

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO MESTRADO PROFISSIONAL EM DEFESA
AGROPECUÁRIA

DANIELA SIMÕES VELAME

AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS MICROBIOLÓGICOS E
CARACTERIZAÇÃO GENOTÍPICA DOS ISOLADOS DE *Escherichia*
***coli* PROVENIENTES DA CARNE BOVINA COMERCIALIZADA NA**
REGIÃO DO RECÔNCAVO DA BAHIA

CRUZ DAS ALMAS – BAHIA
MAIO – 2024

DANIELA SIMÕES VELAME

**AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS MICROBIOLÓGICOS E
CARACTERIZAÇÃO GENOTÍPICA DOS ISOLADOS DE *Escherichia
coli* PROVENIENTES DA CARNE BOVINA COMERCIALIZADA NA
REGIÃO DO RECÔNCAVO DA BAHIA**

Bacharel em Medicina Veterinária

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2019

Dissertação apresentada ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Defesa Agropecuária da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, como requisito para obtenção do título de Mestre em Defesa Agropecuária na Área de Ciências Agrárias.

Orientadora: Profa. Dra. Ludmilla Santana Soares e
Barros

Coorientadora: Profa. Dra. Isabella de Matos Mendes
da Silva

**CRUZ DAS ALMAS – BAHIA
MAIO – 2024**

V433a

Velame, Daniela Simões.

Avaliação dos parâmetros microbiológicos e caracterização genotípica dos isolados de *Escherichia coli* provenientes da carne bovina comercializada na Região do Recôncavo da Bahia / Daniela Simões Velame. _ Cruz das Almas, BA, 2024. 45f.; il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias Ambientais e Biológicas, Mestrado Profissional em Defesa Agropecuária.

Orientadora: Prof. Dra. Ludmilla Santana Soares e Barros.
Coorientadora: Prof. Dra. Isabella de Matos Mendes da Silva.

1.Carne – Alimentos – Microbiologia. 2.Carne – Segurança alimentar e nutricional – Saúde. 3.Escherichia coli – Análise. I.Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias Ambientais e Biológicas. II.Título.

CDD: 664.9

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA - UFRB
CENTRO DE CIÊNCIAS, AGRÁRIAS AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO MESTRADO PROFISSIONAL EM DEFESA
AGROPECUÁRIA**

**AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS MICROBIOLÓGICOS E
CARACTERIZAÇÃO GENOTÍPICA DOS ISOLADOS DE *Escherichia
coli* PROVENIENTES DA CARNE BOVINA COMERCIALIZADA NA
REGIÃO DO RECÔNCAVO DA BAHIA**

Comissão Examinadora da Defesa de Dissertação de Daniela Simões Velame

Aprovada em: 29 de maio de 2024

Profa. Dra. Ludmilla Santana Soares e Barros
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB)
(Orientadora)

Profa. Dra. Tatiana Pacheco Rodrigues
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB)
(Examinador Interno)

Prof. Dr. Ricardo Mendes da Silva
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB)
(Examinador Externo)

VELAME, Daniela Simões. **AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS MICROBIOLÓGICOS E CARACTERIZAÇÃO GENOTÍPICA DOS ISOLADOS DE *Escherichia coli* PROVENIENTES DA CARNE BOVINA COMERCIALIZADA NA REGIÃO DO RECÔNCAVO DA BAHIA.** Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas – BA, 2024. Orientadora: Profa. Dra. Ludmilla Santana Soares e Barros

RESUMO

Considerada um alimento altamente nutritivo e uma das proteínas de origem animal mais consumida, a carne bovina apresenta em sua composição, características físico-químicas propícias ao desenvolvimento dos microrganismos deteriorantes e patogênicos, sobretudo quando expostas a condições higiênico-sanitárias insatisfatórias durante os processos de manipulação e comercialização do produto. Considerando a atuação pouco eficiente dos órgãos de fiscalização sobre a prática da comercialização dos produtos de origem animal, em especial da carne bovina, somada a alta procura por esses produtos e a veiculação dos agentes causadores das doenças de origem alimentar aos seres humanos, o presente estudo teve por objetivo a verificação da qualidade higiênico-sanitária da carne bovina crua, ofertada a venda em supermercados e feiras livres na região do Recôncavo da Bahia, por meio da verificação dos parâmetros microbiológicos e caracterização genotípica da *Escherichia coli*. O estudo foi realizado na Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, e as amostras da carne bovina crua, obtidas aleatoriamente através da compra, foram coletadas em dois pontos de comercialização nos municípios de Santo Antônio de Jesus, Cruz das Almas, Muritiba, São Félix, Cachoeira e Santo Amaro no período de maio a julho de 2023. As amostras foram analisadas quanto a presença dos microrganismos aeróbios mesófilos, psicotróficos, coliformes totais e *Escherichia coli* através da técnica de plaqueamento em profundidade (*Pour Plate*), utilizando meios de cultura específicos para cada microrganismo. Para a detecção da *Salmonella* spp, foi utilizado o método enzimático cromogênico Compact Dry SL[®]. Realizou-se a extração do DNA dos isolados da *E. coli* e a pesquisa dos genes de virulência *stx* e *stI* através da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) para detecção da *E. coli* enterohemorrágica (EHEC) e enterotoxigênica (ETEC), respectivamente. As análises apontaram a presença da *Salmonella* spp em três amostras provenientes das feiras livres e duas amostras provenientes dos supermercados. Microrganismos aeróbios mesófilos e psicotróficos foram os grupos com maior ocorrência. A quantificação dos coliformes totais apontou valores médios variando de 3.215 log UFC/g a 5.605 log UFC/g, e a *E. coli* foi identificada em 75% das amostras com valores superiores aos parâmetros estabelecidos em legislação, indicando a ocorrência da contaminação por material de origem fecal. O gene *stx* foi identificado em duas das amostras comercializadas nas feiras livres. O gene *stI* não foi identificado em nenhuma das amostras analisadas. Diante dos resultados encontrados, é possível concluir que as amostras da carne bovina crua comercializadas nos municípios estudados, apresentam qualidade microbiológica insatisfatória, podendo servir como veículo para a transmissão de microrganismos patogênicos aos seres humanos.

Palavras-Chave: saúde pública, contaminação microbiológica, qualidade

VELAME, Daniela Simões. **EVALUATION OF MICROBIOLOGICAL PARAMETERS AND GENOTYPIC CHARACTERIZATION OF *Escherichia coli* ISOLATES FROM BEEF SOLD IN THE RECÔNCAVO REGION OF BAHIA.** Federal University of Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas – BA, 2024. Advisor: Dra. Ludmilla Santana Soares e Barros

ABSTRACT

Considered a highly nutritious food and one of the most consumed proteins of animal origin, beef presents in its composition, physical-chemical characteristics conducive to the development of spoilage and pathogenic microorganisms, especially when exposed to unsatisfactory hygienic-sanitary conditions during the handling processes. and marketing of the product. Considering the inefficient performance of inspection bodies on the practice of marketing products of animal origin, especially beef, coupled with the high demand for these products and the transmission of agents that cause food-borne diseases to humans, this The study aimed to verify the hygienic-sanitary quality of raw beef offered for sale in supermarkets and open-air markets in the Recôncavo region of Bahia, through verification of microbiological parameters and genotypic characterization of *Escherichia coli*. The study was carried out at the Federal University of Recôncavo da Bahia, and samples of raw beef, obtained randomly through purchase, were collected at two commercialization points in the municipalities of Santo Antônio de Jesus, Cruz das Almas, Muritiba, São Félix, Cachoeira and Santo Amaro from May to July 2023. The samples were analyzed for the presence of aerobic mesophilic, psychrotrophic, total coliform and *Escherichia coli* microorganisms using the in-depth plating technique (Pour Plate), using specific culture media for each microorganism. To detect *Salmonella* spp, the Compact Dry SL® chromogenic enzymatic method was used. DNA extraction from *E. coli* isolates was carried out and the virulence genes *stx* and *stf* were investigated using the Polymerase Chain Reaction (PCR) to detect enterohemorrhagic (EHEC) and enterotoxigenic (ETEC) *E. coli*, respectively. The analyzes showed the presence of *Salmonella* spp in three samples from open-air markets and two samples from supermarkets. Aerobic mesophilic and psychrotrophic microorganisms were the groups with the highest occurrence. The quantification of total coliforms showed average values ranging from 3,215 log CFU/g to 5,605 log CFU/g, and *E. coli* was identified in 75% of the samples with values higher than the parameters established in legislation, indicating the occurrence of contamination by material fecal origin. The *stx* gene was identified in two of the samples sold at street markets. The *stf* gene was not identified in any of the samples analyzed. Given the results found, it is possible to conclude that the raw beef samples sold in the municipalities studied have unsatisfactory microbiological quality and could serve as a vehicle for the transmission of pathogenic microorganisms to humans.

