UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CEILÂNDIA
CURSO DE FARMÁCIA

SAMUEL MACHADO FERNANDES DA SILVA

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE CARNES BOVINAS RESFRIADAS COMERCIALIZADAS NO DISTRITO FEDERAL

BRASÍLIA, 2023

SAMUEL MACHADO FERNANDES DA SILVA

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE CARNES BOVINAS RESFRIADAS COMERCIALIZADAS NO DISTRITO FEDERAL

Monografia de Conclusão de Curso apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de Farmacêutico, na Universidade de Brasília, Faculdade de Ceilândia.

Orientador: Msc. Letícia Fernandes Da Silva

Co-orientador: Profa. Dra. Daniela Castilho Orsi

BRASÍLIA, 2023

SAMUEL MACHADO FERNANDES DA SILVA

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE CARNES BOVINAS RESFRIADAS COMERCIALIZADAS NO DISTRITO FEDERAL

BANCA EXAMINADORA

_____

Orientador(a): Prof(a). Me. Letícia Fernandes Silva Rodrigues (FCE- Universidade de Brasília)

_____

Co-Orientador(a): Prof(a). Dra. Daniela Castilho Orsi (FCE- Universidade de Brasília)

_____

Avaliador: Farmacêutica Esp. Carla Azevedo Bilac (FCE – Universidade de Brasília)

_____

Avaliador: Farmacêutica Marta Oliveira de Araújo (FCE- Universidade de Brasília)

BRASÍLIA, 2023

Dedico este trabalho a meus pais, que sempre me apoiaram em todas as minhas escolhas, sem eles eu não seria capaz de me tornar a pessoa que sou.

AGRADECIMENTOS

A elaboração deste trabalho não teria sido possível sem a colaboração e empenho de muitas pessoas ao meu redor. E por este motivo, gostaria de expressar a minha gratidão a todos aqueles que, direta ou indiretamente, contribuíram para que este trabalho se tornasse realidade.

À Deus, que me deu forças durante toda minha trajetória, e continua a me abençoar todos os dias da minha vida.

À minha orientadora e coorientadora, pelo apoio e incentivo diário, pela dedicação e carinho que tiveram comigo, e em especial, a farmacêutica mestre Letícia Fernandes Silva Rodrigues, que demonstrou um carinho muito especial comigo durante todo o desenvolvimento deste trabalho.

Aos meus pais, Lindomar e Mirian, que me transformaram na pessoa que sou hoje, e me dão força todos os dias, sendo os pilares da minha vida.

À minha namorada, Naiara, que nunca me deixou desistir, e me apoiou sempre durante minha vida acadêmica.

RESUMO

A carne bovina é um alimento de enorme importância econômica para o Brasil e rica em nutrientes para o corpo humano. Este trabalho teve como objetivo avaliar a qualidade microbiológica de nove amostras de carne bovina *in natura*, sendo quatro embaladas a vácuo (CA) e cinco embaladas em bandeja de poliestireno envoltas em papel filme (CB), comercializadas em supermercados do Distrito Federal. Foi estudado o perfil de susceptibilidade antimicrobiana pela técnica de Kirby-Bauer das cepas de *E. coli* e *S. aureus* isoladas dessas carnes. As análises microbiológicas realizadas foram contagem total de bactérias psicrotróficas e mesófilas, determinação do Número Mais Provável de coliformes totais e termotolerantes, contagem de *S. aureus* e pesquisa de *Salmonella* spp. Das nove amostras analisadas, apenas duas (22,22%) estavam próprias para consumo de acordo com a legislação brasileira vigente, sendo que sete amostras (77,78% total, 44,44% CA e 33,34% CB) apresentaram resultados inaceitáveis de coliformes termotolerantes. No teste de susceptibilidade antimicrobiana, as cepas de *E. coli* demonstraram elevada resistência às sulfonamidas (83,33%), seguido de 33,33% de resistência para cefotaxima e ceftazidima. Para *S. aureus*, os resultados demonstraram maior resistência às sulfonamidas (40,00%) e cefoxitina (30,00%). Foi observado que 33,33% das cepas de *E. coli* e 20,00% das cepas de *S. aureus* apresentaram perfil de multirresistência a antimicrobianos. Observou-se que a maioria das amostras analisadas não apresentaram qualidade microbiológica satisfatória. As cepas de *E. coli* e *S. aureus* provenientes da carne bovina *in natura* com resistência a antimicrobianos representa um fator de risco para saúde do consumidor.

Palavras-chave: Análise microbiológica; ação antimicrobiana; carne vermelha; E*scherichia coli*; *Staphylococcus aureus*.

ABSTRACT

Beef is a food of enormous economic importance for Brazil and rich in nutrients for the human body. This work aimed to evaluate the microbiological quality of nine fresh beef samples, four of which were vacuum packed (CA) and five were packed in polystyrene trays wrapped in film paper (CB), sold in supermarkets in the Federal District. The antimicrobial susceptibility profile was studied using the Kirby-Bauer technique of *E. coli* and *S. aureus* strains isolated from these meats. The microbiological analyzes carried out were, a total count of psychrotrophic and mesophilic bacteria, determination of the Most Probable Number of total and thermotolerant coliforms, a count of *S. aureus* and a search for *Salmonella* spp. Of the nine samples analyzed, only two (22.22%) were suitable for consumption in accordance with current Brazilian legislation, with seven samples (77.78% total, 44.44% CA and 33.34% CB) showing unacceptable results of thermotolerant coliforms. In the antimicrobial susceptibility test, *E. coli* strains demonstrated high resistance to sulfonamides (83.33%), followed by 33.33% resistance to cefotaxime and ceftazidime. For *S. aureus*, the results demonstrated greater resistance to sulfonamides (40.00%) and cefoxitin (30.00%). It was observed that 33.33% of *E. coli* strains and 20.00% of *S. aureus* strains presented a multidrug resistance profile to antimicrobials. It was observed that most of the samples analyzed did not present satisfactory microbiological quality. Strains of *E. coli* and *S. aureus* from fresh beef with resistance to antimicrobials represent a risk factor for consumer health**.**

Keywords: Microbiological analysis; antimicrobial action; read meat; *Escherichia coli*; *Staphylococcus aureus*.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Análises microbiológicas de amostras de carne bovina *in natura* comercializadas no Distrito Federal 23
Tabela 2 - Perfil de suscetibilidade antimicrobiana das cepas de *Escherichia coli* provenientes de amostras de carne bovina *in natura* embaladas à vácuo ou em bandejas comercializadas no Distrito Federal. 27
Tabela 3 - Perfil de suscetibilidade antimicrobiana das cepas de *Staphylococcus aureus* provenientes de amostras de carne bovina *in natura* embaladas a vácuo ou não comercializadas no Distrito Federal. 29
Tabela 4 - Número de classes de antimicrobianos que apresentaram resistência as cepas de *Escherichia coli* e de *Staphylococcus aureus* isoladas das amostras de carne bovina *in natura* comercializadas no Distrito Federal. 31

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Oligonucleotídeo utilizado para identificação de *Salmonella* spp. 19
Quadro 2 - Antimicrobianos e concentrações utilizadas para cepas de *Escherichia coli* (enterobactérias). 20
Quadro 3 - Antimicrobianos e concentrações utilizada para cepas de *Staphylococcus aureus.* 21
Quadro 4 - Classificação das zonas de inibição para *Escherichia coli*. 21
Quadro 5 - Classificação das zonas de inibição para *Staphylococcus aureus*. 22

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
DTHA	Doenças de transmissão hídrica e alimentar
IN	Instrução normativa
BPF	Boas práticas de fabricação
E.coli	*Escherichia coli*
S.aureus	*Staphylococcus aureus*
MRSA	*Staphylococcus aureus* resistente à meticilina
NMP	Número mais provável
PCR	Reação de cadeia da polimerase
CLSI	Clinical and laboratory standards institute
ICMSF for foods	International commission on microbiological specifications
USDA	United States Department of Agriculture
ESBL	β-lactamases de espectro estendido
AMC	Amoxicilina
SUL	Sulfonamida
CTX	Cefotaxima
CAZ	Ceftazidima
CLO	Cloranfenicol
CIP	Ciprofloxacino
GEN	Gentamicina
IMP	Imipenem
TET	Tetraciclina

