram negativos, não esporulados, que fermentam lactose, suas colônias são escuras com brilho metálico. Estes micro-organismos se desenvolvem em uma ampla variedade de meios, sendo capazes de crescer em meios com sais biliares (FRANCO, LANDGRF, 2008; FRAZIER, WESTHOFF, 1993; JAY, 2005; TORTORA, FUNKE, CASE, 2012).

A presença de coliformes indica que o processamento é inadequado, sendo as causas mais frequentes aquelas provenientes da matéria-prima, equipamentos sujos ou manipulação sem cuidados de higiene (FRANCO, LANDGRAF, 2008; OLIVEIRA et al., 2008). Esta pesquisa é de grande valia, visto que *Escherichia coli*, um importante patógeno de origem alimentar, pertence a este grupo bacteriano (TORTORA; FUNKE; CASE, 2012).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

Foram analisados 4 pontos de venda direta ao consumidor sendo dois na cidade de Bagé e dois na cidade de Pelotas ambas no estado do Rio Grande de Sul. Foram analisados quatro cortes cárneos e a superfície da balança que os cortes são pesados para venda. Os cortes foram da superfície dos dianteiros armazenados, cortes dos balcões de atendimento e autoatendimento, e carne moída, todos os sub cortes eram provenientes de dianteiros devido a este corte ser entregue semanalmente nos pontos de venda. As coletas foram realizadas entre os meses de abril e julho de 2014.

4.1 Coleta de amostras

As coletas foram realizadas em quatro pontos de venda direta ao consumidor nos municípios de Bagé e Pelotas - RS. Foram realizadas duas coletas em cada ponto de venda. Em cada uma foram amostrados cortes cárneos, superfícies de manipulação.

Imediatamente após a coleta todas as amostras foram acondicionadas em caixas isotérmicas com gelo até a chegada ao laboratório.

Amostras de dianteiros bovinos

Foram amostrados 4 pontos na superfícies da peça, (25 cm² na região da sangria, 25 cm² na região da costela, 25 cm² na região da paleta e 25 cm² na região do peito), totalizando 100 cm². Foram utilizados swabs previamente esterilizados, mantidos em 25 mL de solução salina 0,85% até o momento das análises (SILVA; JUNQUEIRA; SILVEIRA, 2010).

4.2 Cortes cárneos

Foram coletadas 2 amostras de cortes de carne bovina dispostas no balcão de atendimento, no autoatendimento, e carne bovina moída, as quais foram adquiridas nas embalagens como são comercializadas nos pontos de venda, sendo armazenadas em caixas isotérmicas até a chegada ao laboratório.

4.3 Superfície da balança

Foram amostradas 4 pontos da superfície da balança cada ponto com 25cm² totalizando 100cm². Foram utilizados swabs previamente esterilizados, mantidos em 25 mL de solução salina 0,85% até o momento das análises (SILVA; JUNQUEIRA; SILVEIRA, 2010).

4.4 Análises de Coliformes Termotolerantes

As análises foram realizadas no Laboratório de Inspeção de Produtos de origem Animal (LIPOA), Departamento de Veterinária Preventiva, da Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas.

Para a pesquisa de coliformes termotolerantes (CTT) nas amostras, foi utilizada a técnica do Número Mais Provável, também denominada Técnica dos Tubos Múltiplos, segundo o protocolo descrito pela FDA (2002). No teste presuntivo, a partir das diluições 10⁻¹, 10⁻² e 10⁻³ das amostras, alíquotas de 1 mL foram transferidas para uma série de três tubos contendo caldo Lauril Sulfato de Sódio (LSS) e Durhan invertidos, os quais foram incubados a 37°C por 48 h. Após o período de incubação, os tubos positivos, ou seja, que apresentarem formação de gás no Durhan, foram submetidos ao teste confirmatório de coliformes termotolerantes. De cada tubo positivo, alçadas foram transferidas para tubos contendo caldo *Escherichia coli* e Durhan invertido, os quais foram incubados em banho-maria a 45°C por 48h. Transcorrido o período de incubação, a sequência de tubos positivos (com formação de gás no Durhan) foi verificada na tabela do Número Mais Provável e o resultado foi expresso em NMP.cm⁻² ou NMP.g⁻¹.