Keywords: public health, microbiological contamination, quality

LISTA DE FIGURAS

Página

Figura 1 – Fotografia do gel de agarose a 2% da PCR para o gene <i>stx</i> encontrados nas amostras da <i>E. coli</i> isoladas da carne bovina	40
--	----

LISTA DE TABELAS

Página

Tabela 1 – Sequência do <i>primer</i> , tamanho do fragmento amplificado e condições usadas na PCR para detecção do gene associado à virulência	36
Tabela 2 – Média dos resultados das análises microbiológicas da carne bovina crua comercializada em supermercados e feiras livres do Recôncavo da Bahia, expressos em log UFC/g	37

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Aa – Atividade em água

APPCC – Análise de Perigo e Pontos Críticos de Controle

BHI – Brain Hear Infusion

BPM – Boas Práticas de Manipulação

DAEC – *Escherichia coli* difusamente aderente

DNA – Ácido Desoxirribonucleico

dNTP – *Deoxyribonucleotide triphosphates* (nucleotídeos trifosfatados)

DTAs – Doenças Transmitidas por Alimentos

E. coli – *Escherichia coli*

EAEC – *Escherichia coli* enteroagregativa

EHEC – *Escherichia coli* enterohemorrágica

EIEC – *Escherichia coli* enteroinvasora

EPEC – *Escherichia coli* enteropatogênica

ETEC – *Escherichia coli* enterotoxigênica

HC – Colite Hemorrágica

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

INMET – Instituto Nacional de Meteorologia

LT – Toxina termolábil

MgCl₂ – Cloreto de magnésio

mL – mililitro

OMS – Organização Mundial da Saúde

Pb – Pares de base

PCA – Ágar Padrão Para Contagem

PCR – Reação em Cadeia da Polimerase

PIB – Produto Interno Bruto

POPs – Procedimentos Operacionais Padronizados

rpm – Rotações por Minuto

RVS – Rappaport Vassiliadis

SHU – Síndrome Hemolítica Urêmica

ST – Toxina Estável ao Calor

STX – Toxina Shiga

USDA – Departamento de Agricultura dos Estados Unidos

UFC – Unidade Formadora de Colônias

LISTA DE SÍMBOLOS

β – beta

> – maior que

$^{\circ}\text{C}$ – graus Celsius

% – porcentagem

μL – microlitro

SUMÁRIO

	Página
1 INTRODUÇÃO	15
2 OBJETIVOS	17
2.1 OBJETIVO GERAL	17
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	17
3 REVISÃO DE LITERATURA	18
3.1 PRODUÇÃO DA CARNE BOVINA	18
3.2 A CARNE BOVINA	19
3.3 DOENÇAS TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS	20
3.4 INFECTANTES MICROBIOLÓGICOS DA CARNE	21
3.4.1 Microrganismos aeróbios mesófilos e psicrotróficos	21
3.4.2 Coliformes totais e termotolerantes	22
3.4.3 <i>Salmonella</i> spp	24
3.5 REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE (PCR)	25
REFERÊNCIAS	26
ARTIGO 1	31

1 INTRODUÇÃO

A pecuária de corte faz parte do cenário econômico nacional desde a época colonial, quando ainda no século XVII, a carne bovina já era considerada um produto de excepcional importância para a economia brasileira (LIZ, 2022).

Além disso, o setor passou por forte modernização nos últimos quarenta anos, responsável por revolucionar a forma como a carne é produzida. Essa modernização tem sido sustentada principalmente por avanços na tecnologia dos sistemas de produção, impactando positivamente na qualidade final do produto (RODRIGUES; COSTA; 2021).

Além de excelente fonte proteica e de alto valor biológico, a carne apresenta rica composição associada a vitaminas, minerais e ácidos graxos considerados essenciais para a regulação dos processos fisiológicos no organismo humano (FERREIRA, 2018). Entretanto, em sua composição físico-química, a carne possui elevada umidade e pH próximo a neutralidade, proporcionando assim um excelente meio de cultura para o desenvolvimento e multiplicação dos microrganismos deteriorantes e patogênicos, sobretudo quando exposta a condições higiênico-sanitárias inadequadas durante e após o processo de abate, até a sua chegada no ponto de comercialização (OLIVEIRA et al., 2016; VIEIRA et al., 2018).

As doenças Transmitidas por Alimentos, popularmente conhecidas como DTAs, são originadas a partir da ingestão de água e/ou alimentos contaminados, podendo ser classificadas de acordo com os microrganismos causadores como infecção, toxinfecção ou intoxicação, com quadro clínico variando de leve a crítico, dependendo do agente etiológico envolvido (NUNES et al., 2017; SANTOS et al., 2017).

Outro fator que tem contribuído para o agravamento na qualidade dos produtos de origem animal é a sua comercialização em feiras livres e estabelecimentos informais. Presente em quase todas as cidades brasileiras e com forte vínculo à região nordeste do Brasil, as feiras livres movimentam grande fluxo de pessoas e

mercadorias, capazes de atrair considerável público consumidor (MELO; SANTOS; AQUINO; 2018).

No entanto, nas feiras livres elevam-se os riscos da contaminação dos alimentos de origem animal, tendo em vista as condições muitas vezes precárias dos estabelecimentos, além da presença de vetores e pragas urbanas as quais os produtos são constantemente expostos. Bem como, a comercialização de produtos em sua grande maioria, sem procedência e fiscalização sanitária (MELO; SANTOS; AQUINO; 2018).

Sendo assim, quando contaminada, a carne torna-se importante veiculadora de agentes patogênicos aos seres humanos, sendo considerada um importante problema de saúde pública a nível mundial (FERREIRA, 2018).

Nessa perspectiva, o trabalho foi dividido em duas partes, inicialmente com o referencial teórico e em seguida a caracterização microbiológica da carne bovina crua comercializada em supermercados e feiras livres na região do Recôncavo da Bahia, bem como a caracterização genotípica dos isolados de *Escherichia coli*.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Realizar diagnóstico quanto a qualidade microbiológica da carne bovina, comercializada em supermercados e feiras livres na região do Recôncavo da Bahia.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Verificar a carga microbiológica, através da quantificação dos microrganismos aeróbios mesófilos, psicrotróficos, coliformes totais, *Escherichia coli* e presença da *Salmonella* spp.
- Verificar a ocorrência da *Escherichia coli* enterohemorrágica (EHEC) e *Escherichia coli* enterotoxigênica (ETEC), através da Reação em Cadeia da Polimerase (*Polimerase Chain Reaction – PCR*).

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 PRODUÇÃO DA CARNE BOVINA

No que diz respeito ao rebanho comercial dos bovinos de corte a nível mundial, o Brasil ocupa posição de destaque com um número estimado de 194,4 milhões de cabeças, de acordo com o mais recente relatório do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA, 2024). Seguido da China (101,5 milhões), Estados Unidos (89 milhões), União Europeia (74,6 milhões) e Argentina (52,8 milhões).

No Brasil, foram abatidas cerca de 8,36 milhões de cabeças bovinas no segundo trimestre de 2023, equivalente a um aumento de 12,6% em relação ao segundo trimestre de 2022. A região Centro-Oeste apresenta a maior proporção do abate de bovinos no período, cerca de 37,7% do total, seguida pelas regiões Norte (22,6%), Sudeste (21,7%), Sul (9,9%) e Nordeste (8,1%) (IBGE, 2023).

Quanto a exportação da carne bovina, o Brasil totalizou cerca de 471,28 mil toneladas, representando 28,2% da produção total no período. Sendo o maior volume registrado desde 1997 (IBGE, 2023).

A China permanece como sendo o principal destino das exportações da carne bovina brasileira, absorvendo 60,9% do total. Foram exportadas 286, 88 mil toneladas para o país, uma redução de 3,0% em relação ao mesmo período de 2022. O Chile ocupou a segunda posição, com um aumento de 50,0% nas importações em comparação anual. Os Estados Unidos, apesar de um aumento de 67,5% nas importações, caíram para a terceira posição. O Egito ocupa a quarta posição, com uma redução de 30,5% nas importações em relação ao mesmo trimestre de 2022 (IBGE, 2023).

O Mato Grosso lidera as exportações da carne bovina entre os estados brasileiros, enviando 110,73 mil toneladas ao exterior. Os principais destinos são a China (54,9%), Egito (6,3%) e Chile (5,6%). São Paulo e Goiás seguiram ocupando a segunda e terceira posição, exportando, respectivamente 90,62 mil toneladas (-14,4%) e 74,45 mil toneladas (+54,7%) da carne (IBGE, 2023).

A importância econômica do setor é evidente, com a bovinocultura de corte representando uma fatia significativa do Produto Interno Bruto (PIB) do agronegócio brasileiro, atingindo USD 198,12 bilhões em 2022. Nos últimos 10 anos o faturamento total cresceu cerca de 187%, e apenas no último ano, registrou-se um aumento de 12%. O PIB do sistema agroindustrial da carne bovina representou 41,6% do PIB total do agronegócio em 2022, que foi de R\$ 2,5 trilhões (ABIEC, 2023).

Além disso, a capacidade competitiva do setor está fortemente ligada às oportunidades de expansão do mercado da carne bovina e atualmente pode-se dizer que a pecuária é considerada um dos segmentos que mais se estrutura e sofre expansão no mercado (LIZ, 2022).

3.2 A CARNE BOVINA

Amplamente reconhecida por possuir elevado valor nutricional, a carne bovina é considerada uma das principais fontes de proteínas, com aminoácidos necessários e essenciais para os seres humanos (MATAIX, 2013). Além disso, destaca-se também por corresponder a uma excelente fonte de vitaminas do complexo B, especialmente a B12. Dos minerais essenciais aos seres humanos, o ferro é o mais abundante presente na carne, seguido pelo potássio, sódio, magnésio e zinco (SILVA, 2015).