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 12
2 REVISÃO DE LITERATURA 13
2.1 PRODUÇÃO E QUALIDADE DA CARNE BOVINA *IN NATURA* NO BRASIL 13
2.2 LEGISLAÇÃO BRASILEIRA E QUALIDADE DA CARNE BOVINA 14
2.3 CONTAMINAÇÕES DAS CARNES POR COLIFORMES TOTAIS, TERMOTOLERANTES E *Escherichia Coli* 14
2.4 CONTAMINAÇÕES DAS CARNES POR *Staphylococcus Aureus* 15
2.5 CONTAMINAÇÕES DAS CARNES POR *Salmonella* Spp. 16
3 JUSTIFICATIVA 17
4 OBJETIVOS 18
4.1 OBJETIVO GERAL 18
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS 18
5 METODOLOGIA 19
5.1 COLETA DAS AMOSTRAS E ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS 19
5.2 ANÁLISES MOLECULARES 19
5.3 PERFIL DE SUSCEPTIBILIDADE A ANTIMICROBIANOS 20
5.4 ANÁLISES ESTATÍSTICAS 22
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO 23
6.1 ANÁLISE DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DAS AMOSTRAS DE CARNE BOVINA *IN NATURA* 23
6.2 PERFIL DE SUSCEPTIBILIDADE ANTIMICROBIANA DAS CEPAS DE *Escherichia coli* 27
6.3 PERFIL DE SUSCEPTIBILIDADE ANTIMICROBIANA DAS CEPAS DE *Staphylococcus Aureus* 29
6.4 PERFIL DE RESISTÊNCIA E MULTIRRESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS DE CEPAS DE *Escherichia coli* E *Staphylococcus Aureus* 30
7 CONCLUSÃO 32
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 33

1 INTRODUÇÃO

Animais de criação como bovinos, frangos e peixes possuem enorme importância econômica na produção de alimentos para consumo humano, sendo essas carnes consideradas valorosas fontes de proteínas para a dieta alimentar. Devido ao aumento do consumo das carnes, torna-se cada vez mais necessário um rigoroso padrão de qualidade durante toda a cadeia produtiva desses alimentos (Germano & Germano, 2013).

A carne bovina é um alimento altamente perecível, e portanto, com vida útil curta. O crescimento de bactérias e suas atividades metabólicas são as causas mais importantes de deterioração das carnes frescas, que normalmente ocorre quando a contagem bacteriana atinge aproximadamente 10^7 a 10^8 UFC/g. A deterioração da carne é geralmente caracterizada por descoloração, forte produção de odores desagradáveis e alterações de textura (limo) (Buncic *et al.*, 2014; Reid *et al.*, 2017).

Os principais microrganismos com potencial patogênico contaminantes das carnes cruas de bovinos e aves são *Salmonella* spp., *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli* e também a espécie *Staphylococcus aureus*. Devido as manipulações sem higiene adequada e conservação em temperaturas inadequadas, os microrganismos com potencial patogênico contaminantes das carnes podem se multiplicar e causar as doenças de transmissão hidríca e alimentar (DTHA) (Germano & Germano, 2019).

A qualidade microbiológica da carne bovina precisa ser estabelecida desde sua produção até o consumo. Isso envolve uma série de etapas, incluindo a forma como o animal foi criado, o abate no matadouro, além da distribuição e do manuseio da carne nos pontos de compra. Também deve-se incluir as medidas de educação dos consumidores sobre higiene alimentar. Em todas essas etapas, a garantia da segurança e qualidade da carne são de suma importância (Buncic *et al.*, 2014; Rani *et al.*, 2017).

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 PRODUÇÃO E QUALIDADE DA CARNE BOVINA *IN NATURA* NO BRASIL

No Brasil foram abatidos 29,8 milhões de cabeças bovinas em 2022, ocorrendo um aumento de 7,5% na produção de carne bovina brasileira em relação ao ano de 2021 (Ibge, 2022). Zen e Santos (2015) pontuaram que até 2050 ocorrerá um acréscimo da demanda mundial por carne bovina, e o Brasil possui potencial para expandir a produção, devido as grandes expectativas de melhoria do país na taxa de abate e na idade média das vacas no primeiro parto.

Os diversos avanços tecnológicos na agropecuária trazem a necessidade de melhoria da qualidade da carne bovina brasileira. Acredita-se que até 2040 haverá o estabelecimento da carne bovina brasileira qualificada para atender com alto padrão tanto o mercado externo quanto o mercado interno. Ainda há barreiras a serem quebradas para melhoria de qualidade da carne bovina brasileira, como por exemplo, um padrão mais rigoroso no gerenciamento e inspeções sanitárias em frigoríficos de menor porte (Embrapa, 2020).

Alguns pontos importantes podem direcionar a qualidade da carne a ser produzida, de forma a atender as expectativas do consumidor. De acordo com dados encontrados em pesquisas com enfâse nos consumidores, os aspectos sensoriais mais desejados entre a população geral para a carne são sabor e maciez (Troy, 2011).

Oliveira e colaboradores (2018) destacaram que no Brasil a raça do gado bovino e o longo período em que os animais ficam no pastoreio para atingir o peso ideal para o abate contribuem para a perda da maciez da carne. Entretanto, os processos de estimulação elétrica nas carcaças em seguida ao abate e a maturação da carne asseguram maior maciez, sem prejudicar a qualidade da carne.

Outro ponto crucial que interfere na qualidade da carne é o manejo pré-abate. Estresses pré-abate podem acarretar diretamente na piora da qualidade da carne. Após a morte do animal que foi abatido corretamente, ocorrem as transformações bioquímicas e estruturais que levam a uma redução do fluxo sanguíneo no tecido muscular. Devido essas alterações, ocorre a diminuição do pH devido ao excesso de ácido lático acumulado. Durante o período de maturação da carne, ocorre a degradação de proteínas miofibrilares e sarcoplasmáticas, as quais são as responsáveis pela cor e maciez da carne (Irreño-Barrera, *et al*.,2022).

2.2 LEGISLAÇÃO BRASILEIRA E QUALIDADE DA CARNE BOVINA

A portaria n° 365 de 16 de julho de 2021 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) dispõe sobre os regulamentos técnicos a respeito do manejo no pré-abate e abate humanitário dos animais. Essa portaria diz que animais destinados ao abate devem passar por procedimentos humanitários, sendo expressamente proibido qualquer tipo de agressão ou tortura ao animal. Ainda, determina que nos estabelecimentos de abate os animais devem ter acesso permanente a água limpa, respeitando as diferenças de espécies entre eles (Brasil, 2021).

A Instrução Normativa (IN) 161 de 1º de julho de 2022 da ANVISA traz especificações referentes a qualidade microbiológica dos alimentos, como por exemplo: ovos, frutas e verduras (*in natura* ou processados), leite e seus derivados, nozes, e carnes de origem bovina, suína e de ave. Dentre esses alimentos temos categorias específicas com o quantitativo mínimo aceitável e o máximo tolerado de microrganismo que podem estar presentes no alimento (Brasil, 2022). Para a carne bovina crua refrigerada ou congelada, podendo estar embalada a vácuo ou não, estabelece-se ausência de *Salmonella* spp. em 25 g, contagem máxima de *Escherichia coli* de 10^2 UFC/g e contagem máxima de mesófilos de 10^6 UFC/g (Brasil, 2022).

Siqueira e colaboradores (2021) observaram um resultado positivo posterior a aplicação das boas práticas de fabricação (BPF) em um açougue, que obteve resultados apropriados nos requisitos higiênicos-sanitários indispensáveis para oferecer produtos com qualidade comprovada, sendo que anteriormente a implementação das BPF o estabelecimento foi classificado como “insatisfatório” e após o estudo foi classificado como “bom”.

2.3 CONTAMINAÇÕES DAS CARNES POR COLIFORMES TOTAIS, TERMOTOLERANTES E *Escherichia Coli*

As bactérias do grupo dos coliformes totais são microrganismos Gram-negativos referentes à família Enterobacteriaceae, são capazes de fermentar a lactose com produção de gás à 35-37ºC. Já o grupo dos coliformes termotolerantes é

classificado como um subgrupo dos coliformes totais. Este grupo é limitado às bactérias capazes de fermentar a lactose à 44,5-45,5°C tendo como resultado a produção de gás, sendo que a *E. coli* corresponde a 90% deste grupo. A existência elevada de coliformes totais em alimentos é um forte indicador de descuido no processo de higienização, fabricação e manipulação de alimentos. As contaminações das carnes por esses microrganismos acontecem geralmente nos processos de abate e produção (Castro, 2019; Hu *et al*., 2016).

E. coli é o principal microrganimo pertencente ao grupo dos coliformes termotolerantes e tem origem fecal, sendo comumente encontrada na microbiota do intestino de animais de sangue quente e humanos. Algumas cepas de *E. coli* contaminantes de carnes e produtos lacticínios são sorotipos patogênicos com capacidade de acarretar danos à saúde humana. Outra preocupação relativa à contaminação das carnes é a presença de cepas de *E. coli* com resistência antimicrobiana, pois esses alimentos contaminados quando consumidos pelos humanos podem contribuir com o aumento de resistência a antibióticos de várias classes (Dsani *et al*.,2020).