4.5 Análise estatística

As contagens dos micro-organismos foram analisadas estatisticamente através de análise de variância (GOMES, 2009), seguida do teste de Fisher ao nível de 5% de significância.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Blagojevic, Antic (2014) em seu estudo verifica a gestão de riscos de contaminação em matadouros frigoríficos, sendo que, nos estabelecimentos que possuem uma gestão adequada, estes são classificados como “risco muito baixo”. Indo de encontro com o presente estudo, onde os dianteiros apresentam as menores contagens entre as amostras, indicando que as gestões dos frigoríficos que fornecem os dianteiros possuem controle durante sua produção. Os resultados obtidos nas contagens de CTT nas amostras analisadas durante o experimentos são apresentados na tabela 1:

Tabela 1: Contagens de Coliformes Termotolerantes em amostras de dianteiros.

Amostras	<3 NMP.cm ⁻²	9 NMP.cm ⁻²	>1,1.10 ³ NMP.g ⁻¹
Dianteiro	93,75% (15/16)	6,25% (1/16)	0% (0/16)

LUNDGREN et al. (2009), em seu estudo verificou contagens de coliformes a 45°C superiores 2,4.10³ NMP.g⁻¹, em 60% (3/5) das amostras de cortes cárneos comercializados em mercados João Pessoa/PB. Já OLIVEIRA et al (2008), ao avaliar a carne moída proveniente de estabelecimentos comerciais de Lavras/MG, verificou a média das contagens de coliformes à 45°C de 1,5.10¹ NMP.g⁻¹, valores estes inferiores aos encontrados no presente estudo para carne moída (Tabela 4). Os resultados obtidos nas contagens de Coliformes Termotolerantes nas amostras do balcão de atendimento, balcão de auto atendimento e carne moída são apresentados nas tabelas 2, 3 e 4 respectivamente.

Tabela 2: Contagens de Coliformes Termotolerantes em amostras de cortes do Balcão de Atendimento.

Amostras	<3 NMP.cm ⁻²	1,73.10 ² NMP.g ⁻¹	>1,1.10 ³ NMP.g ⁻¹
Balcão Atendimento	37,5% (6/16)	62,5% (10/16)	0% (0/16)

Tabela 3: Contagens de Coliformes Termotolerantes em amostras de cortes do Balcão de Auto Atendimento.

Amostras	<3 NMP.cm ⁻²	2,48.10 ² NMP.g ⁻¹	>1,1.10 ³ NMP.g ⁻¹
Balcão Autoatendimento	12,5% (2/16)	87,5% (14/16)	0% (0/16)

Tabela 4: Contagens de Coliformes Termotolerantes em amostras de carne moída.

Amostras	<3 NMP.cm ⁻²	1,24.10 ² NMP.g ⁻¹	>1,1.10 ³ NMP.g ⁻¹
Carne Moída	12,5% (2/6)	68,75% (11/16)	18,75% (3/16)

Ao analisar estatisticamente os dados obtidos, não há diferença estatística entre as amostras de cada loja, porém, quando comparada todas as amostras de todas as lojas foi verificada diferença estatística, onde as contagens dos cortes do balcão de atendimento, balcão de autoatendimento e a carne moída são significativamente superiores as verificadas nos dianteiros. Estes resultados refletem as falhas higiênico-sanitárias durante o processamento dos cortes nos pontos de venda.

Coutinho (2007) e Soares (2003) em seus trabalhos relatam que a falta de higiene e instalações precárias contribuem com a ocorrência de doenças alimentares. As práticas de higiene inadequadas dos açougueiros podem contaminar os cortes cárneos e ocasionar doenças de origem alimentar, sendo de suma importância a percepção dos colaboradores (ABD-ELALEEM et al., 2014). Os resultados obtidos neste estudo demonstram que a manipulação durante o processamento dos cortes nos pontos de venda aumentam as contagens de coliformes termotolerantes, na medida em que ocorre a manipulação do corte, pois os cortes mais manipulados obtiveram-se as maiores contagens.