A insuficiência do ferro é considerada a deficiência nutricional mais difundida no mundo e tem a anemia como principal sintoma. De acordo com o fundo das Nações Unidas para a Infância, aproximadamente 45% das crianças menores de 5 anos são nutricionalmente deficientes em ferro. Desta forma, a participação da carne bovina no atendimento dessas necessidades nutricionais, é bastante significativa (DENIC; AGARWAL; 2007).

Entretanto, suas características físico-químicas, como o pH próximo a neutralidade, elevada atividade em água e rica composição nutricional, constituem um meio altamente favorável ao crescimento e multiplicação dos microrganismos (AMORIM; BOTELHO; FIUZA; 2019).

3.3 DOENÇAS TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS (DTAs)

Essencial para a proteção e promoção da saúde, o acesso ao alimento seguro e de qualidade está intimamente relacionada a qualidade de vida da população. No entanto, os alimentos podem sofrer contaminação em diferentes etapas do seu processamento e manipulação, ocasionando o desenvolvimento das doenças de origem alimentar. Essas síndromes decorrentes da ingestão de alimentos contaminados são conhecidas como Doenças Transmitidas por Alimentos (DTAs) (MELO; SANTOS; AQUINO; 2018).

É definido como um surto de DTA, a ocorrência de dois ou mais casos com a presença dos sinais clínicos após a ingestão da água ou alimento, contaminados. Sendo, os casos de contaminação envolvendo agentes biológicos e/ou suas toxinas, a maior causa das ocorrências (PENHA, 2017).

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), as doenças transmitidas por alimentos constituem um crescente problema a nível mundial, abrangendo enfermidades do mais amplo espectro (OPAS/OMS, 2019).

Atualmente, são descritos mais de 250 tipos de doenças transmitidas por alimentos, sendo consideradas uma das principais causas de morbidade e mortalidade em todo o mundo. Todos os anos, cerca de uma em cada 10 pessoas adoecem (aproximadamente 600 milhões de pessoas) e 420 mil morrem após ingerir alimentos contaminados (AMARAL, 2021; OPAS/OMS, 2019).

De acordo com Marques e Trindade (2022), entre os anos de 2000 e 2021, um total de 14.590 surtos foram relatados no Brasil, incluindo 266.247 casos confirmados e 212 mortes, com maior número de casos e óbitos concentrados na região sudeste. Sendo, a *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella* spp, os patógenos de maior prevalência.

As DTAs podem se manifestar de 3 diferentes formas: infecção, intoxicação e toxinfecção alimentar. As infecções se dão através da presença dos microrganismos patogênicos vivos no alimento ingerido, os quais irão se multiplicar no intestino. A intoxicação alimentar ocorre pela ingestão das toxinas produzidas pelos microrganismos, e a toxinfecção ocorre quando o alimento apresenta contaminação

por microrganismos que possuem a capacidade de produzir ou liberar toxinas após a ingestão (OPAS, 2001).

Diarreia, vômito, febre e dores abdominais são os sintomas clínicos mais comuns, podendo perdurar por horas ou dias, dependendo da condição física, imunológica e idade do indivíduo, do agente etiológico envolvido e da carga microbiana presente no alimento contaminado ingerido (MELO, 2018; OLIVEIRA, 2021).

Além disso, fatores como o crescimento populacional desordenado, vulnerabilidade social e a produção de alimentos em larga escala, somados as mudanças importantes de hábito da população, como o aumento na procura por alimentos destinados ao pronto consumo e o seu consumo em vias públicas, destacando-se o consumo dos alimentos crus ou levemente cozidos, contribuem para o aumento na incidência dos casos (DRAEGER, 2018; PENHA, 2017). Associado a isso estão os procedimentos inadequados de manipulação nas diversas etapas de preparo dos alimentos, desde a aquisição da matéria-prima até o tempo e a temperatura em que o alimento é exposto, bem como o seu consumo (MOREIRA, 2022). Sendo assim, a contaminação envolvendo os agentes patogênicos, representa um importante desafio para a indústria de alimentos (DOMINGUES et al., 2023).

A implantação dos programas de autocontrole que supervisionam e gerencia o controle da qualidade dos alimentos, como as Análises de Perigo e Pontos Críticos de Controle (APPCC), Procedimentos Operacionais Padronizados (POPs) e Boas Práticas de Manipulação (BPM) dos alimentos, são fundamentais para a redução dos riscos de contaminação.

3.4 INFECTANTES MICROBIOLÓGICOS DA CARNE

3.4.1 Microrganismos aeróbios mesófilos e psicotróficos

Os aeróbios mesófilos constituem o grupo dos microrganismos capazes de se multiplicar em temperaturas entre 10°C e 45°C, com temperatura ideal em torno dos 36°C (FRAZIER; WESTHOFF; 2000). Sendo assim, os países de clima tropical, como descrito em algumas regiões do Brasil, oferecem condições favoráveis ao

desenvolvimento desses microrganismos em temperatura ambiente (FRANCO; LANDGRAF; 1996).

São considerados um importante indicador geral da população bacteriana nos alimentos. Sendo assim, quando identificados através da sua contagem, fornecem informações quanto a qualidade higiênico-sanitária do produto (SILVA et al., 2017). O elevado grau de contaminação por esses agentes, está então, relacionado as condições inadequadas nos locais de abate, processamento, armazenamento e comercialização da carne. Bem como, à higiene pessoal dos manipuladores (JUNIOR et al., 2023).

Todos os agentes patogênicos de origem alimentar são considerados microrganismos mesófilos e a sua presença em elevada contagem, sugere a ocorrência de microrganismos patogênicos de grande importância, como a *Salmonella* spp e *Escherichia coli*, frequentemente envolvidos na contaminação dos produtos cárneos e embutidos (DOMINGUES et al., 2023).

Os psicotróficos correspondem ao grupo dos microrganismos capazes de se desenvolver em temperaturas inferiores aos 7°C, sendo um importante agente para os alimentos conservados sob refrigeração, no entanto, possuem capacidade de sobrevivência e atividade independente da sua temperatura ótima de crescimento (REIS, 2019). Os psicotróficos estão relacionados à qualidade sensorial do produto, principalmente por sua capacidade de produzir enzimas proteolíticas responsáveis por acelerar o processo de decomposição com alteração das características organolépticas do produto (CIPRIANO et al., 2021).

Fazem parte do grupo dos microrganismos psicotróficos associadas à deterioração da carne, bactérias Gram-negativas psicotróficas e Gram-positivas produtoras de ácido láctico. Os mais comumente encontrados na carne contaminada são os gêneros *Pseudomonas* spp e *Listeria monocytogenes*. A maioria são inativadas pelos processos térmicos de cozimento (CERVENY; MEYER; HALL; 2009).

3.4.2 Coliformes totais e termotolerantes

Os coliformes totais são bacilos Gram-negativos, pertencentes a família *Enterobacteriaceae*, capazes de fermentar a lactose com a produção de gás quando

incubados à 35°C por um período de 24 a 48 horas. Esse grupo é composto predominantemente por bactérias dos gêneros *Escherichia*, *Enterobacter*, *Klebsiella* e *Citrobacter* (ALVES; ATAIDE; SILVA; 2018). Dentre essas, estão presentes as bactérias de origem entéricas que habitam naturalmente o trato gastrointestinal dos seres humanos e animais homeotérmicos, como também as bactérias de origem não entérica (FRANCO; LANDGRAF, 2008; FORSYTHE, 2013; JAY, 2005).

Os coliformes termotolerantes são bacilos Gram-negativos pertencentes à família *Enterobacteriaceae*, que correspondem ao grupo dos coliformes totais capazes de fermentar a lactose com produção de gás a 44°C e 45°C em 24 horas. Sendo a *Escherichia coli*, o gênero que possui o trato gastrointestinal dos seres humanos e animais homeotérmicos como habitat natural. Colonizando o trato gastrointestinal ainda nas primeiras horas de vida, torna-se um hospedeiro mutualista. Sendo assim, a sua presença nos alimentos indica a ocorrência da contaminação de origem fecal humana e/ou animal (SANCHEZ, 2019; UMPIÉRREZ et al., 2021).

Além disso, cepas patogênicas dessa espécie estão comumente envolvidas em casos de gastroenterites via ingestão de alimentos e água contaminada, cuja gravidade varia de acordo ao estado imune do indivíduo acometido e ao grupo bacteriano envolvido (ROSSI; BONSAGLIA; RALL, 2015; SANTIAGO et al., 2013).

As cepas da *E. coli* são reconhecidas em seis categorias patogênicas pertencentes ao grupo das *E. coli* diarreiogênicas, classificadas de acordo com as suas manifestações e mecanismos de virulência em: *E. coli* enterohemorrágica (EHEC), *E. coli* enteropatogênica (EPEC), *E. coli* enterotoxigênica (ETEC), *E. coli* enteroinvasora (EIEC), *E. coli* enteroagregativa (EAEC) e *E. coli* difusamente aderente (DAEC) (SANTIAGO et al., 2013)

Dentre essas, a *Escherichia coli* enterohemorrágica (EHEC) compreende o principal grupo relacionado a quadros de gastroenterite de maior gravidade. Isso se dá, pelo fato dessas bactérias serem grandes produtoras de potentes citotoxinas, a Shiga (*stx*) (MITTELSTAEDT; CARVALHO; 2006).