2.4 CONTAMINAÇÕES DAS CARNES POR *Staphylococcus Aureus*

Entre as bactérias que usualmente levam ao aparecimento de doenças com transmissão via alimentos está *S.aureus*, bactéria que produz enterotoxinas estafilocócicas resistentes a proteases gastrointestinais que quando presentes em alimentos contaminados e consequentemente consumidos pelos humanos, leva a sintomas como a diarreia, vômito e desidratação (Jaja *et al*., 2018). Vale destacar ainda que doenças transmitidas por alimentos devido a contaminação bacteriológica são na maioria das vezes devido à falhas de procedimentos durante a produção alimentar (Melngaile *et al*., 2014).

A contaminação das carnes por *S. aureus* pode ser considerada um indicador de falta de higiene e de condições adequadas de armazenamento. Animais como gado, porcos, galinhas, perus, ovelhas e o homem podem ser colonizados por *S. aureus* na pele e nas narinas. Assim, a contaminação da carne por *S. aureus* ao longo da cadeia alimentar pode originar-se tanto de animais como de humanos. Vários estudos tem mostrado que a contaminação dos alimentos com *S. aureus* são majoritariamente causadas pelos manipuladores de alimentos (Naas *et al*., 2019;

Thwala *et a*l., 2021).

S. aureus com padrão multirresistente tem sido isolado em amostras de carnes de vários estudos (Naas *et al*., 2019; Thwala *et a*l., 2021). Ozdemir e Keyvan (2016) avaliaram a ocorrência de *S. aureus* em carnes bovinas, ovinas e de frangos, e observaram a presença de cepas resistentes a antibióticos como tetraciclinas e ampicilinas. *S. aureus* tem sido relatada nas últimas décadas por ser resistente a muitos agentes antimicrobianos disponíveis, e a causa mais comum de infecções estafilocócicas resistentes se deve a presença de cepas *S. aureus* resistente à meticilina (MRSA) (Thwala *et a*l., 2021).

2.5 CONTAMINAÇÕES DAS CARNES POR *Salmonella* Spp.

No Brasil, *Salmonella* spp. foi o principal microrganismo patogênico causador de aparecimentos em larga escala de doenças de transmissão hidríca e alimentar (DTHA) entre os anos 2000 e 2016. Além disso, de acordo com a literatura, os produtos cárneos são os principais veículos de transmissão deste patogéno (Ristori *et al*., 2017). Pelo fato da salmonelose ser transmitida principalmente por meio de alimentos de origem animal, existe uma preocupação mundial em sua contenção, já que pelo aumento de casos de DTHA, há também um aumento no número de hospitalizações e gasto médico com pacientes (Raseta *et al*., 2017).

A presença de *Salmonella* spp. mesmo que em pequenas quantidades não é permitida em produtos alimentares, sendo vista como uma variável de risco para o consumidor (İrkin, Bozkurt, Tümen, 2021). A respeito disso, tem-se na legislação brasileira que esta bactéria deve estar ausente em 25 g de carne bovina, sendo assim, o alimento não deve conter quantidade alguma deste patogéno (Brasil, 2022a).

Martínez-Chávez e colaboradores (2015) avaliaram na cidade do México a ocorrência de *Salmonella* spp. em um total de 291 amostras de carne bovina *in natura*. Os autores observaram que 36% das amostras estavam contaminadas pela bactéria. Segundo os autores, o resultado encontrado referente a alta prevalência do patogéno pode ser consequência de falhas em processos de boas práticas de produção e ausência de boas condições higiênico-sanitárias.

3 JUSTIFICATIVA

A qualidade da carne bovina inclui precauções com processos de produção e condições de armazenamento, se tratando de um alimento de origem animal altamente perecível, com possibilidade de degradação. As carnes *in natura* estão sujeitas à contaminação por diversos microrganismos patogênicos, podendo causar toxinfecções alimentares. As análises microbiológicas das carnes bovinas *in natura* coletadas no Distrito Federal têm por finalidade verificar se essas carnes estão sendo comercializadas com qualidade para a população do Distrito Federal.

4 OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

Este trabalho teve como objetivo geral avaliar a qualidade microbiológica de carnes bovinas resfriadas (carnes embaladas a vácuo e carnes embaladas em bandeja de poliestireno envoltas em papel filme), comercializadas em diferentes supermercados do Distrito Federal.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar as análises bacteriológicas: contagem total dos microrganismos mesófilos e psicrotróficos, determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais e de coliformes termotolerantes, contagem de *Staphylococcus aureus*, pesquisa de *Escherichia coli* e pesquisa de *Salmonella* spp;

- Realizar teste de suscetibilidade antimicrobiana das cepas de *E. coli* e *S. aureus* isoladas das carnes, segundo o método de Kirby-Bauer;

- Verificar a genotipagem por meio da técnica de PCR para confirmar cepas suspeitas de *Salmonella* spp.

5 METODOLOGIA

5.1 COLETA DAS AMOSTRAS E ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

As nove amostras de carne bovina resfriadas, sendo quatro amostras embaladas a vácuo (CA) e cinco amostras embaladas em bandeja de poliestireno envoltas em papel filme (CB), foram coletadas em diferentes supermercados do Distrito Federal, adequadamente acondicionadas e conduzidas ao Laboratório de Controle de Qualidade da UnB/FCE. As análises foram realizadas no prazo máximo de uma hora após a coletadas amostras. Todas as amostras foram avaliadas em três repetições, ou seja, foram retiradas três alíquotas de cada embalagem e os resultados foram apresentados como média em log de UFC/g ou NMP/g.

O preparo das amostras e as análises microbiológicas (contagem de bactérias mesófilas, psicrotróficas, *Staphylococcus aureus*, determinação do número mais provável (NMP) e pesquisa de *Salmonella* spp.) foram realizados conforme Rodrigues (2021).

5.2 ANÁLISES MOLECULARES

Para identificação molecular do gênero *Salmonella* spp. por PCR foi buscado o gene de virulência *invA*, utilizando o primer específico expresso no Quadro 1. O gene *invA* é bastante aceito para identificação de *Salmonella* spp., já que está presente na maioria das espécies do gênero (Ncbi, 2020).

Quadro 1 - Oligonucleotídeo utilizado para identificação de *Salmonella* spp.

Gene	**Sequência de Primer (5'-3')**	**Amplificação**	**Espécie**
invA foward	GCTGATGCCGGTGAAATTAT	445 pb	*Salmonella* spp.
invA reverse	CGACAAGACCATCACCAATG		

Fonte: Araújo, 2015.

Os isolados presuntivos suspeitos de serem *Salmonella* spp. foram identificados através da técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR). As colônias isoladas foram inoculadas individualmente, em caldo LB e incubadas à 37ºC por 18 h. A extração do DNA foi realizada de acordo com o protocolo proposto no kit comercial NucleoSpin Plasmid – Macherey – Nagel (Ref: 740588.50 – Lote: 2006/002).

Após a extração do DNA, a amplificação de fragmentos de genes foi realizada utilizando o termociclador Techne® modelo TC-512. As condições de termociclagem para o gene *invA* foram 50˚C por 2 min., 95˚C por 2 min. e 40 ciclos de desnaturação a 95˚C por 15 seg., seguida de 60˚C por 30 seg, para o anelamento dos oligonucleotídeos e 72˚C por 30 seg. para a extensão dos fragmentos. Os produtos de PCR foram submetidos à eletroforese em gel de agarose, contendo brometo de etídeo e visualizados sob iluminação ultra-violeta. O marcador de massa molecular utilizado foi o 100 pb DNAl/HindIII (Jena®).

5.3 PERFIL DE SUSCEPTIBILIDADE A ANTIMICROBIANOS

A susceptibilidade das cepas aos antimicrobianos foi avaliada pela técnica de disco difusão, utilizando protocolo recomendado pelo Clinical and Laboratory Standards Institute (Clsi, 2020). Os antimicrobianos e as concentrações em microgramas testados estão descritos nos Quadros 2 e 3.

Quadro 2 - Antimicrobianos e concentrações utilizadas para cepas de *Escherichia coli* (enterobactérias).

Antimicrobianos	**Concentração**
Amoxicilina* (AMC)	20 +10 µg
Cefotaxima (CTX)	30 µg
Ceftazidima (CAZ)	30 µg
Ciprofloxacina (CIP)	5 µg
Cloranfenicol (CLO)	30 µg
Gentamicina (GEN)	10 µg
Imipenem (IMP)	10 µg
Sulfonamida (SUL)	300 µg
Tetraciclina (TET)	30 µg

Fonte: Autoria própria (2023).
Legenda: *Amoxicilina e ácido clavulânico; µg: micrograma.