Entre as lojas da cidade de Bagé e Pelotas não há diferença significativa entre os procedimentos e a higienização dos açougues, porém as condições higiênico-sanitárias durante a evolução do corte no açougue estão incorretas, visto que as contagens de CTT nos dianteiros foram sempre inferiores que nos demais cortes analisados, indicando que durante o processamento dos cortes no açougue ocorre o aumento da contaminação.

As superfícies das balanças onde são pesados os cortes para os consumidores não são fontes de contaminação destes, visto que 100% (8/8) das

contagens ficaram abaixo dos limites de detecção da técnica (<3 NMP.cm²). O padrão microbiológico para os equipamentos utilizados no preparo de cortes cárneos, recomenda que estes devam estar livres de coliformes termotolerantes (SILVA Jr., 1995). Os dados obtidos neste estudo, onde as amostras das superfícies das balanças permaneceram abaixo dos limites de detecção da técnica, indicando níveis de contaminação baixos. Ainda que haja baixas contagens de CTT, o que pode demonstrar contaminação de origem fecal deve-se atentar para a contaminação por *Escherichia coli*, devido a este grupo de micro-organismos serem um dos principais habitantes do trato gastrointestinal dos humanos e é um importante causador de doenças transmitidas por alimentos (FRANCO, LANDGRAF, 2008; TORTORA FUNKE; CASE, 2012).

Os colaboradores devem evitar o uso de toalha de tecido devido a contaminação cruzada, devendo assim utilizar toalhas de papel descartáveis, auxiliando na redução da contaminação dos estabelecimentos (FAWZI et al., 2009). Nel et al., (2004) afirmaram que as toalhas de tecido auxiliam na multiplicação dos micro-organismos, devido a presença de resíduos, umidade e por permanecerem a temperatura ambiente por longos períodos. Ainda em seu estudo Bart, Ritter & Tondo, (2010) constataram que os micro-organismos contidos na toalha de tecido, são constantemente transferidos para outras superfícies e mãos de colaboradores.

Ainda que a Legislação vigente em nosso país não preconize a análise de coliformes a 45°C para amostras de carne bovina *in natura* resfriada (carcaças inteiras e fracionadas, cortes cárneos e carne moída) (BRASIL, 2001), estes micro-organismos são encontrados em diversos locais, podendo indicar contaminação de origem fecal (FRANCO, LANDGRAF, 2008). A contaminação por coliformes a 45°C verificada nas amostras indica práticas higiênico-sanitárias inadequadas durante o processamento dos cortes cárneos e também por parte dos manipuladores, visto que os valores encontrados nas amostras de dianteiros são inferiores aos limites de detecção da técnica, porém, após a manipulação os cortes apresentaram contagens de CTT. Conforme MORELLI et al., (2012), nos supermercados e demais lojas do varejo, são utilizados balcões refrigerados que permanecem abertos durante a exposição dos produtos cárneos para os consumidores, o que provoca a elevação da temperatura destes, desde o seu acondicionamento até o momento da venda, propiciando o desenvolvimento de micro-organismos, justificando os resultados encontrados neste trabalho.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos indicaram falhas higiênico-sanitárias durante o processamento dos cortes cárneos comercializados em supermercados de Bagé e Pelotas/RS. Devido aos dianteiros chegarem aos açougues com pouca contaminação e esta aumentar de acordo com a manipulação. Por este motivo faz-se necessário intensificar a supervisão dos processos, da higiene pessoal e das instalações dos açougues, com isso a contaminação dos cortes diminuirá, assegurando a qualidade da carne e a saúde dos consumidores.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABD-ELALEEM, R.; BAKR, W. M.K.; HAZZAH, W. A.; NASRELDIN, O. **Assessment of the personal hygiene and the bacteriological quality of butchers hands in some abattoirs in Alexandria, Egypt.** Food Control. N. 41, p. 147-150, 2014.

ALONSO, M. Z.; LUCCHESI, P. M. A.; RODRÍGUES, E. M.; PARMA, A. E.; PADOLA, N. L. **Enterpathogenic (EPEC) and Shigatoxigenic Escherichia coli (STEC) in broiler chickens and derived products at different retail stores.** Food Control. N. 23, p. 351-355, 2012.

BARTZ, S. RITTER, A. C., TONDO, E. C. **Evaluation of bacterial multiplication in cleaning cloths containing different quantities of organic matter.** Journal of Infection in Developing Countries. N. 4, p. 566-571, 2010.

