

**Qualidade e Segurança Microbiológica de *Longissimus Dorsi In Natura* e evolução das contagens de aeróbios mesófilos e psicrotróficos de ao longo de 30 dias de maturação a seco (Dry-Aged)**

**Microbiological quality and safety of fresh *Longissimus dorsi* and evolution of mesophilic aerobic and psychrotrophic counts over 30 days of dry-aged maturation**

DOI:10.34117/bjdv7n4-409

Recebimento dos originais: 07/03/2021

Aceitação para publicação: 15/04/2021

**José Carlos Ribeiro Júnior**

Doutor em Ciência Animal

Instituição: Universidade Federal do Norte do Tocantins (UFNT)

Endereço: Laboratório de Microbiologia de Alimentos, Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal do Norte do Tocantins, Zona Rural, Araguaína, Tocantins, Brasil

E-mail: ribeirojuniorjc@gmail.com

**Isac Gabriel Cunha dos Santos**

Mestre em Sanidade Animal e Saúde Pública nos Trópicos, Doutorando em Ciência Animal Tropical

Instituição: Universidade Federal do Norte do Tocantins (UFNT)

Endereço: Laboratório de Microbiologia de Alimentos, Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal do Norte do Tocantins, Zona Rural, Araguaína, Tocantins, Brasil

E-mail: isacgabrielsc@gmail.com

**Bianca Pereira Dias**

Graduanda em Medicina Veterinária, Bolsista de Iniciação Científica (PIBIC – CNPq)

Instituição: Universidade Federal do Norte do Tocantins (UFNT)

Endereço: Laboratório de Microbiologia de Alimentos, Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal do Norte do Tocantins, Zona Rural, Araguaína, Tocantins, Brasil

E-mail: biianca.p.dias@gmail.com

**Cristiane Alves Nascimento**

Graduada, Técnica de nível superior

Instituição: Universidade Federal do Norte do Tocantins (UFNT)

Endereço: Laboratório de Microbiologia de Alimentos, Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal do Norte do Tocantins, Zona Rural, Araguaína, Tocantins, Brasil

E-mail: crisalves\_9@hotmail.com

**Cátia Maria de Oliveira Lobo**

Doutora em Medicina Veterinária

Instituição: Universidade Federal do Norte do Tocantins (UFNT)

Endereço: Laboratório de Microbiologia de Alimentos, Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal do Norte do Tocantins, Zona Rural, Araguaína, Tocantins, Brasil  
E-mail: cmolobo@gmail.com

## RESUMO

A maturação a seco (*dry-aged*) da carne bovina atribui características organolépticas desejáveis ao consumidor e pode agregar valor aos cortes comerciais. O objetivo do presente trabalho foi avaliar a qualidade e segurança microbiológica de contrafilé *in natura* e verificar a evolução das contagens de aeróbios mesófilos (AM) e psicrotróficos (PSC) durante 30 dias de maturação à seco a 4°C. *Pools* de oito peças de contrafilé (*Longissimus dorsi*) foram avaliadas nos dias 0, 5, 13, 20 e 30 de maturação à seco. A qualidade e segurança microbiológica da carne *in natura* (dia 0) foi avaliada por métodos microbiológicos e moleculares. Da carne *in natura*, coliformes totais e termotolerantes foram <3 NMP/g, AM, PSC, bolores e leveduras e estafilococos coagulase positiva foram, respectivamente,  $1,52 \times 10^4$ ,  $10^3$ ,  $3 \times 10^4$  e  $5 \times 10^2$  UFC/g, além de negativa para pesquisa de *Salmonella* e *Listeria* spp., em conformidade com as legislações sanitárias da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Em relação às contagens de AM e PSC foi observado tendências lineares e progressivas de aumento das contagens durante a maturação, até  $3,45 \times 10^8$  para AM e  $2,67 \times 10^9$  para PSC no trigésimo dia de maturação a seco. A evolução da contagem mais expressiva de PSC em relação a AM possivelmente está relacionada à composição da microbiota mesófila da carne *in natura* ser mais composta por mesófilos e psicrotróficos facultativos e restritos, respectivamente. A possível composição dessa microbiota inicial da carne a ser maturada, portanto, pode interferir no atendimento dos padrões de qualidade microbiológica ao longo da maturação a seco.