Quadro 3 - Antimicrobianos e concentrações utilizada para cepas de *Staphylococcus aureus*.

Antimicrobianos	Concentração
Amoxicilina* (AMC)	20 +10 µg
Cefoxitina (CFO)	30 µg
Ciprofloxacina (CIP)	5 µg
Cloranfenicol (CLO)	30 µg
Eritromicina (ERI)	15 µg
Gentamicina (GEN)	10 µg
Sulfonamida (SUL)	300 µg
Tetraciclina (TET)	30 µg
Vancomicina (VAN)	30 µg

Fonte: Autoria própria (2023).
Legenda: *Amoxicilina e ácido clavulânico; µg: micrograma

As zonas de inibição foram medidas e classificadas como sensível e resistente de acordo com recomendações do CLSI (2020) e estão descritas nos Quadros 4 e 5. As cepas testadas que apresentaram resistência a três ou mais antimicrobianos foram classificadas como multirresistentes.

Quadro 4 - Classificação das zonas de inibição para *Escherichia coli*.

Antimicrobianos	Halo R (mm)	Halo I (mm)	Halo S (mm)
Amoxicilina*	≤13	14-17	≥ 18
Cefotaxima	≤ 22	23-25	≥ 26
Ceftazidima	≤ 17	18-20	≥ 21
Ciprofloxacina	≤ 21	22-25	≥ 26
Cloranfenicol	≤ 12	13-17	≥ 18
Gentamicina	≤ 12	13-14	≥ 15
Imipenem	≤ 19	20-22	≥ 23
Sulfonamida	≤ 12	13-16	≥ 17
Tetraciclina	≤ 11	12-14	≥ 15

Fonte: CLSI (2020).
Legenda: *Amoxicilina e ácido clavulânico; Halo R: resistente; Halo I: intermediário; Halo S: sensível; mm: milímetro.

Quadro 5 - Classificação das zonas de inibição para *Staphylococcus aureus*.

Antimicrobianos	Halo R (mm)	Halo I (mm)	Halo S (mm)
Amoxicilina*	≤ 21	-	≥ 22
Cefoxitina	≤ 21	-	≥ 22
Ciprofloxacina	≤ 15	16-20	≥ 21
Cloranfenicol	≤ 12	13-17	≥ 18
Eritromicina	≤ 13	14-22	≥ 23
Gentamicina	≤ 12	16-14	≥ 15
Sulfonamidas	≤ 12	13-16	≥ 17
Tetraciclina	≤ 14	15-18	≥ 19
Vancomicina	≤15	-	-

Fonte: CLSI (2020).
Legenda: *Amoxicilina e ácido clavulânico; Halo R: resistente; Halo I: intermediário; Halo S: sensível; mm: milímetro.

5.4 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

O teste U de Mann-Whitney foi utilizado para determinar se houve diferença entre os valores microbiológicos encontrados nas carnes embaladas a vácuo e em papel filme. O valor de $p > 0,05$ encontrado sugere que não houve significância estatística considerando o tipo de embalagem. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o IBM® SPSS Statistics versão 28.0.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 ANÁLISE DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DAS AMOSTRAS DE CARNE BOVINA *IN NATURA*

Na Tabela 1 são apresentados os resultados obtidos a partir das análises microbiológicas das amostras de carnes bovinas (embaladas a vácuo ou em badeja) comercializadas no Distrito Federal. Os resultados fora dos padrões de qualidade microbiológico estabelecidos na literatura estão destacados em negrito.

Tabela 1 - Análises microbiológicas de amostras de carne bovina *in natura* comercializadas no Distrito Federal

Amostras	Bactérias mesófilas* (log UFC/g)	Bactérias psicrotróficas † (log UFC/g)	Coliformes totais‡ (log NMP/g)	Coliformes termotolerantes †† (log NMP/g)	*Salmonella* spp. ‡‡	*S. aureus* ††† (log UFC/g)	Embalagem
1	4,32± 0,48	ND	2,32 ±0,55	**2,32 ± 0,55**	Ausente	3,00± 0,00	VÁCUO
2	**6,30± 0,08**	ND	**3,04 ± 0,00**	**3,04 ± 0,00**	Ausente	ND	VÁCUO
3	5,40± 0,19	ND	**3,04± 0,00**	**3,04 ± 1,06**	Ausente	ND	VÁCUO
4	3,39± 0,51	ND	**3,04± 0,00**	**3,04 ± 0,38**	Ausente	2,30± 0,00	VÁCUO
5	4,94± 0,88	6,16 ± 0,54	2,17± 0,05	**2,17 ± 0,05**	Ausente	2,30± 0,00	BANDEJA
6	4,57± 0,11	5,03 ± 0,27	1,46± 0,14	1,46 ± 0,77	Ausente	ND	BANDEJA
7	2,38± 0,55	3,17 ± 0,49	1,30± 1,00	1,04 ± 1,20	Ausente	2,00± 0,00	BANDEJA
8	2,60± 0,00	3,84 ± 0,08	2,66± 0,29	**3,04 ± 0,00**	Ausente	2,00± 0,00	BANDEJA
9	4,95± 0,00	6,18 ± 0,31	**3,04± 0,00**	**3,04 ± 0,00**	Ausente	ND	BANDEJA

Fonte: Autoria própria (2023).
Legenda: UFC: Unidade formadora de colônias; NMP: Números mais provável por grama; ND: não detectado.
Os resultados foram expressos como média ± desvio padrão de três repetições. Valores de referência: Bactérias mesófilas* limite aceitável até 6,00 log UFC/g (BRASIL, 2022); Bactérias psicrotróficas† limite aceitável até 7,00 log UFC/g (ICMSF, 1986); Coliformes totais‡ limite aceitável até 3,00 log NMP/g (USDA, 2023); Coliformes termotolerantes†† limite aceitável até 2,00 log NMP/g (BRASIL, 2022); ‡‡ *Salmonella* spp. Ausente (BRASIL, 2022); *S. aureus*††† limite aceitável até 4,00 log UFC/g (BRASIL, 2022)

Para as bactérias mesófilas, considerando o valor de referência (limite aceitável até 6,00 log UFC/g) estabelecido pelo documento mais recente sobre qualidade microbiológica de alimentos no Brasil, a Instrução Normativa n° 161, deliberado pela ANVISA em junho de 2022 (Brasil, 2022), observa-se que oito amostras (88,88%) estavam dentro dos parâmetros aceitáveis de qualidade, e que apenas uma amostra de CA (11,12%) ultrapassou o valor máximo permitido, apresentando contagem de

6,30 log UFC/g. Teshome, Assefa e Keba (2020) avaliaram a qualidade microbiológica da carne bovina crua na Etiópia e encontraram um valor médio de bactérias mesófilas de 8,34 log UFC/g, ou seja, um quantitativo maior do que o limite máximo de 7,00 log UFC/g que foi indicado como referência de qualidade no estudo.

A alta carga de bactérias mesófilas ocorre devido a processos inadequados durante as etapas de processamento da carne. Além disso, indica possíveis condições de armazenamento impróprio para a carne *in natura*, como por exemplo, falta de refrigeração ou ainda armazenamento sob temperaturas superiores à 7°C (Osemwowa *et al*., 2021; Brasil, 2004). O nível elevado dessas bactérias ainda é um indicador de contaminação cruzada e/ou falta de higienização adequada, além de apontar a possível presença de microrganismos patogênicos como *Salmonella* spp*., Escherichia coli* sorotipo patogênico e *Staphylococcus aureus,* podendo trazer problemas graves à saúde daqueles que consomem esses alimentos mal preparados e conservados (Da Silva Silvestre *et al*., 2013).

Para as bactérias psicrotróficas, não há na legislação brasileira um quantitativo aceitável nos alimentos cárneos, portanto, foi utilizado como parâmetro de análise o guia internacional do ICMSF (1986) (do inglês *International Comission on Microbiological Specifications for Foods*) onde o máximo aceitável em alimentos é de 7,00 log UFC/g. Nas amostras analisadas neste estudo, nenhuma ultrapassou este limite máximo. Além disso, pode-se observar que as amostras de carne bovina embaladas à vácuo não apresentaram bactérias psicrotróficas. De Souza Velho e colaboradores (2015) encontraram contagens de bactérias psicrotróficas inferiores a 7,00 log UFC/g em 100% das amostras de carnes bovinas *in natura* comercializadas em supermercados e mercados públicos em Mossoró-RN.