BLAGOJEVIC, B., ANTIC, D. **Assessment of potential contribution of official meat inspection and abattoir process hygiene to biological safety assurance of final beef and pork carcasses.** Food Control. N. 36, p. 174-182, 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos.** Resolução RDC Nº. 12 de 02 de janeiro de 2001.

CAMPOS, A. K. C., CARDONHA, Â. M.S., PINHEIRO, L. B. G. FERREIRA, N. R., AZEVEDO, P. R. M., STAMFORD, T. L. M. **Assessment of personal hygiene and practices of food handlers in municipal public schools of Natal, Brazil.** Food Control. N. 20, p. 807-810, 2009.

CARTER, G.R., **Fundamentos de Bacteriologia e Micologia Veterinária.** 1ª edição. Editora Roca, 1988.

CATELLANI, P., SCAPIN, R. M., ALBERGHINI, L., RADU, I. I. GIACCONNE, V. **Levels of microbial contamination of domestic refrigerators in Italy.** Food Control. N. 42, p. 257-262, 2014.

COSTA, E. C. et al. **Composição Física da Carcaça, Qualidade da Carne e Conteúdo de Colesterol no Músculo Longissimus dorsi de Novilhos Red Angus Superprecoces, Terminados em Confinamento e Abatidos com Diferentes Pesos.** Revista Brasileira de Zootecnia. V. 31, N. 1, p. 417-428, 2002.

COUTINHO, E. P; OLIVEIRA, A. T; FRANCISCO, M. S; SILVA. M. J. da; SILVA, J. M. S. S. da; AZEREDO, L. P. M. **Avaliação das Condições Higiênico-Sanitárias da Manipulação e Comercialização de Carnes Vermelhas e Aves nas Feiras Livres dos Municípios de Bananeiras e Solânea, PB.** II JORNADA NACIONAL DA AGROINDÚSTRIA, 2007.

EVANGELISTA, J. **Tecnologia de Alimentos.** 2ª edição. São Paulo: Editora Atheneu, 2008.

FAWZI, M., GOMAA, N.F. BAKR,W.M. **Assessment of hand washing facilities, personal hygiene and the bacteriological quality of hand washes in some grocery and dairy shops in Alexandria.** Food Control. N. 84, p. 71-93, 2009.

FDA (U. S. Food and Drug Administration). **BAM: Enumeration of Escherichia coli and the coliform bacteria.** Publicado em: Setembro, 2002. Disponível em: <<http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm064948.htm#conventional>>. Acesso em: agosto, 2014.

FERREIRA, R; 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. Pará de Minas. N. 3, p. 37-61, 2012.

FRANCO, B.D.; LANDGRAF, G.M **Microbiologia dos Alimentos.** São Paulo: Editora Atheneu. P. 182, 2008.

FRAZIER, W. C.; WESTHOFF, D. C. **Microbiología de los alimentos.** Zaragoza, Espanha. Editora Acribia, 1993.

GIBSON, K. E., KOO, O. K., O'BRYAN, C. A., NEAL, J. A. RICKE, S. C. ***Observation and relative quantification of cross-contamination within a mock retail delicatessen environment.*** Food Control. n. 31, p. 116-124, 2013.

GILL, C. O., BRYANT, J., LANDRES, C. ***Identification of critical control points for control of microbiological contamination in processes leading to the production of ground beef at a packing plant.*** Food Microbiology. N. 20, p. 641-650, 2003.

GOMES, Frederico P. ***Curso de Estatística Experimental – 15ª Edição.*** Biblioteca de Ciências Agrárias Luiz de Queiroz. Editora: Fealq. Piracicaba/SP, 2009.

HEUVELINK, A. E.; ROESSINK, G. L.; BOSBOOM, K.; BOER, E.; ***Zero tolerance for faecal contamination of carcasses as a tool in the control of O157 VTEC infections.*** International Journal of Food Microbiology, Amsterdam. V. 66, n. 1-2, p. 13-20, 2001.

HIRSH, D.C.; ZEE, Y.C. ***Microbiologia Veterinária.*** Lisboa. Editora Nova Guanabara. P. 464, 2003.