**Palavras-chave:** contagem bacteriana total, contrafilé, patógenos microbianos, refrigeração.

## ABSTRACT

Dry maturing of beef gives desirable organoleptic characteristics to the consumer and can add value to commercial cuts. The objective of the present work was to evaluate the microbiological quality and safety of fresh beef tenderloin and to verify the evolution of mesophilic aerobic (MA) and psychrotrophic (PSC) counts during 30 days of dry-aged maturation at 4°C. Pools of eight pieces of tenderloin (*Longissimus dorsi*) were evaluated on days 0, 5, 13, 20 and 30 of dry-aged maturation. The microbiological quality and safety of fresh meat (day 0) was evaluated by microbiological and molecular methods. From fresh meat, total and thermotolerant coliforms were <3 MPN/g, MA, PSC, molds and yeasts and coagulase positive staphylococci were, respectively,  $1,52 \times 10^4$ ,  $10^3$ ,  $3 \times 10^4$  and  $5 \times 10^2$  CFU/g, as well as negative for research of *Salmonella* and *Listeria* spp., in accordance with the health legislation of the Brazilian National Health Surveillance Agency (ANVISA). Regarding the counts of MA and PSC, linear and progressive trends of increasing counts were observed during maturation, up to  $3.45 \times 10^8$  for AM and  $2.67 \times 10^9$  UFC/g for PSC on the thirtieth day of dry maturation. The evolution of the more expressive PSC count in relation to MA is possibly related to the composition of the fresh meat mesophilic microbiota to be more composed of facultative and restricted mesophiles and psychrotrophic, respectively. The possible composition of this initial microbiota of the meat to be matured, therefore, can interfere in meeting the Brazilian standards of microbiological quality throughout dry-aged maturation.

**Keywords:** total bacterial count, tenderloin, microbial pathogens, refrigeration.

## 1 INTRODUÇÃO

A maturação a seco (*dry-aged*) de carnes está se tornando cada vez mais popular para agregar características organolépticas desejáveis ao consumidor, além de agregar valor comercial ao produto (Monsón et al., 2005; Poleti et al., 2016). O processo de maturação é realizado mantendo-se a carne desossada ou não sob condições de refrigeração por até 30 dias após o abate do animal (Monsón et al., 2005). Durante esse período, ocorre a ação de proteases endógenas, como a catepsinas, proteassomas e caspases, além do sistema calpaína, principal responsável pela proteólise *post mortem*, promovendo o amaciamento da carne (Krause et al., 2011).

Na maturação a seco, as peças são submetidas à refrigeração sem embalagem em câmaras frigoríficas controladas (Lautenschlaeger, 2012) ou com sem fluxo de ar que pode influenciar na sua qualidade microbiológica (Lee et al., 2019). É relacionada com aumento e preservação da sua qualidade (Ortigue-Marty et al., 2006), justificada pela condição limitante da multiplicação de micro-organismos deteriorantes e favorecimento da multiplicação de bactérias lácticas, que produzem ácidos, peróxidos e bacteriocinas, que também inibem a multiplicação de micro-organismos deteriorantes e patogênicos (Pidcock et al., 2002; Marty et al., 2012), aumentando a vida útil da carne (Damez e Clerjon, 2008).

A maturação a vácuo (*wet-aged*) da carne, em embalagens de polietileno, é a mais frequentemente utilizada (Mateus et al., 2018). No entanto, essa condição é relacionada com a preservação da umidade superficial da peça, o que pode favorecer a manutenção de patógenos e contaminantes da carne pré-embalada. O estudo de Lautenschlaeger (2012) demonstrou que houve pouca influência da maturação a seco e úmida nas propriedades físico-químicas de carnes, como pH, perda de peso pelo cozimento, maciez, sabor e suculência. O autor relata maior influência das condições do músculo antes da maturação do que do tipo de maturação empregado.

Sabe-se que micro-organismos podem contaminar a carne desde a obtenção da carcaça durante o abate e processamento (Koutsoumanis e Sofos, 2004; Van Ba et al., 2018; Mezali et al., 2019). Todas as etapas do processamento de carnes devem ser realizadas de forma higiênica prevenindo a contaminação de origem ambiental, que pode comprometer a sua qualidade, segurança microbiológica e, conseqüentemente, risco à saúde pública (Brasil, 2017).