O sorotipo O157:H7 pertencente ao grupo das *E. coli* enterohemorrágicas é considerado um importante patógeno causador de doenças nos seres humanos. O sorotipo é classificado entre os cinco patógenos que mais resultam em

hospitalização dos pacientes acometidos, isto porque, as toxinas Shiga são associadas a quadros de colite hemorrágica (HC) ao causar apoptose das células endoteliais do intestino. Além disso, a síndrome hemolítica urêmica (SHU), consiste em uma grave complicação, que causa transtornos renais e danos significativos à saúde dos pacientes acometidos (BALAKRISHNAN et al., 2016; ZHANG et al., 2017).

A *E. coli* enterotoxigênica (ETEC), também conhecida como *E. coli* produtora de enterotoxinas, possuem a toxina termolábil (LT) e a toxina estável ao calor (ST) como principal fator de virulência, que agem diretamente sobre as células intestinais, desencadeando quadros clínicos de diarreia aguda, geralmente não sanguinolenta. As cepas de ETEC acometem principalmente as crianças em seus primeiros meses de vida (COSTA, 2022; FOSTER; SMITH; 2009).

3.4.3 *Salmonella* spp.

A *Salmonella* são bacilos Gram-negativos, pertencentes a família *Enterobacteriaceae*. São anaeróbios facultativos que produzem gás e ácido a partir da fermentação da glicose. Possui temperatura ideal para o seu crescimento em torno dos 35-37°C e se desenvolvem bem em pH neutro, sendo os valores superiores a 9,0 e inferiores a 4,0 considerados bactericidas para esse microrganismo (MOSSEL; MORENO; STRUIJK, 2006; SILVA, 2015).

O gênero é composto por duas espécies, descritas como as principais causadoras de salmoneloses e enterocolites nos seres humanos: *Salmonella enterica* e *Salmonella bongori*. Sendo a espécie *S. enterica* de maior prevalência, dividida em seis subespécies, que incluem mais de 2.650 sorotipos (CHATTAWAY; LANGRIDGE; JOHNWAIN; 2021). A maior parte dos sorotipos descritos são considerados potenciais causadores de infecção alimentar, responsáveis por causar diferentes sintomatologias. Sendo assim, a presença desse grupo de microrganismos nas carnes, as torna imprópria ao consumo (FDA, 2015; JUNIOR et al., 2023).

A *Salmonella* é amplamente encontrada na natureza, sendo o trato gastrointestinal dos seres humanos e animais, o seu principal reservatório. Predominantemente em animais de produção. Sendo assim, a contaminação da carne por esse agente se dá

por material de origem fecal e conteúdo intestinal, resultando na propagação das infecções (JUNIOR et al., 2023; SILVA; SANTOS; TEOTONIO; 2023).

3.5 REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE (PCR)

A Reação em Cadeia da Polimerase (*Polymerase Chain Reaction* – PCR) consiste em uma técnica rápida, específica e altamente sensível que permite a identificação dos genes envolvidos com a patogenicidade de diversos isolados bacterianos através da amplificação de um fragmento específico do DNA, fornecendo maior precisão e agilidade quanto às análises microbiológicas (SOUZA, 2022).

Considerando o importante avanço sobre as técnicas moleculares, a PCR vem sendo utilizada como importante ferramenta para a identificação de microrganismos patogênicos presentes nos alimentos, assim como, a identificação de cepas patogênicas da *Escherichia coli*. Sendo assim, cruciais para a segurança dos alimentos, bem como para a avaliação dos riscos à saúde pública (SARAVANAN; KUMAR; HEMAVATHY; 2021).

REFERÊNCIAS

- ABIEC - Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne. **Beef REPORT: perfil da pecuária no Brasil 2023**. Disponível em: <https://www.abiec.com.br/catpub/impessos/>. Acesso em: 21 abr. 2024.
- ALVES, S. G. S.; ATAIDE C. D. G., SILVA J. X. Microbiológica de coliformes totais e termotolerantes em água de bebedouros de um parque público de Brasília, Distrito Federal. **Rev. Cient. Sena Aires**, v. 7, 12-7, 2018.
- AMARAL, S. M. B. Panorama dos surtos de doenças transmitidas por alimentos no Brasil no período de 2009 a 2019. RECIMA21. **Revista Científica Multidisciplinar**, v. 2, n. 11, p. e211935, 2021.
- AMORIM, J. R. B.; BOTELHO, L. F. R.; FIUZA, A. P. P. Perfil sanitário e microbiológico da carne moída comercializada em hipermercados. **Revista Comeia**, v. 1, n. 1, 2019.
- BALAKRISHNAN, B.; BARIZUDDIN, S.; WULIJI, T.; EL-DWEIK, M. A rapid highly specific immunofluorescence method to detect *Escherichia coli* O157:H7 in infected meat samples. **International Journal of Food Microbiology**, v. 231, p. 54-62, 2016.
- CERVENY, J.; MEYER, J. D.; HALL, P. A. Microbiological Spoilage of Meat and Poultry Products. In: SPERBER, W. H.; DOYLE, M. P. (Eds.). **Compendium of the Microbiological Spoilage of Foods and Beverages**. New York, NY: Springer New York, 2009. p. 69–86.
- CHATTAWAY, M. A., LANGRIDGE, G. C.; JOHNWAIN, J. Salmonella nomenclature in the genomic era: a time for change. **Scientific reports**, 11:7494, 2021
- CIPRIANO, L. C.; SOUZA, L. B.; SIQUEIRA, H. P. G.; LIMA, E. F.; MESSIAS, C. T.; MARCHI, P. G. F.; MEDEIROS, E. S.; HOPPE, I. B. A. L.; SIQUEIRA, A. B. Shelf life of ground meat marketed in the Municipality of Boa Vista, Roraima. **Research, Society and Development**, v. 1, n. 2, 2021.
- COSTA, L. R. M. **Influência dos sistemas de produção animal na presença de cepas patogênicas de *Escherichia coli* na cadeia produtiva da carne bovina**. 2022, 82f. Dissertação (Mestrado) em medicina veterinária, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - Botucatu, 2022.
- DAMACENA, S. S. **Qualidade microbiológica, veiculação de bactérias resistentes e caracterização genotípica do pescado comercializado em feiras livres em municípios do Recôncavo da Bahia**. 2019, 70f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) - Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, Bahia, 2019.
- DENIC, S.; AGARWAL, M. M. Nutritional iron deficiency: an evolutionary perspective. **Nutrition** (Burbank, Los Angeles County, Calif.), v. 23, n. 7-8, p. 603–14. 2007.
- DOMINGUES, R. Q.; BRANDÃO, M. R. S.; COUTO, L. A.; SÁ, K. R.; RAMOS, G. A.;

OLIVEIRA, E. D. H. Microbiological analysis of the quality of sliced mortadelas sold in supermarkets in the municipality of Guanambi/ Bahia. **Brazilian Journal of Development**, v. 9, n. 4, 2023.

DRAEGER, C. L. Brazilian Foodborne Disease National Survey: Evaluating the Landscape after 11 Years of Implementation to Advance Research, Policy, and Practice in Public Health. **Nutrients**, v.11, n.1, p.40, 2018

FDA - FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Food borne pathogenic microorganisms and natural toxins handbook: Salmonella spp.** 2015.

FERREIRA, I. S. **Condições higiênico-sanitárias na comercialização de carne bovina em mercados públicos nas cidades de Limoeiro e Vitória de Santo Antão- PE.** 58f. Monografia (Graduação), Universidade Federal de Pernambuco, CAV, 2018.

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da segurança dos alimentos.** 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 602 p.

FOSTER, D. M.; SMITH, G. W. **Pathophysiology of diarrhea in calves. Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice.**, v. 25, n. 1, p.13-36, 2009

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

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos.** São Paulo: Atheneu, 2008. 182 p.

FRAZIER, W. C.; WESTHOFF, D. C. **Microbiología de los alimentos.** 4. ed. Zaragoza: Editorial Acribia, 2000. 681 p.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Indicadores IBGE. Estatística da Produção Pecuária** (abr.-jun. 2023). 202223. Disponível em: https://ftp.ibge.gov.br/Producao_Pecuaria/Fasciculo_Indicadores_IBGE/abate-leite-couro-ovos_202302caderno.pdf Acesso em: 21 abr. 2024.

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

JUNIOR, N. K.; VINTUAR, P. A.; SERROTE, C. M. L.; MUSSALAMA, A. Z. Análise Microbiológica da carne comercializada nos açougues da cidade de Nampula, Moçambique. **Revista Baiana de Saúde Pública**, v. 47, n 1, p. 78-90, 2023.

LIZ, N. **Mercado e estratégias de comercialização da carne bovina: uma pesquisa de caso.** 2022. 45f. Monografia (Graduação em Zootecnia). Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2022.

MARQUES, P. R. C.; TRINDADE, R. V. R. Panorama epidemiológico dos surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos entre 2000 e 2021 no Brasil. **Revista Multidisciplinar em Saúde**, v. 3, n. 3. 2022.