Marquezini e colaboradores (2016) ao avaliarem o crescimento de bactérias psicrotróficas em carnes bovinas embaladas à vácuo, encontraram uma contagem de 3,24 log UFC/g de bactérias psicrotróficas no 10° dia de estocagem e um valor superior a 7,00 log UFC/g no 60º dia de estocagem, mostrando que houve um aumento da carga de bactérias psicrotróficas ao longo do período de estocagem dessas carnes, e que o tempo de prateleira dessas carnes é de no máximo 60 dias e a partir de então começa a ocorrer a deterioração das carnes.

Carnes embaladas a vácuo possuem uma atmosfera modificada na embalagem com 80% de O_2 e 20% de CO_2. O gás CO_2 demonstra efeitos inibitórios sobre as bactérias mais comuns na deterioração da carne, e concomitante a isso, se

armazenadas sob baixas temperaturas, essas carnes têm um prolongamento de sua vida de prateleira (Hilgarth & Behr & Vogel, 2018).

A legislação brasileira não estabelece padrão de coliformes totais para carne bovina. Por isso, ao considerar o documento da *United States Department of Agriculture* (Usda, 2023), que trata sobre Testes Microbiológicos de Produtos Cárneos, Aves e Ovos, considera-se como parâmetro de qualidade microbiológica o valor aceitável de coliformes totais em amostras de carne desossadas, independentemente do tipo de acondicionamento utilizado, de até 3,00 log NMP/g. Neste estudo, quatro amostras (44,44%) mostraram enumeração de coliformes totais maior que 3,00 log NMP/g e 5 amostras (55,56%) mostraram valores entre 1,30 e 2,66 NMP/g.

Jaja e colaboradores (2018) observaram elevada presença de coliformes totais, variando de 4,10 até 6,30 log UFC/g, em carnes cruas comercializadas nos setores formais e informais na África do Sul. Já Silva e colaboradores (2016) verificaram a presença de coliformes totais em diversos tipos de cortes de carnes bovinas de abatedouros localizados no estado de Mato Grosso, e encontraram uma contagem menor de coliformes totais, sendo a média observada de 1,07 log UFC/g. Essa diferença entre abatedouro e mercados enfatiza que a existência elevada de coliformes totais em alimentos é um forte indicador de descuido no processo de higienização e manipulação de alimentos. As contaminações das carnes por esses microrganismos acontecem ao longo da cadeia de produção (Castro, 2019; Hu *et al*., 2016).

Já para os coliformes termotolerantes, mais especificamente, *Escherichia coli*, a legislação brasileira estabelece o limite de 2,00 log NMP/g em carnes bovinas cruas embaladas a vácuo ou não. Observa-se que neste estudo, apenas duas amostras (22,22%) apresentaram condições higiênicas satisfatórias e próprias para consumo, segundo a legislação vigente, enquanto sete amostras (77,78%) apresentaram enumeração de coliformes termotolerantes acima do permitido. Este é um resultado muito relevante, já que a presença destes microrganismos é possivelmente relacionada a contaminação de origem fecal, levando a considerar a falta de higiene durante as etapas de produção e manipulação da carne bovina (Fernandes *et al*., 2017). Além disso, estes microrganismos podem ainda sobreviver por algumas horas e até mesmo dias em equipamentos, roupas e objetos que entraram em contato com a carne, levando a contaminação cruzada do alimento (Bier *et al*., 2017).

Machado e colaboradores (2018) avaliaram as condições higiênico sanitárias da carne bovina resfriada embalada a vácuo produzida por estabelecimentos detentores de Serviço de Inspeção Federal (SIF) no estado de Mato Grosso. A contaminação média por coliformes termotolerantes foi 0,88 log NMP/g. Esses resultados novamente reforçam a diferença entre abatedouro e mercados, mostrando que as contaminações das carnes por esses microrganismos acontecem ao longo da cadeia de produção.

Para *Salmonella* spp. a legislação brasileira estabelece que esta bactéria deve estar ausente em carnes bovinas. Observou-se que não houve identificação de S*almonella* spp. nas amostras deste estudo. Abreu e colaboradores (2011) realizaram análises microbiológicas em carnes bovinas comercializadas no município de Paraná, e obtiveram resultados semelhantes a presente pesquisa, sendo que das 10 amostras avaliadas, nenhuma teve resultados demostrando a presença de *Salmonella* spp. Em contrapartida, Bier e colaboradores (2018) encontraram 2,5% (7/270) de amostras de carnes bovinas com presença de *Salmonella* spp. em abatedouros localizados no estado do Mato Grosso do Sul. É importante destacar que as amostras vieram de três abatedouros diferentes, entretanto, apenas um local apresentou amostras contaminadas. Além disso, é importante considerar que o quantitativo de amostras do estudo dos autores em questão foi bem superior ao quantitativo de amostras que foi analisado nesta pesquisa.

De acordo com a Organização Mundial da Saúde, a presença de *Salmonella* spp. em alimentos possui grande relevância, visto que esse patógeno é um importante indicador de risco à saúde do consumidor (Who, 2005). Além disso, segundo documento publicado em 2022 pela *European Food Safety Authority*, *Salmonella Typhimurium* foi o sorovar mais frequentemente associado ao consumo de carne de aves, carnes suínas e carnes bovinas contaminadas (Efsa, 2022). São reconhecidos mais de 2.500 sorovares de *Salmonella,* sendo a salmonelose a segunda doença zoonótica mais comum em surtos de doenças transmitidas por alimentos. Além disso, essas bactérias estão entre as principais causas de gastroenterites em diversos locais ao redor do mundo, se tornando um assunto delicado de saúde pública. Ainda deve se levar em consideração a sua alta resistência a diversos antibióticos, sendo principalmente resistentes aos de terceira geração como fluoroquinolonas e cefalosporinas (Brasil, 2011; Efsa, 2022; Koondhar *et al*., 2021).

Para *S. aureus* (estafilococos coagulase positiva), a legislação brasileira apresenta valores de referência para carne bovina moída, sendo o limite de 4,00 log UFC/g. Assim, ao avaliar a qualidade microbiológica das amostras de carne bovina *in natura* deste estudo, não houve nenhuma amostra que ultrapassou este limite, sendo que cinco amostras (55,55%) estavam contaminadas com *S. aureus* apresentando contagens entre 2,00 e 3,00 log UFC/g e quatro amostras (44,45%) não estavam contaminadas com *S. aureus*.

Ozdemir e Keyvan (2016) ao analisarem 75 amostras de carne bovina, observaram que 14,60% das amostras estavam contaminadas com *S. aureus*. Osman e colaboradores (2017) também encontraram resultados parecidos, sendo que de 23 amostras de carne bovina analisadas, apenas 3 amostras (13,04%) estavam contaminadas com *S. aureus*.

6.2 PERFIL DE SUSCEPTIBILIDADE ANTIMICROBIANA DAS CEPAS DE *Escherichia coli*

Na Tabela 2 está apresentado o perfil de susceptibilidade antimicrobiana das 12 cepas de *Escherichia coli* isoladas das carnes bovinas *in natura* comercializadas no Distrito Federal.

Tabela 2 - Perfil de suscetibilidade antimicrobiana das cepas de *Escherichia coli* provenientes de amostras de carne bovina *in natura* embaladas à vácuo ou em bandejas comercializadas no Distrito Federal.

Antimicrobianos	**R % (n)**	**I % (n)**	**S % (n)**
Sulfonamida (SUL)	**83,33 (10)**	0,00 (0)	16,67 (2)
Cefotaxima (CTX)	**33,33 (4)**	0,00 (0)	66,67 (8)
Ceftazidima (CAZ)	**33,33 (4)**	0,00 (0)	66,67 (8)
Amoxicilina* (AMC)	**25,00 (3)**	**41,67 (5)**	33,33 (4)
Cloranfenicol (CLO)	8,33 (1)	0,00 (0)	**91,67 (11)**
Ciprofloxacina (CIP)	0,00 (0)	**33,33 (4)**	66,67 (8)
Gentamicina (GEN)	0,00 (0)	0,00 (0)	**100,00 (12)**
Imipenem (IMP)	0,00 (0)	8,33 (1)	**91,67 (11)**
Tetraciclina (TET)	0,00 (0)	0,00 (0)	**100,00 (12)**

Fonte: Autoria própria (2023).

Legenda: *Amoxicilina e ácido clavulânico; R= resistente; I = intermediário; S = sensível; n = número de cepas; % = porcentagem em relação ao total de 12 cepas. Referência com base no CLSI 2020.

As cepas de *E. coli* deste estudo apresentaram um perfil de resistência maior para sulfonamida (83,33%), cefotaxima e ceftazidima (33,33%), além de 66,67% de perfil resistente e intermediário para amoxacilina com ácido clavulânico. Martínez-Vázquez e colaboradores (2018) analisaram 74 cepas de *E. coli* isoladas de carnes bovinas comercializadas na cidade Tamaulipas no Mexico e encontraram um valor de 73,00% (54/74) de resistência a cefotaxima, seguido de 50,00% (37/74) de resistência a amoxicilina com ácido clavulânico.