HOFFMANN, F. L. ***Fatores limitantes à proliferação de micro-organismos em alimentos.*** Brasil Alimentos. V. 9, p. 14-23, 2001.

JAY, J. M. ***Microbiologia de Alimentos.*** 6ª edição. Porto Alegre. Editora Artmed. P. 711, 2005.

JIANU, C.; GOLET, I. ***Knowledge of food safety and hygiene and personal hygiene practices among meat handlers operating in western Romania.*** Food Control. N. 42, p. 214-219, 2014.

LAIKKO-ROTO, T., NEVAS, M., ***Restaurant business operators' knowledge of food hygiene and their attitudes toward official food control affect the hygiene in their restaurants.*** Food Control. N. 43, p. 65-73, 2014.

LUNDGREN, P. U.; SILVA, J. A.; MACIEL, J. F.; FERNANDES, T. M. ***Perfil da qualidade higiênico-sanitária da carne bovina comercializada em feiras livres e mercados públicos de João Pessoa/PB-Brasil.*** Alimentos e Nutrição. Araraquara. V. 20, n. 1, p. 113-119, 2009.

MORELLI, E.; NOEL, V.; ROSSET, P.; POUMYROL, G. ***Performance and conditions of use of refrigerated display cabinets among producer/vendors of foodstuffs.*** Food Control. N. 26, p. 363-368, 2012.

MOTTA, M. R. A.; BELMONTE, M. A. ***Avaliação microbiológica de amostras de carne moída comercializadas em supermercados da região oeste de São Paulo.*** Higiene Alimentar. V. 14, n. 78-79, p. 59-62, 2000.

MILIOS, K. T.; DROSINOS, E. H.; ZOIPOULOS, P. E. ***Food Safety Management System validation and verification in meat industry: Carcass sampling methods for microbiological hygiene criteria – A review.*** Food Control. N. 43, p. 74-81, 2014.

NEL, S., LUES, J. F. R., BUYS, E. M., VENTER, P. ***The personal and general hygiene practices in the deboning room of a high throughput red meat abattoir.*** Food Control. N. 15, p. 571-578, 2004.

PANZA, S. G. A.; SILVA, C. R. ***Avaliação das condições de transporte e recebimento de carne bovina resfriada, em supermercados de grande porte na cidade de Maringá, PR.*** Higiene Alimentar. V. 21, n. 153, p. 46-52, 2007.

PARDI, M. C.; SANTOS, I. F.; SOUZA, E. R.; PARDI, H. S.; ***Ciência, higiene e tecnologia da carne.*** Goiânia. Editora UFG. V. 1, 2006.

PEREDA, J. A. O.; RODRÍGUEZ, M. I. C.; ÁLVAREZ, L. F.; SANZ, M. L. G.; MINGUILLIÓ, G. D. G. F.; PERALES, L. H. CORTECERO, M. D. S. ***Tecnología de Alimentos: alimentos de origem animal.*** Porto Alegre: Artmed. V. 2, 2005.

OLIVEIRA, M. M. M; BRUGNERA, D.; MENDONÇA, A.; PICOLLI, R. **Condições higiênico-sanitárias de máquinas de moer carne, mão de manipuladores e qualidade microbiológica da carne moída.** Ciência e agrotecnologia. Lavras. V. 32, n. 6, p. 1893-1898, 2008.

TRABULSI, L. B., ALTERTHUM, A., **Microbiologia.** 5ª edição. São Paulo. Editora Atheneu, 2008.

RIO GRANDE DO SUL. Portaria nº78 de 30 de janeiro de 2009. **Lista de Verificação em Boas Práticas para Serviços de Alimentação.** Secretaria da Saúde, Porto Alegre, 2009.

SILVA JR., E. A. **Manual de controle Higiênico sanitário em alimentos.** São Paulo. Livraria Varela. P. 347, 1995.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos.** 4ª edição. São Paulo. Varela, 2010.

SOARES, K. GARCÍA-DÍEZ, J. ESTEVES, A. OLIVEIRA, I. SARAIVA, C. **Evaluation of food safety training on hygienic conditions in food establishments.** Food Control. N.34, p. 613-618, 2013.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia.** 10ª edição. Porto Alegre/RS. ARTMED. P. 67, 2012.