MATAIX, V. J. **Nutrición para educadores.** Madrid: Díaz de Santos, S.A. 2013.

MELO, E. S. Doenças transmitidas por alimentos e principais agentes bacterianos envolvidos em surtos no Brasil. **PUBVET**, v.12, n.10, p.1-9, 2018.

MELO, F. E. B.; SANTOS, R. I.; AQUINO, R. C. A. Condições higiênico-sanitárias para comercialização de carnes em mercados públicos de Recife-PE. **Journal Of Health Connections**, v. 3, n. 2, p. 1-13, 2018.

MITTELSTAEDT, S.; CARVALHO, V. M. Escherichia coli enterohemorrágica (EHEC) O157:H7 – revisão. Revista do Instituto de Ciências da Saúde, v. 24, n. 3, p. 175-182, 2006.

MOREIRA, F. O. Doenças transmitidas por alimentos: uma revisão bibliográfica. **Revista Científica Semana Acadêmica**. Fortaleza- CE. Edição 226, v.10. 2022.

MOSSEL, D. A. A.; MORENO, B.; STRUIJK, C. B. **Microbiologia de los alimentos**. Zaragoza, Espanha: Acribia S.A, 2006. 703 p.

NUNES, G. Q.; ADAMI, F. S.; FASSINA, P. Avaliação das boas práticas em serviço de alimentação de escolas de ensino fundamental do Rio Grande do Sul. **Segurança Alimentar e Nutricional**, v. 24, n. 1, p. 26-32, 2017.

OLIVEIRA, J.; ALMEIDA, E. C.; GUEDES, W. A. Qualidade da carcaça bovina comercializada no município de Assunção, Paraíba. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 11, n. 4, p. 105-109, 2016.

OLIVEIRA, F. S. Epidemiological Analysis of the Bacterial Profile Involved in Foodborne Diseases (DTA) in the Northeast Region of Brazil for the Year 2019. **Research, Society and Development**, v.10, n.11, p.e428101119855, 2021.

OPAS. Organização Pan-Americana da Saúde/Organização Mundial da Saúde (OPAS/OMS). **Guía veta: guía para el establecimiento de sistemas de vigilancia epidemiológica de enfermedades transmitidas por alimentos y la investigación de brotes de toxi-infecciones alimentarias**. Buenos Aires: OPAS, 2001.

OPAS. Organização Pan-Americana da Saúde/Organização Mundial da Saúde (OPAS/OMS). **Segurança dos alimentos é responsabilidade de todos**, Brasil, 6 jun. 2019.

PENHA, J. C. Q. **Avaliação da qualidade microbiológica, físico-química e parasitológica da carne bovina salgada comercializada em estabelecimentos e feiras livres na zona norte do município do Rio de Janeiro**. 2017, 114f. Dissertação (Mestrado em Vigilância Sanitária) - Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Rio de Janeiro, 2017.

REIS, R. M. **Qualidade de carne bovina moída in natura comercializada em Manaus, AM**. 2019, 60f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2019.

RODRIGUES, L. M. S.; COSTA, M. A. A. Competitividade das exportações de carne bovina do Brasil: uma análise das vantagens comparativas. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, v. 59, n. 1, p. 1-14, 2021.

ROSSI, B.F.; BONSAGLIA, E. C. R.; RALL, V. L. M. **Qualidade microbiológica de miúdos e carnes salgadas comercializadas em Botucatu – SP**. Higiene Alimentar, v. 29, p. 248-249, 2015.

SANCHEZ, A. Caracterización molecular de factores de virulencia y genotipos de *Escherichia coli* aislada en langostino (*Litopenaeus vannamei*) y camarones de río (*Cryptops caementarius*) en terminales pesqueros de Lima metropolitana. Universidad Peruana Cayetano Heredia]. **In Journal of Chemical Information and Modeling**, Vol. 53, 2019.

SANTIAGO, J. A. S.; ARAÚJO, P. F. R.; SANTIAGO, A. P.; CARVALHO, F. C. T.; VIEIRA, R. H. S. F. Bactérias patogênicas relacionadas à ingestão de pescados - revisão. **Arquivos de Ciências do Mar**, v. 46, p. 92-103, 2013.

SARAVANAN, A.; KUMAR, P. S.; HEMAVATHY, R. V. Métodos de detecção de patógenos de origem alimentar: uma revisão. *Environ Chem Lett* v.19, p.189–207 2021.

SANTOS, J. M. R.; RIBEIRO, M. C.; RIBEIRO, G. C.; SOUZA, A. P. F.; NASCIMENTO, C. D.; LOPES, R. C. R. Estudo sobre a ocorrência de surtos alimentares em uma região do Vale do Jequitinhona, Minas Gerais, **Vigilância Sanitária em Debate: Sociedade, Ciência & Tecnologia**, v. 5, n. 3, p. 30-36, 2017.

SILVA, A. S. **Condições higienicossanitárias da carne bovina in natura comercializada na feira livre do município de Jiquiriçá e o uso de quitosana como antimicrobiano natural**, 2015, 106f. Dissertação (Mestrado) em Microbiologia Agrícola – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, Bahia, 2015.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; GOMES, R. A. R.; OKAZAKI, M. M. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 5. ed, São Paulo: Blucher, p. 560, 2017.

SILVA, T. M.; SANTOS, A. S.; TEOTONIO, E. P. S. **Alimentos comercializados em feiras livre contaminados por patógenos**, ACiS, São Paulo, v. 11, n. 2, p. 161-171, 2023

SOUZA, R. V. **Identificação polifásica e detecção simultânea por PCR Multiplex de patógenos presentes em Tambaqui (*Colossoma macropomum*) oriundo de diferentes sistemas de manejo**, 2022, 64f. Dissertação (Mestrado) em Ciência e Tecnologia de Alimentos – Universidade Federal do Tocantins, Palmas, 2022.

UMPIÉRREZ, A., ERNST, D., FERNÁNDEZ, M., OLIVER, M., CASAUX, M. L., CAFFARENA, R. D., SCHILD, C., GIANNITTI, F., FRAGA, M., & ZUNINO, P. Virulence genes of *Escherichia coli* in diarrheic and healthy calves. **Revista Argentina de Microbiología**, v. 53, n.1, p. 34–38, 2021

USDA. United States Department of Agriculture. **Livestock and Poultry: World Markets and Trade**. 2024. Disponível em: https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/livestock_poultry.pdf Acesso em: 21 abr. 2024.

VIEIRA, T. B.; GOMES, C. P.; FREITAS, F.; ALMEIDA, R.; JESUS, I. B.; SANTOS, L. B.; NASCIMENTO, J. L. F. Análise microbiológica de carne bovina in natura submetida a amaciadores. **Veterinária Notícias**, v. 23, n. 1, p. 102-117, 2018.

ZHANG, Y; CHENGHUI, Y.; YANG, H.; YU, J. Rapid and selective detection of *E. coli* O157:H7 combining phagomagnetic separation with enzymatic colorimetry. **Food Chemistry**, v. 234, p. 332- 338, 2017.

ARTIGO 1

A SER SUBMETIDO À REVISTA ARQUIVOS DE PESQUISA ANIMAL

Avaliação dos parâmetros microbiológicos e caracterização genotípica dos isolados de *Escherichia coli* provenientes da carne bovina comercializada na região do Recôncavo da Bahia

Evaluation of microbiological parameters and genotypic characterization of *Escherichia coli* isolates from beef marketed in the Recôncavo region of Bahia

Daniela Simões Velame¹, Ludmilla Santana Soares e Barros²

Resumo: Objetivou-se realizar o diagnóstico da qualidade higiênico-sanitária da carne bovina crua comercializada em supermercados e feiras livres do Recôncavo da Bahia. Foram avaliadas 24 amostras da carne bovina proveniente de seis municípios localizados na região, entre os meses de maio a julho de 2023. As amostras foram avaliadas quanto a presença dos microrganismos aeróbios mesófilos, psicrotróficos, coliformes totais, *Escherichia coli* e *Salmonella* spp. Os isolados de *E. coli* foram submetidos a caracterização genotípica, através da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) para verificação dos genes de virulência da *E. coli*, incluindo o gene para a *Shiga* toxina (*stx*), para identificação da *E. coli* enterohemorrágica (EHEC) e o gene para toxina ST-I (*stI*), para identificação da *E. coli* enterotoxigênica (ETEC). Os resultados apontam elevada contagem microbiológica com um total de 75% das amostras estando em desacordo para os parâmetros estabelecidos em legislação, para um ou mais microrganismos descritos.

¹ Médica Veterinária, Mestranda pelo Programa de Pós Graduação em Defesa Agropecuária da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, Bahia, Brasil. Autor para correspondência, e-mail: * dani-simoes@live.com

² Médica Veterinária, Professora Doutora da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, Bahia, Brasil.

Apenas 25% do total dos estabelecimentos verificados, correspondentes a supermercados, atenderam a legislação. O gene *stI* não foi identificado em nenhuma das amostras estudadas e o gene *stx* foi identificado em duas amostras comercializadas nas feiras livres dos municípios de Cachoeira e Santo Amaro. Conclui-se que parte das carnes bovinas comercializadas nos supermercados e feiras livres dos seis municípios apresentam qualidade microbiológica insatisfatória, podendo causar riscos à saúde dos consumidores.