Determinados grupos de micro-organismos podem indicar a qualidade dos alimentos e se o alimento oferece risco ao consumo (Franco e Landgraf, 2003). Contagem de aeróbios mesófilos ou contagem bacteriana total de um alimento indica toda a contaminação mesófila do alimento até o momento da análise (Jay, 2005).

Quando um alimento é submetido à refrigeração, parte da microbiota mesófila, predominantemente sacarolítica, passa por alterações estruturais e metabólicas que permitem a sua multiplicação mesmo sob baixas temperaturas. Esses micro-organismos são chamados de psicrotróficos, que sintetizam fosfolípidos e lipídios neutros contendo proporções aumentadas de ácidos graxos insaturados, resultando em redução do seu ponto de fusão. Essa alteração permite a estes micro-organismos manter a fluidez da membrana celular sob baixa temperatura e, portanto, a sua funcionalidade contínua, transporte de solutos e secreção de enzimas extracelulares, como proteases e lipases, que podem comprometer a qualidade e vida útil dos alimentos refrigerados (Beales, 2004; Jay, 2005; Oliveira et al., 2015; Xin et al., 2017).

A contagem de psicrotróficos em alimentos é, portanto, indicadora da contaminação total de alimentos mantidos sob refrigeração uma vez que a baixa temperatura limita a multiplicação de mesófilos estritos (Santana et al., 2001; Jay, 2005).

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a qualidade e segurança microbiológica de contrafilé *in natura* e verificar a evolução das contagens de aeróbios mesófilos e psicrotróficos durante 30 dias de maturação à seco sob refrigeração.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram avaliadas oito peças de contrafilé (*Longissimus dorsi*) obtidas de animais diferentes abatidos em um frigorífico sob regime de inspeção federal no município de Araguaína, Tocantins. As carcaças dos bovinos foram mantidas em refrigeração a 7°C por 24 horas, retiradas as peças de contrafilé em ambiente de desossa a 12°C no próprio estabelecimento e encaminhadas sob refrigeração à unidade frigorífica do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal Tropical Universidade Federal do Norte do Tocantins (UFNT), Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia (EMVZ), campus universitário de Araguaína. A câmara frigorífica foi limpa e sanitizada antes da realização do experimento.

As peças foram mantidas em prateleiras de aço inox sem embalagem sob refrigeração constante à  $4 \pm 1^\circ\text{C}$  na câmara frigorífica pelo período de 30 dias (14 de

novembro a 13 de dezembro de 2019) para maturação a seco, ou seja, sem embalagem a vácuo.

Uma alíquota superficial de cada peça foi retirada assepticamente imediatamente na chegada das peças à unidade frigorífica da UFNT. Durante o período de maturação, outras alíquotas superficiais de todas as peças foram retiradas, também de forma asséptica, nos dias 5, 13, 20 e 30 de maturação à seco para contagem de aeróbios mesófilos e psicrotróficos.

As alíquotas de todas as peças foram avaliadas em pool. As amostras das peças de carne foram encaminhadas sob refrigeração ao Laboratório de Microbiologia de Alimentos (LabMA) da mesma instituição, onde foram imediatamente analisadas. De cada pool foram retiradas assepticamente duas alíquotas de 25g de carne representativas de todas as peças. Uma dessas alíquotas de 25g foi homogeneizada em *Stomacher* com 225mL de água peptonada tamponada (H<sub>2</sub>O<sub>p</sub>) e outra com 225 mL de caldo Half-Fraser por 180 segundos em saco plástico tipo Bag estéril. A alíquota diluída em H<sub>2</sub>O<sub>p</sub> (10<sup>-1</sup>) foi diluída decimal e sequencialmente até a diluição 10<sup>-9</sup> em solução salina (0,85%) peptonada (0,001%).

Considerado o pool retirado imediatamente no momento de recebimento das peças na Universidade como dia 0 de maturação e como carne *in natura*, foram avaliados os micro-organismos dos grupos dos coliformes totais (30°C) e termotolerantes (45°C) pelo método do Número Mais Provável conforme o *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods da American Public Health Association (APHA, 2015a)*.