As β-lactamases são as principais enzimas responsáveis pela resistência aos antimicrobianos β-lactâmicos em bactérias Gram-negativas, por isso, deve-se atentar ao desenvolvimento de cepas ESBL (β-lactamases de espectro estendido). As cepas ESBL são capazes de hidrolisar uma extensa seleção de antibióticos das classes dos β-lactâmicos, como cefalosporinas, penicilinas e monobactâmicos (Dandachi *et al*., 2018; Ejaz *et al*., 2021; Wasink, Rozanska, Osek 2014).

As cepas de *E. coli* apresentaram perfil de sensibilidade maior para gentamicina (100,00%), tetraciclina (100,00%) e cloranfenicol (91,67%). Com resultados semelhantes a este trabalho, Queiroz (2017) isolaram 40 cepas de *E. coli* provenientes de carnes bovinas moída. A gentamicina apresentou 100% de eficácia contra estas cepas, cloranfenicol apresentou 92,5% de eficácia e a tetraciclina apresentou 87,5% de eficácia.

A resistência antimicrobiana apresenta-se como um problema saúde global. O uso crescente e desenfreado de antimicrobianos nos animais é apontado com uma das principais causas de aparecimento de linhagens bacterianas resistentes. Embora, em algumas situações de bem-estar do animal, é inevitável a utilização de medicações durante o tratamento, deve se levar em consideração o uso prudente dessas drogas. O aumento da resistência antimicrobiana resulta na ineficiência do tratamento de diversas infecções, ocasionando prolongamento no tempo de hospitalização e aumentando a morbimortalidade (Kaniyamattam, Tauer, Gröhn 2021; Sacher–Pirklbauer *et al*., 2021; Boujderda, Lahouel 2022).

6.3 PERFIL DE SUSCEPTIBILIDADE ANTIMICROBIANA DAS CEPAS DE *Staphylococcus Aureus*

Na Tabela 3 está apresentado o perfil de susceptibilidade antimicrobiana das 10 cepas de *Staphylococcus aureus* isoladas das carnes bovinas *in natura*, comercializadas no Distrito Federal.

Tabela 3 - Perfil de suscetibilidade antimicrobiana das cepas de *Staphylococcus aureus* provenientes de amostras de carne bovina *in natura* embaladas a vácuo ou não comercializadas no Distrito Federal.

Antimicrobianos	R % (n)	I % (n)	S % (n)
Sulfonamidas	**40,00 (4)**	**10,00 (1)**	50,00 (5)
Cefoxitina	**30,00 (3)**	--	70,00 (7)
Cloranfenicol	**20,00 (2)**	00,00 (0)	80,00 (8)
Amoxicilina*	10,00 (1)	--	**90,00 (9)**
Ciprofloxacina	10,00 (1)	00,00 (0)	**90,00 (9)**
Eritromicina	10,00 (1)	00,00 (0)	**90,00 (9)**
Tetraciclina	10,00 (1)	00,00 (0)	**90,00 (9)**
Gentamicina	00,00 (0)	00,00 (0)	**100,00 (10)**
Vancomicina	--	--	50,00 (5)

Fonte: Autoria própria (2023).
Legenda: *Amoxicilina e ácido clavulânico; R= resistente; I = intermediário; S = sensível; n= número de cepas; % = porcentagem em relação ao total de 10 cepas. Referência com base na CLSI 2020.

As cepas de S. *aureus* apresentaram um perfil de resistência maior para as sulfonamidas (40,00%), cefoxitina (30,00%), e cloranfenicol (20,00%). De acordo com o protocolo da CLSI (2020), o teste de resistência com discos de cefoxitina e oxacilina são equivalentes e servem para predizer resistência a oxacilina *mecA*-mediada MRSA (do inglês *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus*). Portanto, as cepas que apresentarem resistência à classe das meticilinas são consideradas potencialmente resistentes a qualquer fármaco da classe dos β-lactâmicos (Tesfaye *et al*., 2021).

A resistência à vancomicina não foi abordada neste trabalho, pois o diâmetro do halo igual ou inferior a 14 mm para o isolado de *S. aureus* deve ser testado utilizando o método de Concentração Inibitória Mínima (CIM) de referência. A técnica de disco difusão não distingue as cepas com sensibilidade reduzida à vancomicina (CIM 4-8 µg/mL)das cepas sensíveis (CIM 0,5-2 µg /mL) (Brcast/Eucast, 2021).

Freitas e colaboradores (2018) encontraram em 100% de suas amostras de carne bovina *in natura*, resistência antimicrobiana de *S. aureus* para a cefoxitina. Pekana e Green (2018) encontraram valores de resistência antimicrobiana em

amostras de carnes bovinas, coletadas na África do Sul, para tetraciclina (39,20%) e eritromicina (48,00%). Kim e colaboradores (2020) ao realizarem pesquisa na Coreia com amostras bovinas *in natura* local e amostras importadas, também encontraram um valor de resistência para a eritromicina, sendo de 10,40% para carne bovina local, e 21,40% para carnes bovinas importadas. Outro perfil importante de resistência encontrado foi de penicilina, sendo 78,10% para carne bovina local, e 53,60% para carne bovina importada.

As cepas isoladas de S. *aureus* apresentaram maior sensibilidade com os antimicrobianos: gentamicina (100,00%), eritromicina (90,00%), e tetraciclina (90,00%) (Tabela 3). Estes resultados corroboram com os achados encontrados por Bier e colaboradores (2022), que encontraram alta sensibilidade de cepas de *S. aureus* isoladas de carnes bovinas *in natura* para gentamicina (100,00%) e tetraciclina (81,25%). Pinheiro (2019) também reportou que cepas de *S. aureus* isoladas de carnes bovinas *in natura* apresentaram sensibilidade aos antimicrobianos: eritromicina e cefoxitina.

Com o aumento do consumo de antibióticos com finalidade terapêutica e de crescimento do animal, ocorre o aumento da resistência bacteriana a medicamentos que são utilizados tanto na medicina veterinária quanto humana, e tal fato atrapalha o tratamento de enfermidades bacterianas simples, levando a um tratamento clínico ineficaz, tempo de internação maior e aumento da morbidade e mortalidade (Kaniyamattam, Tauer, Gröhn 2021; Sacher–Pirklbauer *et al*., 2021; Boujderda, Lahouel 2022).

6.4 PERFIL DE RESISTÊNCIA E MULTIRRESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS DE CEPAS DE *Escherichia coli* E *Staphylococcus Aureus*

Na Tabela 4 são apresentados o perfil de resistência e multirresistência nas cepas de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* isoladas das carnes bovinas *in natura*, comercializadas no Distrito Federal.

Tabela 4 - Número de classes de antimicrobianos que apresentaram resistência as cepas de *Escherichia coli* e de *Staphylococcus aureus* isoladas das amostras de carne bovina in natura comercializadas no Distrito Federal.

N° de classes de antimicrobianos com resistência	***E. coli***		***S. aureus***	
	N	**(%)**	**N**	**(%)**
0	1	8,34	0	00,00
1	4	33,33	5	50,00
2	3	25,00	3	30,00
3	4	33,33	1	10,00
4	0	00,00	1	10,00
5	0	00,00	0	00,00
6	0	00,00	0	00,00
7	0	00,00	0	00,00
Multirresistente (≥ 3)	4	33,33	2	20,00
Total	12		10	

Fonte: Autoria própria (2023).
Legenda: N: número de cepas; %: porcentagem de cepas em relação ao total de bactérias isoladas. Referência com base na CLSI 2020.

Foi observado que 33,33% das cepas de *E. coli* apresentaram um perfil de multirresistência a antimicrobianos, ou seja, são resistentes a pelo menos três classes de antibióticos diferentes. Para as cepas de *S. aureus*, os resultados mostraram 20,00% das cepas com perfil de multirresistência. Vale destacar ainda que houve uma cepa de *S. aureus* resistente a quatro classes diferentes de antimicrobianos.

Haile e colaboradores (2022) observaram em cepas de *E. coli* O157:H7 isoladas de amostras de carne bovina na Etiópia, um perfil de multirresistência de 57,14% (8/14), sendo que 35,68% (5/14) apresentaram resistência a três categorias de antimicrobianos diferentes, 7,14% (1/14) a quatro categorias de antimicrobianos e 14,28% (2/14) apresentaram resistência a cinco categorias diferentes de antimicrobianos.