Palavras-chave: saúde pública, caracterização genética, microbiologia.

Abstract: The objective was to diagnose the hygienic-sanitary quality of raw beef sold in supermarkets and open-air markets in Recôncavo da Bahia. 24 samples of beef were evaluated from six municipalities located in the region, between the months of May and July 2023. The samples were evaluated for the presence of mesophilic, psychrotrophic aerobic microorganisms, total coliforms, *Escherichia coli* and *Salmonella* spp. The *E. coli* isolates were subjected to genotypic characterization, using the Polymerase Chain Reaction (PCR) to verify the *E. coli* virulence genes, including the gene for Shiga toxin (*stx*), to identify *E. coli* enterohemorrhagic (EHEC) and the gene for ST-I toxin (*stI*), to identify enterotoxigenic *E. coli* (ETEC). The results indicate a high microbiological count, with a total of 75% of the samples not complying with the parameters established in legislation, for one or more described microorganisms. Only 25% of the total verified establishments, corresponding to supermarkets, complied with the legislation. The *stI* gene was not identified in any of the samples studied and the *stx* gene was identified in two samples sold in street markets in the municipalities of Cachoeira and Santo Amaro. It is concluded that part of the beef sold in supermarkets and open-air

markets in the six municipalities has unsatisfactory microbiological quality, potentially causing health risks to consumers.

Keywords: public health, genetic characterization, microbiology.

INTRODUÇÃO

Atualmente, o Brasil ocupa posição de destaque como sendo o segundo maior produtor e exportador da carne bovina (IBGE, 2023). Reflexo da grande estruturação sofrida no setor, responsável por elevar a produtividade e qualidade do produto. Além disso, o comércio da carne bovina em especial, se faz importante para a economia brasileira, bem como para a produção de alimentos (RODRIGUES & COSTA, 2021).

Considerada uma das proteínas de origem animal com maior valor biológico e altamente versátil, as carnes são ofertadas à venda em variados cortes e apresentações, que se fazem presentes na dieta de boa parte da população (MONTEIRO et al., 2018). Em condições normais, o tecido muscular dos animais são considerados livres de contaminação (CUNHA et al., 2022). Entretanto, suas características intrínsecas, como pH próximo a neutralidade, elevada atividade em água e rica composição nutricional, proporcionam um meio favorável ao crescimento e multiplicação dos microrganismos (AMORIM et al., 2019).

Além disso, a carne é constantemente exposta aos agentes contaminantes ao longo da cadeia produtiva, desde os processos de abate, esfolagem e evisceração até a sua chegada ao ponto de comercialização, onde geralmente são observadas não conformidades quanto ao seu armazenamento, manipulação e exposição à venda, muitas vezes realizada sem o devido acompanhamento e fiscalização pelos órgãos responsáveis, maximizando assim, os riscos para a ocorrência da contaminação, que quando presente em elevado grau, implicam em características distintas ao

desejado para a segurança e qualidade do produto (JUNIOR et al., 2020; ARAÚJO et al., 2021).

Desta forma, o controle quanto a presença e multiplicação dos microrganismos é considerado um importante parâmetro da qualidade para o ponto de vista sanitário e comercial da carne, pois o elevado grau de contaminação causam não somente a sua deterioração, como oferecem riscos à saúde do consumidor (MAIA & OLIVEIRA, 2023).

Sendo assim, estão frequentemente associadas às Doenças Transmitidas por Alimentos (DTAs), que representam um importante problema a nível de saúde pública, abrangendo enfermidades do mais amplo espectro. Sendo os microrganismos, o grupo de maior prevalência envolvido em surtos de DTAs, especialmente as bactérias patogênicas (VARGAS et al., 2021).

Diante do exposto, objetivou-se a avaliação da qualidade microbiológica e caracterização genotípica dos isolados de *Escherichia coli* provenientes da carne bovina crua, comercializada em supermercados e feiras livres na região do Recôncavo, interior da Bahia, a fim de contribuir e fornecer dados, visando a segurança e saúde dos consumidores nos municípios em estudo.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta, preparo das amostras e análises microbiológicas

O estudo foi desenvolvido em doze unidades comercializadoras da carne bovina, localizadas em seis municípios (Santo Antônio de Jesus, Cruz das Almas, Muritiba, São Félix, Cachoeira e Santo Amaro), situados na região do Recôncavo, estado da Bahia.

Foram realizadas duas coletas em cada município, sendo obtidas duas amostras de 200 g da carne bovina crua (acém) em cada coleta, perfazendo assim, um total

de 24 amostras, no período entre maio e julho de 2023.

De forma a preservar as suas características originais, as amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Microbiologia e Parasitologia Animal da Universidade Feral do Recôncavo da Bahia (UFRB), *campus* Cruz das Almas.

Para as análises microbiológicas, quanto a presença dos microrganismos aeróbios mesófilos, psicotróficos, coliformes totais e *Escherichia coli*, as amostras foram inicialmente preparadas de forma asséptica e submetidas ao processo de diluição seriada até alcançada a terceira diluição (10^{-3}), com o objetivo de se reduzir a carga de contaminação por unidade de volume, tornando possível a contagem das colônias em placas de Petri.

Em seguida, foram adicionadas alíquotas de 1mL (1000 μ L) de cada diluição em placas de Petri estéreis, e então evertido os meios de cultura específicos para cada microrganismo, por meio da técnica de plaqueamento em profundidade “*Pour Plate*”.

Para as análises dos coliformes totais e *E. coli*, foi utilizado o meio de cultura Chromocult[®] Coliformes Agar. Quanto aos microrganismos aeróbios mesófilos e psicotróficos, utilizou-se o meio Ágar Padrão para Contagem (PCA)

Após a inoculação das amostras, as placas foram incubadas invertidas em estufa a 37°C por 24 horas, para determinação dos coliformes totais e *E. coli*, e por 48 horas para determinação dos aeróbios mesófilos. Os psicotróficos, foram incubados em geladeira a 7°C por dez dias. Concluído o período de incubação, foram realizadas contagens das colônias através da técnica de contagem padrão em placas, para expressão dos resultados em Unidade Formadora de Colônia por grama da amostra (UFC/g). Por fim, os dados foram submetidos a análise estatística através do Sistema de Análise Estatística – SAS, e os resultados expressos em log UFC/g.

As colônias sugestivas de *E. coli* foram preservadas em microtubos tipo Eppendorf, contendo caldo Brain Heart Infusion (BHI) com glicerol a 20% e mantidas a -18°C para posterior extração do DNA e análise da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR).

A análise para pesquisa da *Salmonella* spp, foi realizada através do método enzimático cromogênico Compact Dry SL[®] (Nissui Pharmaceutical Co. Ltd., Tokyo, Japan), realizada conforme recomendações do fabricante. Após o período de incubação, os resultados foram expressos de forma qualitativa, quanto a presença ou ausência do agente.

Extração do DNA e PCR

Para a extração do DNA, as amostras foram inicialmente recuperadas em caldo BHI a 37°C por 24 horas em estufa microbiológica, e em seguida encaminhadas ao Laboratório de Genética – LIPAGE, da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), *campus* Santo Antônio de Jesus.

Os microtubos tipo Eppendorf contendo 1 mL da suspensão da cultura bacteriana foram centrifugados a 13.200 rpm durante 5 min. O sobrenadante foi descartado, e então foram adicionados 800 µL de água miliQ estéril. Após homogeneizadas, as amostras foram novamente submetidas ao processo de centrifugação, nas mesmas condições descritas anteriormente. Por fim, descartou-se o sobrenadante e foram adicionados 80 µL da água miliQ estéril. Em seguida, as amostras foram submetidas a temperatura de 96°C por 10 min em banho maria. O sobrenadante foi novamente descartado, e as amostras mantidas a -20°C até o momento da análise.

O DNA extraído foi submetido à PCR para identificação dos genes de virulência *stI* e *stX*, sendo utilizados os seguintes reagentes e volumes: 2,5 µL de PCR buffer;

0,5µL de dNTP mix; 0,75 µL de MgCl₂; 0,2 µL de Taq DNA polimerase; 1,0 µL de *primer* 1 e 2; 3,0 µL do DNA molde, com o volume final ajustado para 25 µL com água miliQ estéril.

As reações de amplificação foram realizadas em termociclador Amplitherm® TX96 Plus, conforme condições, sequência de *primers* e tamanho do fragmento (pb) descritos na Tabela 1.

Tabela 1. Sequência do primer, tamanho do fragmento amplificado e condições usadas na PCR para detecção do gene associado à virulência.