Da carne *in natura* também foram quantificados bolores e leveduras (BL) após a semeadura de 0,1mL em superfície de ágar Dicloran Rosa Bengala Clortetraciclina (DRBC) e incubação por 5 dias a 25±1°C e estafilococos coagulase positiva (ECP) realizada conforme a *International Organization for Standardization (ISO) 6888-1:1999/Amd 1:2003*. A detecção da produção de coagulase foi realizada conforme Costa et al. (2011) utilizando-se plasma de equino.

A pesquisa de *Salmonella* spp. foi realizada conforme o método ISO 6579 (2005) e *Listeria* spp. foi realizada conforme o método ISO 11290 (2004), ambos modificados. A partir do isolamento de colônias sugestivas de *Salmonella* spp. em placas de ágar de Xilose Lisina Desoxicolato (XLD) e *Salmonella-Shiguella* (SS) e isolados sugestivos de *Listeria* spp. em ágar Oxford (Acumedia) e *Listeria* Seletive (Acumedia), ambos suplementados conforme instruções dos fabricantes, os isolados foram recuperados em

caldo cérebro coração (BHI) e submetidos à extração de DNA (Ribeiro Júnior et al., 2016) para confirmação em PCR gênero e espécie-específica conforme os *primers* e condições de amplificação apresentadas na Tabela 1. As reações de PCR foram realizadas com volume final de 25  $\mu$ L e as condições de elaboração dessas reações foram as mesmas descritas por Ribeiro Júnior et al. (2019).

No decorrer do período de maturação e da carne *in natura*, foi realizada a contagem de aeróbios mesófilos pela semeadura em duplicata de 1mL das diluições em ágar padrão para contagem (PCA) em *pour-plate* e incubação por 48 horas a  $35\pm 1^{\circ}\text{C}$  (APHA, 2015b). Os psicrotróficos foram quantificados pela semeadura em superfície de 0,1mL das diluições também em PCA e incubação por 10 dias a  $7\pm 1^{\circ}\text{C}$  em cabine BOD (APHA, 2015c).

A análise estatística das contagens microbiológicas foi realizada pelo Software Statistica (StatSoft, OK, USA) v. 6.0 após a conversão dos resultados em log utilizando o teste T de *Student* com  $\alpha = 5\%$ .

**Tabela 1** - Genes e condições de amplificação das reações de PCR.

Micro-organismo	Gene	Primers (5' – 3')	Peso (pb)	Condições de amplificação	Referência
<i>Salmonella</i> spp.	<i>invA</i>	GTGAAATTATCGCCACGTTTCGGGCAA	284	94°C-1m 35x (94°C-1m, 64°C-30s, 72°C-30s) 72°C-7m	Shanmugasamy et al. (2011)
		TCATCGCACCGTCAAAGGAACC			
<i>Listeria</i> spp.	<i>iap</i>	ATGAATATGAAAAAAGCAAC	1450- 1600	95°C-5m 40x (94°C-45s, 52°C-45s, 72°C-2m) 72°C-10m	Chen e Knabel (2007)
		TTATACGCGACCGAAGCCAAC			
<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>lmo0733</i>	CGCAAGAAGAAATTGCCATC			Liu et al. (2004)
		TCCGCGTTAGAAAAATTCCA			

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi observado que no pool das peças de carne *in natura* as contagens de coliformes totais e termotolerantes foram  $<3$  NMP/g, não sendo observado nenhum tubo positivo (turbidez com produção de gás) na etapa de pré-enriquecimento seletivo (caldo lauril sulfato de sódio) na menor diluição possível de ser avaliada ( $10^{-1}$ ).

As contagens de aeróbios mesófilos, psicrotróficos, bolores e leveduras e ECP da carne *in natura* foram, respectivamente,  $1,52 \times 10^4$ ,  $10^3$ ,  $3 \times 10^4$  e  $5 \times 10^2$  UFC/g.