Waters e colaboradores (2011) encontraram uma multirresistência de 35,00% (6/17) em cepas de *S. aureus* isoladas de carne bovina moída. Atualmente diversas cepas de *S. aureus* de origem alimentar apresentam resistência a diversos tipos de antimicrobianos. As cepas multirresistentes vêm se espalhando rapidamente ao redor do mundo, trazendo um grande perigo a saúde global (Salinbaba, 2022).

7 CONCLUSÃO

Neste estudo foi observado que a maioria das amostras de carne bovina *in natura* (77,78%) comercializadas no Distrito Federal não apresentou qualidade microbiológica satisfatória. Todas as quatro amostras de carne bovina embaladas a vácuo apresentaram resultados inadequados de coliformes termotolerantes (*E. coli*). Já das cinco amostras de carne bovina embaladas em bandeja de poliestireno envoltas em papel filme, três amostras apresentaram resultados inadequados de coliformes termotolerantes.

Na análise do perfil de resistência antimicrobiana das cepas de *E. coli* e *S. aureus* presentes nas amostras de carne bovina, a grande preocupação se dá devido a presença de cepas multirresistentes de ambas as espécies bacterianas, trazendo um sinal de alerta sobre o uso desenfreado e inconsequente dos fármacos antibacterianos na medicina veterinária.

Outro ponto que deve ser destacado é que na literatura quase não há estudos retratando o perfil de multirresistência de cepas de *E. coli* e *S. aureus* isoladas a partir de carnes bovinas embaladas a vácuo, mostrando a necessidade da realização de mais estudos que no futuro podem orientar a criação de legislações que limitem este parâmetro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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, Umuarama**, v. 14, n. 1, p. 19-23, 2011.

ARAÚJO, Y. F. **Avaliação da qualidade da tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*) fresca e resfriada e do gelo de manutenção comercializados na cidade de Brasília, Distrito Federal.** TCC, Faculdade de Ceilândia, Universidade de Brasília, 2015.

BIER, D. *et al*. Survey of verotoxin-producing *Escherichia coli* and faecal coliforms in beef carcasses destined for export at slaughterhouses in Brazil. **Food Science and Technology**, v. 38, p. 60-66, 2017.

BIER, D. *et al*. Survey of *Salmonella* spp. in beef meat for export at slaughterhouses in Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 38, p. 2037-2043, 2018.

BIER, D. *et al*. Suscetibilidade antimicrobiana de *Salmonella* spp e *Staphylococcus aureus* isolados de carnes bovinas comercializadas em Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil. **Ciência Animal Brasileira**, v. 23, 2022

BOUDJERDA, D.; LAHOUEL, M. Virulence and antimicrobial resistance of *Escherichia coli* isolated from chicken meat, beef, and raw milk. **Austral Journal of Veterinary Sciences**, v.54, n. 3, p. 115-125, 2022**.**

BRASIL. Agência Nacional De Vigilância Sanitária. **Instrução Normativa IN n° 161 de 01 de Julho de 2022.** Disponível em: http://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/6503717/%281%29IN_161_2022_COMP.pdf/64b8368b-1f56-43c9-ab89-0674ef9a069f. Acesso em: 15 de mai. 2023.

BRASIL. **Portaria n° 365, de 16 de julho de 2021.** Regulamento Técnico de Manejo Pré-abate e Abate Humanitário e os métodos de insensibilização autorizados pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Brasília, DF.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **RDC N° 216, DE 15 DE SETEMBRO DE 2004**. Dispõe sobre Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação. Acesso em: 07 de jun. 2023. Disponível em: <http://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/2718376/RDC_216_2004_COMP.pdf/66f5716e-596c-4b9d-b759-72ce49e34da0>.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Manual técnico de diagnóstico laboratorial de *Salmonella* spp.: diagnóstico laboratorial do gênero Salmonella / Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz. Laboratório de Referência Nacional de Enteroinfecções Bacterianas, Instituto Adolfo Lutz - Brasília: Ministério da Saúde, 2011. 60 p.: il. – (Série A. Normas e manuais técnicos).

BRCAST. **Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibily Testing**. Tabelas de pontos de corte para interpretação de CIMs e diâmetros de halos. Versão 11.0, 2021 do EUCAST. Disponível em: http://brcast.org.br/documentos/. Acesso em: 28 nov. 2023.

BUNCIC, S. *et al.* Microbial pathogen control in the beef chain: recent research advances. **Meat Science**, v. 97, n. 3, p. 288-97, 2014.

CASTRO, M. **Coliformes Totais e Coliformes Termotolerantes: qual a diferença?** 2019. https://foodsafetybrazil.org/coliformes-totais-e-coliformes-termotolerantes-voce-sabe-diferenca/)

CLSI - Clinical and Laboratory Standards Institute. Antiograma – Interpretação das zonas

de inibição e concentrações inibitórias mínimas. Edition 2020. CLSI guideline. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2020. Disponível em: chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/viewer.html?pdfurl=http%3A%2F%2Fwww.dme.ind.br%2Fwp-content%2Fuploads%2FBULA-DE-BANCADA-CLSI 2020.pdf&clen=1558323&chunk=true. Acesso em: 08 ago. 2023.

DA SILVA SILVESTRE, M. K. *et al*. Avaliação da qualidade da carne bovina *in natura* comercializada no município de Alexandria-RN. **Acta Veterinária Brasílica**, v. 7, n. 4, p. 327-331, 2013.

DANDACHI, I. *et al*. Prevalence and emergence of extended-spectrum cephalosporin-, carbapenem- and colistin-resistant gram negative bacteria of animal origin in the Mediterranean Basin. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, p. 2299, 2018.

EJAZ, H. *et al*. Molecular epidemiology of extensively drug-resistant MCR encoded colistin-resistant bacterial strains co-expressing multifarious β-lactamases. **Antibiotics**, v. 10, n. 4, p. 467, 2021.

DE SOUZA VELHO, A. L. MC *et al*. Avaliação qualitativa da carne bovina *in natura* comercializado em Mossoró-RN. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 9, n. 3, p. 212-217, 2015.

DSANI, E. *et al*. Antimicrobial resistance and molecular detection of extended spectrum β-lactamase producing *Escherichia coli* isolates from raw meat in Greater Accra region, Ghana. **BMC Microbiology**, v. 20, n. 1, p. 253, 2020.

EFSA. European Food Safety Authority. Salmonella. Acesso em: 08 ago. 2023. Disponível em: < https://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/salmonella>.

EMBRAPA GADO DE CORTE. **O futuro da cadeia produtiva da carne bovina brasileira: uma visão para 2040.** Centro de Inteligência da Carne Bovina, Embrapa Gado de Corte, Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Corte, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Campo Grande, 2020.

FERNANDES, F. P. *et al*. Virulence and antimicrobial resistance of *Salmonella* spp. and *Escherichia coli* in the beef jerky production line. **FEMS Microbiology Letters**, v. 364, n. 9, p. fnx083, 2017.

FREITAS, M.; DA ROSA PINHEIRO, T.; STOPIGLIA, C. D. O. Viabilidade e perfil de sensibilidade aos antimicrobianos de bactérias isoladas do churrasco bovino. **Anais do Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão**, v. 10, n. 2, 2018.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. **Higiene e vigilância sanitária de alimentos** 6a ed. São Paulo Editora Manole, 2019. E-book. ISBN 9788520454176. Disponível em: tps://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788520454176/. Acesso em: 19 abr. 2023.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. **Sistema de Gestão: Qualidade e Segurança dos Alimentos.** São Paulo Editora Manole, 2013. E-book. ISBN 9788520448946. Disponível em: https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788520448946/. Acesso em: 18 abr. 2023.

HAILE, A. F. *et al*. Prevalence, antibiogram, and multidrug-resistant profile of *E. coli* O157: H7 in retail raw beef in Addis Ababa, Ethiopia. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 9, p. 734896, 2022.

HILGARTH, M.; BEHR, J.; VOGEL, R. F. Monitoring of spoilage-associated microbiota on modified atmosphere packaged beef and differentiation of psychrophilic and psychrotrophic strains. **Journal of Applied Microbiology**, v. 124, n. 3, p. 740-753, 2018.

HU, S. *et al*. Real-time TaqMan PCR for rapid detection and quantification of coliforms in chilled meat. **Food Analytical Methods**, v. 9, n. 4, p. 813–822, 2016.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Abate de bovinos volta a subir e produção de ovos de galinha bate recorde em 2022.** Disponível em: https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/agencia-noticias/2012-agencia-de-noticias/noticias/36459-abate-de-bovinos-volta-a-subir-e-producao-de-ovos-de-galinha-bate-recorde-em-2022.

ICMSF - International Commission on Microbiological Specifications for Foods. Internacional Comission on Microbiological Specifications for Foods Sampling for microbiological analysis: principles and specific applications. 2. ed. London: Blackwell Scientific Publications, 1986. 131p.