Gene/ sorotipo	Sequência do primer 5'-3'	(pb)	Condições da PCR
			5min 94°C/ 35 ciclos
<i>stx</i> / EHEC	TTT ACG ATA GAC TTC TCG AC CAC ATA TAA ATT ATT TCG CTC	227	de 1 min 94°C, 3 min 48°C e 4 min 72°C/10 min 72°C
<i>stI</i> / ETEC	TTA ATA GCA CCC GGT ACA AGC AGG CTT GAC TCT TCA AAA GAG AAA ATT AC	147	5 min 94°C/30 ciclos de 1 min 94°C, 1 min 55°C e 1 min 72°C/10 min 72°C

Os produtos da amplificação juntamente com o SYBR Green Life Technologies® foram submetidos à eletroforese em gel de agarose a 2% em sistema horizontal, com o controle negativo de ambos os genes pesquisados. A corrida foi realizada com fonte digital GSR® 200STD, em 1 hora, a 100 Volts e 40 mA. Em seguida, os produtos foram observados em fotodocumentador ultravioleta Loccus L-PIX.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores médios da contagem padrão em placas para os microrganismos aeróbios mesófilos, psicotróficos, coliformes totais e *Escherichia coli*, bem como a presença ou ausência da *Salmonella*, são demonstrados na tabela 2.

Segundo a Instrução Normativa - Nº 161, de 1º de julho de 2022 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), que estabelece os parâmetros microbiológicos para a carne bovina crua, determina o padrão máximo de 10^6 UFC/g (6 log UFC/g) para a presença dos microrganismos aeróbios mesófilos, 10^2 UFC/g (2 log UFC/g) para a *Escherichia coli* e a ausência da *Salmonella* em 25 g da amostra. A legislação não estabelece parâmetros para os microrganismos psicotróficos e coliformes totais, contudo, a contagem desses microrganismos é considerada importante, pois são indicadores das condições higiênico-sanitárias nos alimentos.

Tabela 2. Média dos resultados das análises microbiológicas da carne bovina crua comercializada em supermercados e feiras livres do Recôncavo da Bahia, expressos em log UFC/g.

Amostras	Mesófilos	Psicotróficos	Coliformes	<i>Escherichia</i>	<i>Salmonella</i>	
			totais	<i>coli</i>	spp	
SAJ	ESTAB1	5,173	6,032	5,235	3,835	Ausência
	ESTAB2	4,471	4,425	4,315	1,585	Ausência
CDA	ESTAB1	6,855	5,595	5,415	3,555	Ausência
	ESTAB2	7,689	6,434	3,274	3,033	Presença
MUR	ESTAB1	6,665	6,922	5,405	3,054	Ausência
	ESTAB2	4,655	4,618	4,233	1,860	Ausência
	ESTAB1	7,395	4,035	4,265	3,235	Presença

SAF	ESTAB2	8,845	5,845	5,455	3,870	Presença
	ESTAB1	7,911	6,185	5,605	3,250	Presença
CAH	ESTAB2	7,595	6,275	5,325	4,933	Presença
	ESTAB1	6,760	4,447	4,465	3,955	Ausência
SAA	ESTAB2	4,345	4,605	3,215	1,885	Ausência

SAJ: Santo Antônio de Jesus, CDA: Cruz das Almas, MUR: Muritiba, SAF: São Félix, CAH: Cachoeira, SAA: Santo Amaro, ESTAB1: Feira livre, ESTAB2: Supermercado.

As análises apontam a presença dos microrganismos aeróbios mesófilos em 100% das amostras estudadas, conforme valores médios demonstrados na tabela 2. Destas, 66,66% (8/12) apresentam contaminação superior ao limite máximo de 10^6 UFC/g (6 log UFC/g), estabelecido em legislação, com média das contagens variando de 4,345 a 8,845 log UFC/g. A contagem desses microrganismos é considerada importante para a determinação da carga microbiana nos alimentos, uma vez que a maioria dos microrganismos patogênicos causadores das doenças de origem alimentar, são mesófilos. Ou seja, desenvolvem-se bem em temperaturas entre 20°C e 45°C.

Resultados semelhantes foram encontrados por Junior et al. (2023), que também descrevem a contaminação por mesófilos em 100% das amostras da carne com 71% das amostras apresentando grau de contaminação superior a $1,5 \times 10^6$ UFC/g nos açougues da cidade de Nampula, Moçambique.

Houve crescimento dos microrganismos psicrotróficos com valores médios que variam de 4,035 log UFC/g a 6,922 log UFC/g. Embora a legislação brasileira não faça referência a contagem total dos psicrotróficos, a elevada contagem desse grupo de microrganismos influencia diretamente sobre o tempo de prateleira do produto, podendo causar mudanças indesejáveis na textura, cor, odor e sabor da carne,

tornando-a imprópria para o consumo.

Alguns autores citam a contagem dos psicotróficos inferiores a 2 log UFC/g como indicadores de baixa contaminação, contagem entre 3 e 4 log UFC/g como contaminação intermediária e alta contaminação quando observada a contagem entre 5 e 6 log UFC/g (FUNG et al., 1980).

Com base nessa classificação para a contagem dos psicotróficos, cinco (41,66%) estabelecimentos apresentaram valores médios considerados intermediários e sete (58,33%) apresentaram alta contaminação. Resultados ligeiramente semelhantes, foram descritos por Velho et al. (2015), onde 37,5% das amostras da carne bovina *in natura* comercializada nos supermercados em Mossoró-RN, apresentaram contaminação intermediária e 68,5% apresentaram alta contaminação, com valores médios variando de 3,24 log UFC/g a 6,64 log UFC/g.

Conforme observado na tabela 2, os coliformes totais foram isolados em 100% das amostras analisadas, com variação das médias de 3,215 log UFC/g a 5,605 log UFC/g. Os resultados encontrados para esse grupo de microrganismos, são semelhantes aos apresentados por Marcanzoni et al. (2018), que ao analisar a carne bovina comercializada no município de Chapecó – SC, também observaram elevado grau de contaminação, com a presença dos coliformes totais em 100% das amostras.

Quanto a ocorrência da *E. coli*, os menores valores médios observados e que atendem aos parâmetros estabelecidos em legislação, são correspondentes aos supermercados dos municípios de Santo Antônio de Jesus, Muritiba e Santo Amaro, representando 25% (3/12) do total de estabelecimentos verificados nesse estudo.

Em outro estudo, Oliveira et al. (2008) ao analisar 10 amostras da carne bovina comercializada em supermercados de João Pessoa-PB, detectaram a presença desse agente em 70% das amostras e a presença dos coliformes em 100% das amostras estudadas, dados que corroboram com o presente estudo.

Segundo Alves et al. (2018), quando presente nos alimentos, a *E. coli* indica a ocorrência da contaminação por material de origem fecal, de forma direta ou indireta, sugerindo assim, a exposição do produto às condições higiênico-sanitárias insatisfatórias durante a sua manipulação. Além disso, a contaminação por *E. coli* indica a possível presença de outros patógenos entéricos, bem como a ocorrência de cepas patogênicas responsáveis pela ocorrência de quadros de diarreia, colites hemorrágicas, síndrome urêmica e septicêmica.

Para a *Salmonella*, a legislação estabelece a ausência do microrganismo em 25 g da carne crua. Sendo assim, as amostras da carne comercializadas nos municípios de Cruz das Almas, São Félix e Cachoeira são consideradas impróprias para o consumo. Destas, três são provenientes das feiras livres e duas provenientes dos supermercados.

Valores inferiores foram observados em estudo desenvolvido por Oliveira et al. (2019), visando a avaliação dos cortes da carne bovina comercializadas em supermercados da cidade de Barra do Garças – MT, onde nenhuma das amostras analisadas, indicaram a ocorrência do patógeno.

Por outro lado, ao analisar amostras da carne bovina, suína e caprina comercializadas em dois municípios da Angola, quanto a contaminação por *Salmonella*, Maia & Oliveira (2023) observaram resultados superiores aos encontrados nesse estudo, com a presença do agente em todas as amostras da carne bovina analisada. Considerando o mesmo estudo, resultados similares foram

encontrados para os coliformes totais, onde os autores também relatam a ocorrência da contaminação por esses microrganismos em 100% das amostras. Os autores correlacionam o elevado grau de contaminação, às condições precárias de exposição e comercialização da carne, sem refrigeração e expostas a constante presença de moscas, insetos e cães. Bem como, das condições de higiene dos manipuladores. Velho et al. (2015) identificaram o patógeno em cinco (63%) dos oito supermercados e sete (88%) dos boxes em mercados públicos comercializadores da carne bovina na cidade de Mossoró-RN.

O gene *stx* foi identificado em dois dos isolados de *E. coli* (Fig. 1), sendo estes provenientes das amostras comercializadas em feiras livres dos municípios de Cachoeira e Santo Amaro. Ambas as amostras apresentaram-se em desacordo ao limite máximo estabelecido em legislação quanto à contaminação por aeróbios mesófilos e *E. coli*, além da ocorrência de contaminação por *Salmonella* na amostra proveniente da feira livre do município de Cachoeira. Este resultado foi superior ao encontrado por Marquezine et al. (2022), que ao avaliar 215 amostras de cortes bovinos produzidos em plantas de processamento de carne no estado de São Paulo, não identificaram o gene *stx* em nenhuma das amostras. Em outra pesquisa desenvolvida por Stella et al. (2020), avaliando amostras de swab da carcaça de 154 bovinos abatidos em um matadouro no município de Mineiros – GO, nenhuma das amostras apresentaram o gene *stx*.

Números superiores foram observados em estudo desenvolvido por Tarazi et al. (2021), onde foram analisadas um total 410 amostras fecais de diarreia humana e animal, além de amostras da carne moída coletadas em mercados varejistas no norte da Jordânia. Desse total, foram identificados 194 isolados de *E. coli*, dos quais 57 foram classificados como EHEC (*stx*).