Foram recuperados 14 isolados sugestivos de *Salmonella* spp. e 26 sugestivos de *Listeria* spp. nos meios de cultura seletivos. No entanto, nenhum isolado foi confirmado nas PCRs gênero-específicas, controladas em paralelo com extraídos positivos das cepas padrão *S. enteritidis* ATCC 13076 e *L. monocytogenes* ATCC 19115. Portanto, a carne *in natura* foi considerada negativa para os dois micro-organismos patogênicos indicadores da segurança microbiológica pesquisados.

Esse resultado era esperado uma vez que as carnes frescas foram rapidamente processadas em condições assépticas e o gênero *Salmonella* spp. está mais relacionado à carne de aves e suínos (Althaus et al., 2017; Pesciaroli et al., 2017). *L. monocytogenes* é um micro-organismos de importância em saúde pública por ser responsável por casos de aborto e meningite bacteriana (Radoshevich e Cossart, 2018), principalmente. Em ambiente industrial de obtenção de carnes, assim como de todos os produtos de origem animal, tem especial importância por ser um micro-organismo psicrotrófico formador de biofilmes, aumenta o potencial dos alimentos refrigerados em serem veiculadores desse patógeno e reduzindo a eficácia dos procedimentos de sanitização industrial previstos nos programas de autocontrole (Schäfer et al., 2017; Rodríguez-López et al., 2019).

A Instrução Normativa nº60 de 2019 (Brasil, 2019) da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), que estará vigente a partir de 23 de dezembro de 2020, fixa padrões microbiológicos para carnes *in natura* ou maturadas. São previstos requisitos de contagem de *E. coli* máxima de 100 UFC/g (M) em até duas (c) amostras no plano amostral (n) de cinco unidades do lote e limite inferior (m) de até 10 UFC/g nas outras três unidades do lote analisado; ausência de *Salmonella* spp. em 25g em cinco unidades amostrais; e, contagem de aeróbios mesófilos de até  $10^6$  UFC/g em até três amostras do plano amostral de cinco unidades, sendo permitido até  $10^5$  UFC/g nas outras duas amostras que compõem o plano de amostragem de três classes: qualidade aceitável, intermediária e inaceitável.

Considerado os resultados do presente trabalho para carne *in natura*, é possível observar o atendimento a todos os padrões microbiológicos previstos pela IN60/2019/ANVISA, ou seja, de qualidade aceitável.

A legislação vigente no momento de realização desse experimento era a Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº12 de 2001 (Brasil, 2001), que estabelecia o único padrão para carne *in natura* a ausência de *Salmonella* spp. em 25g no plano amostral (n = 5) e para amostra indicativa do lote (n = 1). Considerando essa legislação, a amostra indicativa de carne *in natura* do presente trabalho apresentava-se como conforme.

O acompanhamento das contagens de aeróbios mesófilos e psicrotróficos ao longo do período de maturação de 30 dias está representado na Tabela 2. Pode-se se observar que as contagens de aeróbios mesófilos foram superiores às contagens de psicrotróficos na carne *in natura*. No entanto, com a manutenção das peças em condições de refrigeração (4°C) para o processo de maturação a seco, foi observada a alteração para a dominância da microbiota psicrotrófica em relação à mesófila a partir da primeira análise de acompanhamento no quinto dia de maturação, certamente devido à refrigeração ser um fator limitante da multiplicação de mesófilos estritos, conforme esperado em alimentos refrigerados (Santana et al., 2001).

**Tabela 2** - Contagem de aeróbios mesófilos e psicrotróficos de carne bovina (*Longissimus dorsi*) ao longo de 30 dias de maturação à seco (*dry-aged*).