IRREÑO-BARRERA, F. J. *et al.* Avances recientes en el estudio de factores de estrés prefaenado sobre la calidad de la carne bovina, aviar y porcina. **Scientia Agropecuaria**, v. 13, n. 3, p. 249-264, 2022.

İRKIN, R.; BOZKURT, B.; TÜMEN, G. Determination of the prevalence of *Salmonella* spp. and *S. aureus* in meat products by Real-Time PCR and testing their antibiotic susceptibility. **Medycyna Weterynaryjna,** 2021.

JAJA, I. F.; GREEN, E.; MUCHENJE, V. Aerobic mesophilic, coliform, *Escherichia coli*, and *Staphylococcus aureus* counts of raw meat from the formal and informal meat sectors in South Africa. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 15, n. 4, p. 819, 2018.

KANIYAMATTAM, K.; TAUER, L. W.; GRÖHN, Y. T. System economic costs of antibiotic use elimination in the US beef supply chain. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 8, p. 606810, 2021.

KIM, Y. H. *et al*. Prevalence and characteristics of antimicrobial-resistant *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from retail meat in Korea. **Food Science of Animal Resources**, v. 40, n. 5, p. 758, 2020.

KOONDHAR, M. N. *et al*. Antimicrobial resistance profile of *Salmonella* spp. isolated from raw beef meat samples collected from Karachi, Pakistan. **Pakistan Journal of Zoology**, v. 53, n. 6, p. 1-6, 2021.

MACHADO, M. A. M. *et al*. Hygienic sanitary conditions of vacuum-packed beef produced by slaughterhouses qualified for export in the Mato Grosso state, Brazil. **Ciência Rural**, v. 48, 2018.

MARQUEZINI, M. G. *et al*. Analysis of vacuum-packed beef regarding psychrotrophic bacteria growth and biogenic amines content. **Procedia Food Science**, v. 7, p. 141-144, 2016.

MARTÍNEZ-CHÁVEZ, L. *et al*. Quantitative distribution of *Salmonella* spp. and *Escherichia coli* on beef carcasses and raw beef at retail establishments. **International Journal of Food Microbiology**, v. 210, p. 149-155, 2015.

MARTÍNEZ-VÁZQUEZ, A. V. *et al*. Prevalence, antimicrobial resistance and virulence genes of *Escherichia coli* isolated from retail meat in Tamaulipas, Mexico. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, v. 14, p. 266-272, 2018.

MELNGAILE, A. *et al.* Microbiological quality of meat preparations and meat products. In: **9th Baltic Conference of Food Science and Technology,** 2014. p. 61-65.

NAAS, H. T. *et al*. Occurrence, characterization, and antibiogram of *Staphylococcus aureus* in meat, meat products, and some seafood from Libyan retail markets. **Veterinary World**, v. 12, n. 6, p. 925, 2019.

NCBI. ***invA* type III secretion system export apparatus protein *InvA* [*Salmonella bongori*].**Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/61369727&gt.

OLIVEIRA, P. P. A. *et al.* The effect of grazing system intensification on the growth and meat quality of beef cattle in the Brazilian Atlantic Forest biome. **Meat Science**, v. 139, p. 157–161, 2018.

OSEMWOWA, E. *et al*. Bacterial quality and safety of raw beef: A comparison between Finland and Nigeria. **Food Microbiology**, v. 100, p. 103860, 2021.

OSMAN, K. *et al*. Antimicrobial resistance and virulence characterization of *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative *Staphylococci* from imported beef meat. **Annals of clinical microbiology and antimicrobials**, v. 16, n. 1, p. 1-10, 2017.

ÖZDEMIR, H.; KEYVAN, E. Isolation and characterization of *Staphylococcus aureus* strains isolated from beef, sheep and chicken meat. **Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi**, v. 63, n. 4, p. 333-338, 2016.

PEKANA, A.; GREEN, E. Antimicrobial resistance profiles of *Staphylococcus aureus* isolated from meat carcasses and bovine milk in abattoirs and dairy farms of the Eastern Cape, South Africa. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 15, n. 10, p. 2223, 2018.

PINHEIRO, T. R. Avaliação de resistência aos antibióticos em bactérias isolada de carne bovina. 117 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal do Pampa, Uruguaiana, 2019.

QUEIROZ, I. K. A. Carne moída bovina em Araguaína: qualidade higiênico-sanitária e perfil de resistência antimicrobiana de *E. coli* e *Salmonella* sp. **Universidade Federal de Tocantins. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal Tropical**, 2017.

RANI, Z. T. *et al.* Effect of post-slaughter handling during distribution on microbiological quality and safety of meat in the formal and informal sectors of South Africa: A review. **South African Journal of Animal Science**, v. 47, p. 255-267, 2017.

RAŠETA, M. *et al*. Prevalence and antibiotic resistance of *Salmonella* spp. in meat products, meat preparations and minced meat. In: **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**. IOP Publishing, 2017. p. 012028.

REID, R. *et al.* The microbiology of beef carcasses and primals during chilling and commercial storage. **Food Microbiology**, v. 61, p. 50-57, 2017.

RISTORI, C. A. *et al*. Assessment of consumer exposure to *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., and Shiga Toxin–Producing *Escherichia coli* in meat products at retail in the city of São Paulo, Brazil. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 14, n. 8, p. 447-453, 2017.

RODRIGUES, L. F. S. **Qualidade microbiológica de queijos tipo Minas Frescal comercializados no Distrito Federal e determinação da resistência antimicrobiana de bactérias Escherichia coli e Staphylococcus aureus isoladas desses queijos.** Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologias em Saúde) – Programa de Pós-graduação em Ciências e Tecnologias em Saúde, Faculdade de Ceilândia, Universidade de Brasília. Brasília, 104p. 2021.

SACHER-PIRKLBAUER, A. *et al*. Phylogenetic groups and antimicrobial resistance genes in *Escherichia coli* from different meat species. **Antibiotics**, v. 10, n. 12, p. 1543, 2021.

SILVA, D. C. *et al*. Parâmetros microbiológicos em diferentes cortes de carne bovina resfriada. **Higiene Alimentar**, p. 116-120, 2016.

ŞANLIBABA, P. Prevalence, antibiotic resistance, and enterotoxin production of Staphylococcus aureus isolated from retail raw beef, sheep, and lamb meat in Turkey. **International Journal of Food Microbiology**, v. 361, p. 109461, 2022.

SIQUEIRA, J. V. *et al.* Implantação das boas práticas de fabricação em açougue conforme à resolução 7123/2020. **Alimentos: Ciência, Tecnologia e Meio Ambiente**, v. 2, n. 10, p. 1-33, 2021.

TESFAYE K., *et al*. Prevalence of mastitis and phenotypic characterization of methicillin- resistant staphylococcus aureus in lactating dairy cows of selected dairy farms in and around Adama Town, Central Ethiopia. **Environmental Health Insights**. v. 15, p. 1–8, 2021.

TESHOME, G.; ASSEFA, Z.; KEBA, A. Assessment of microbial quality status of raw beef around Addis Ababa city, Ethiopia. **African Journal of Food Science**, v. 14, n. 7, p. 209-214, 2020.

USDA. United States Department of Agriculture. Microbiological Testing of AMS Purchased Meat, Poultry and Egg Commodities. FY2023 Indicator Organism Test Results (pdf). Acesso em: 26 jun 2023. Disponível em: <

https://www.ams.usda.gov/sites/default/files/media/AMSBonelessBeefSupplierIndicatorOrganismPerformanceFYTD2023.pdf>

THWALA, T. *et al.* Prevalence and characteristics of *Staphylococcus aureus* associated with meat and meat products in African countries: A review. **Antibiotics**, v. 10, n. 9, p. 1108, 2021.

TROY, D. Modern approaches to enhancing beef quality. **Meat Technology,** v. 52, n. 1, p. 15-21, 2011.

WASIŃSKI, B.; RÓŻAŃSKA, H.; OSEK, J. Antimicrobial resistance of ESBL and AmpC-producing *Escherichia coli* isolated from meat. **Journal of Veterinary Research**, v. 58, n. 4, p. 567-571, 2014.

WATERS, A. E. *et al*. Multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* in US meat and poultry. **Clinical Infectious Diseases**, v. 52, n. 10, p. 1227-1230, 2011.

WHO - WORD HEALTH ORGANIZATION. Drug-resistant *Salmonella*. Food Safety Department. Fact sheet n. 139, 2005. Disponível em: < http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs139/ en/>.

ZEN, S. D.; SANTOS, M. C. **Demanda por carne está ao alcance do Brasil.** 2015. Disponível em: https://www.noticiasagricolas.com.br/artigos/artigos-geral/161896-demanda-por-carne-esta-ao-alcance-do-brasil.html