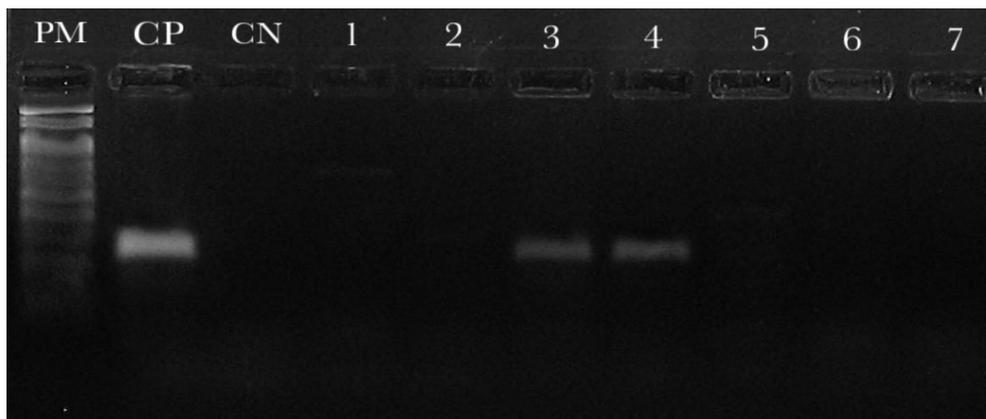


Figura 1. Fotografia do gel de agarose a 2% da PCR para o gene *stx* encontrados nas amostras da *E. coli* isoladas da carne bovina. Tamanho do fragmento 227pb, PM: Peso Molecular 100pb, CP: Controle Positivo, CN: Controle Negativo, amostras positivas 3 e 4.

O gene *stl* não foi identificado entre as cepas analisadas, não havendo a caracterização genotípica da *E. coli* enterotoxigênica (ETEC).

CONCLUSÕES

A carne bovina comercializada nos municípios de Santo Antônio de Jesus, Cruz das Almas, Muritiba, São Félix, Cachoeira e Santo Amaro apresentam elevada carga bacteriana, comprometendo a qualidade do produto e apresentando risco à saúde dos consumidores, dado a presença de microrganismos indicadores da contaminação de origem fecal e patogênicos aos seres humanos.

Fazendo-se fundamental o incentivo aos programas de educação sanitária, visando a propagação do conhecimento aos manipuladores e comercializadores da carne, quanto a importância da segurança dos alimentos, higiene pessoal e boas práticas de manipulação. Bem como, aos consumidores, quanto aos riscos envolvidos na prática da compra e consumo dos produtos de origem animal sem garantia de procedência.

Devendo assim, haver maior controle quanto à fiscalização sanitária realizada pelos órgãos competentes sobre a prática da comercialização dos produtos de

origem animal, bem como a qualificação e capacitação desses serviços, especialmente nas cidades do interior e feiras livres, onde os índices de contaminação tendem a ser ainda maiores.

Sendo assim, o poder público desempenha importante papel para a promoção da Saúde Única através dos programas, políticas e legislações que visam à saúde pública.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, S. G. S.; ATAIDE C. D. G., SILVA J. X. Análise microbiológica de coliformes totais e termotolerantes em água de bebedouros de um parque público de Brasília, Distrito Federal. Rev. Cient. Sena Aires, v. 7, 18-22, 2018.

AMORIM, J. R. B.; BOTELHO, L. F. R.; FIUZA, A. P. P. Perfil sanitário e microbiológico da carne moída comercializada em hipermercados. Revista Comeia, v. 1, n. 1, 2019.

ARAÚJO, D. S.; MOURA, F. V. P.; LUZ, L. E. Avaliação da qualidade higiênico-sanitária e físico-estrutural de açougues em municípios do Vale do Guaribas, no estado do Piauí, Archives of Veterinary Science, v. 26, n. 4, p. 93-106, 2021.

CUNHA, A. D. D.; PEREIRA, Y. L.; OSSUGUI, E.; SILVA, A. A. D.; SILVA, W. P. D.; LOPES, G. V. Pesquisa do gene stx1 em isolados de Escherichia coli provenientes de carcaças bovinas. XXIV ENPÓS, Universidade Federal de Pelotas, 2022.

FUNG, D. Y. C.; KASTNER, C. L.; HUNT, M. C.; DIKEMAN, M. E.; KROPF, D. Mesophilic and psychrotrophic bacteria population on hot-boned and conventionally processed beef. Journ. Food Protect. V. 50, p. 547-550, 1980.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Indicadores IBGE. Estatística da Produção Pecuária (abr.-jun. 2023). 202223. Disponível em:

https://ftp.ibge.gov.br/Producao_Pecuaria/Fasciculo_Indicadores_IBGE/abate-leite-

couro-ovos_202302caderno.pdf/ Acesso em: 21 abr. 2024.

INMET – Instituto Nacional de Meteorologia: Gráficos diários de estações 2023.

Disponível em: <<https://tempo.inmet.gov.br/Graficos/A001/>> Acesso em 05 de abr.

2024. JUNIOR, G. M. A.; PEDROSA, K. Y. F.; SILVA, H. T. S. Condições de comercialização da carne bovina em mercados municipais e percepção de atores sociais sobre a qualidade. *Brazilian Journal of Development*, v. 6, n. 3, p. 15369-15386, 2020.

JUNIOR, N. K.; VINTUAR, P. A.; SERROTE, C. M. L.; MUSSALAMA, A. Z. Análise microbiológica da carne comercializada nos açougues da cidade de Nampula, Moçambique. *Revista Baiana de Saúde Pública*, v. 47, n. 1, p. 78-90, 2023.

MAIA, F.; OLIVEIRA, M. C. Avaliação da qualidade físico-química e microbiológica das carnes frescas bovina, caprina e suína comercializadas nos municípios do Huambo e Wako-Kungo em Angola. *Revistas Científica Multidisciplinar*, v. 4, n. 8, 2023.

MARCANZONI, V. C. B.; BITNER, D. S.; ROSA, G.; FRIGO, A.; BRISOLA, M. C.; CRECENCIO, R. B.; RAMPAZZO, L.; STEFANI, L. M. Diferenças na qualidade microbiológica da carne bovina comercializada no município de Chapecó – SC, In: 28º CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOTECNIA, 2018, Goiânia – Goiás, Anais, 2018.

MARQUEZINE, M. G.; COSTA, L. H.; BROMBERG, R. Occurrence of the Seven Most Common Serotypes of Shiga Toxin–Producing *Escherichia coli* in Beef Cuts Produced in Meat Processing Plants in the State of São Paulo, Brazil. *Journal of Food Protection*, v. 85, n. 2, p. 261–265, 2022.

MONTEIRO, E. S.; COSTA, P. A.; MANFRIN, L. C.; FREIRE, D. O.; SILVA, I. C. R.; ORSI, D. C. Qualidade microbiológica da carne bovina moída comercializada em

supermercados do Distrito Federal, Brasil. Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal, v. 12, n. 4, p. 520-530, 2018.

OLIVEIRA, S.; SILVA, J. A.; MACIEL, J. F. E.; AQUINO, J. S. Avaliação Das Condições Higiénico Sanitárias De Carnes Bovina Comercializada Em Supermercados De João Pessoa. Alimentos e Nutrição, Araraquara V. 19, P. 61-66, 2008.

OLIVEIRA, K. A. M.; BECKMANN, L. B. S.; VIDIGAL, M. C. T. R.; OLIVEIRA, G. V. Avaliação microbiológica e sensorial de cortes de carne bovina. Revista Panorâmica, p. 149-164, 2019.

RODRIGUES, L. M. S.; COSTA, M. A. A. Competitividade das exportações de carne bovina do Brasil: uma análise das vantagens comparativas. Revista de Economia e Sociologia Rural, v. 59, n. 1, p. 1-14, 2021.

STELLA, A. E.; PÁDUA, G. T. MOREIRA, C. N.; MARTINS, P. S.; MONTES, M. C.; LIMA, T. F.; SILVEIRA, A. V. B. A. Frequency of antibiotic resistant enteropathogenic Escherichia coli (EPEC) in bovine carcasses at a slaughterhouse in Brazil. Research, Society and Development, v. 9, n. 7, p.1-15, 2020.

TARAZI, Y. H.; SUKHON, S. N. E.; ISMAIL, Z. B.; ALMESTAREHIEH, A. A. Molecular characterization of enterohemorrhagic Escherichia coli isolated from diarrhea samples from human, livestock, and ground beef in North Jordan. Vet World, p. 2827-2832, 2021.

VARGAS, B. K.; FROTA, E. G.; GUARENTI, C. Doenças transmitidas por alimentos. In: Microrganismos causadores de DTAs: um olhar pautado na legislação. E-book, p.160, 2021.

VELHO, A. L. M. C. S.; ABRANTES, M. R.; MEDEIROS, J. M. S.; AGUIAR, K. C. S.; SOUZA, E. S.; SOARES, K. M. P.; SILVA, J. B. A. Avaliação qualitativa da carne

bovina in natura comercializada em Mossoró-RN, Acta Veterinária Brasilica, v.9, n.3, p.212-217, 2015.