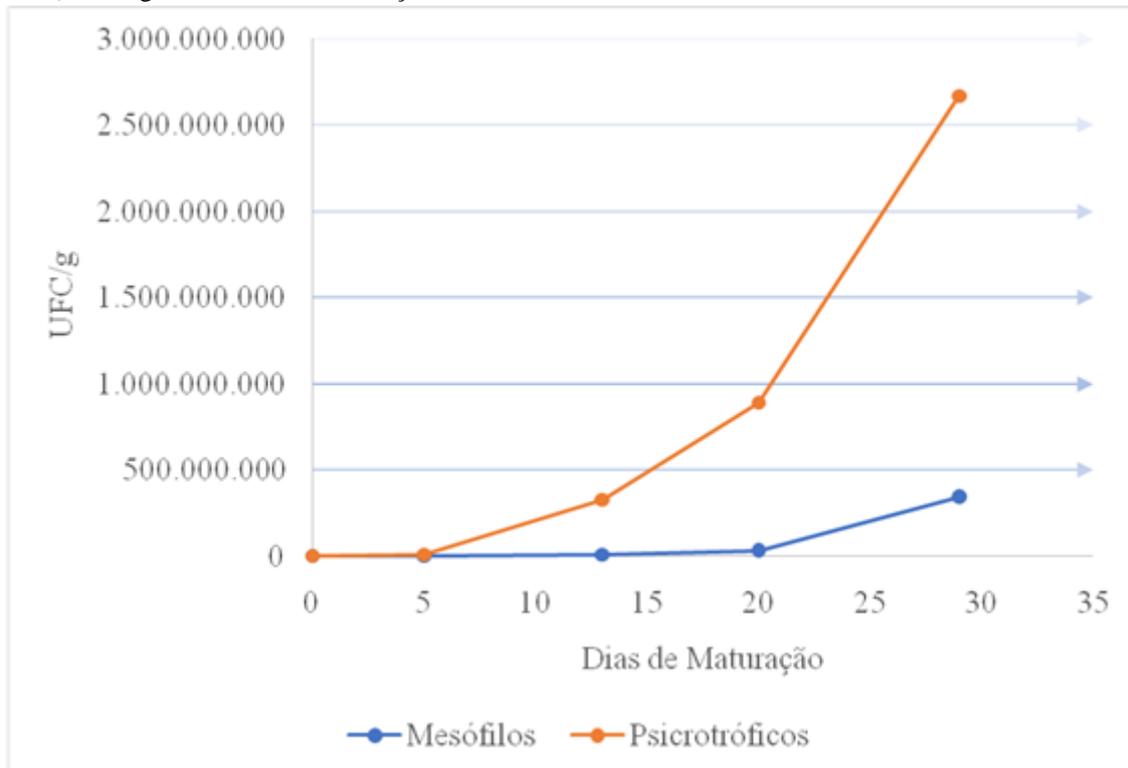
Dias de maturação à 4°C	Aeróbios Mesófilos*	Psicrotróficos*
0	1,52 x 10 <sup>4A</sup>	10 <sup>3A</sup>
5	5,7 x 10 <sup>4</sup>	8,05 x 10 <sup>6</sup>
13	6,65 x 10 <sup>6</sup>	3,27 x 10 <sup>8</sup>
20	3,25 x 10 <sup>7</sup>	8,9 x 10 <sup>8</sup>
30	3,45 x 10 <sup>8B</sup>	2,67 x 10 <sup>9B</sup>

\* Valores seguidos de letras diferentes na mesma coluna diferem entre si pelo teste T de *Student* ao nível de 5%

Considerando o padrão de qualidade determinado pela IN60/2019/ANVISA para aeróbios mesófilos, já mencionados, foi possível observar que as amostras do presente trabalho apresentaram-se em desacordo com o padrão de 10<sup>6</sup> UFC/g a partir do quinto dia de maturação até o momento da reanálise no décimo terceiro dia. Isso pode estar relacionado à contaminações ambientais, que nessa condição experimental houve tentativa de ser minimizada na medida do possível; ou, ainda, ao aumento das contagens

e da tendência linear progressiva da microbiota psicrotrófica, conforme pode ser observado na Figura 1.

**Figura 1** - Progressão das contagens de aeróbios mesófilos e psicrotróficos em carne bovina (*Longissimus dorsi*) ao longo de 30 dias de maturação a seco a 4°C.



Sabe-se que a parte da composição da microbiota psicrotrófica é oriunda da adaptação de micro-organismos mesófilos (Jay, 2005; Oliveira et al., 2015; Xin et al., 2017). Pode ser possível que parte dos micro-organismos mesófilos da carne *in natura* se adaptaram à condição psicrotrófica e se multiplicaram também em temperatura de refrigeração. Assim, no momento de realização da análise microbiológica, foi possível a sua quantificação acima dos limites determinados pela legislação.

Também na figura 1, é possível verificar possível seleção de psicrotróficos estritos ou linhagens de micro-organismos mais adaptados à condição de refrigeração. O aumento foi expressivo e significativo em relação aos mesófilos no mesmo período de maturação e também em relação à quantificação de psicrotróficos da carne antes da maturação.

Dessa forma, conhecer a composição da microbiota mesófila da carne *in natura* a ser maturada, determinar a origem da sua contaminação e possíveis formas de controle, podem ser uma alternativa para promoção da qualidade microbiológica e atendimento aos padrões higiênico-sanitários da carne maturada a seco.

Em um estudo preliminar realizado pela equipe do presente trabalho (Ribeiro Júnior et al., 2021) foi verificado que a maturação à seco promoveu redução significativa de coliformes totais, aeróbios mesófilos, psicrotróficos e bolores e leveduras em relação à maturação a vácuo (*wet-aged*). Esse estudo ainda demonstrou que nas carnes mantidas em *dry-aged* é possível tornar inviável a manutenção de *E. coli* diarreiogênicas e *Listeria monocytogenes* após 30 dias, tornando esse tipo de carne maturada de melhor qualidade microbiológica e com menor risco de causar infecção e/ou toxinfecção de origem alimentar, ou seja, mais segura para consumo.

Outros estudos fazem-se necessários para verificar a evolução das quantificações de outros micro-organismos indicadores durante diferentes períodos de maturação a seco e a viabilidade dos patógenos microbianos durante a maturação em diferentes condições de temperatura, umidade e pH, principalmente. Esses trabalhos poderão auxiliar empresas processadoras a aplicar processos tecnológicos de maturação a seco da carne mais adequados a fornecer ao consumidor produtos de melhor qualidade e mais seguros.

#### 4 CONCLUSÕES

Foi observado que a carne *in natura* avaliada pelo presente trabalho apresentou qualidade microbiológica compatível com os requisitos legais brasileiros determinados e ausência de patógenos microbianos de origem entérica e ambiental. A maturação a seco realizada à 4°C promoveu aumento progressivo da contagem de psicrotróficos e, com tendência inferior, também de aeróbios mesófilos, possivelmente relacionados à composição da microbiota mesófila da carne *in natura* ser composta por mesófilos e psicrotróficos facultativos e restritos, respectivamente. A possível composição dessa microbiota inicial da carne a ser maturada, portanto, pode interferir no atendimento dos padrões de qualidade microbiológica ao longo da maturação a seco.

#### AGRADECIMENTOS

Esse trabalho foi financiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação de Amparo à Pesquisa do Tocantins (FAPT) e Programa de Pesquisa para o Sistema Único de Saúde (PPSUS). Essa equipe também agradece ao Dr. Wescley Faccini Augusto e a Prof. Dra. Fabrícia Rocha Chaves Miotto do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal Tropical da UFNT.

## REFERÊNCIAS

ALTHAUS, D.; ZWEIFEL, C.; STEPHAN, R. Analysis of a poultry slaughter process: Influence of process stages on the microbiological contamination of broiler carcasses. **Italian Journal of Food Safety**, v.6, n 4, p. 190-194, 2017.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). Jeffrey L. Kornacki, Joshua B. Gurtler, and Bradley A. Stawick. Enterobacteriaceae, Coliforms, and *Escherichia coli* as Quality and Safety Indicators. Chapter 9. In **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**, 2015a.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). Elliot T. Ryser and James D. Schuman. Mesophilic Aerobic Plate Count. Chapter 8. In **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**, 2015b.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). Purnendu C. Vasavada and Faith J. Critzer Psychrotrophic Microorganisms. Chapter 13. In **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**, 2015c.

BEALES, N. Adaptation of microorganisms to cold temperatures, weak acid preservatives, low pH, and osmotic stress: a review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 3, p. 1-20. 2004.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Diretoria Colegiada. Instrução normativa nº60, de 23/12/2019. Estabelece as listas de padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Edição 249, seção 1, p. 133, de 26/12/2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Diretoria Colegiada. RDC nº12 de 02/01/01. Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos, **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Edição de 10/01/2001.

BRASIL. Presidência da República. Decreto nº 9.013 de 29/03/2017, Dispõe sobre o Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal, **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, edição 104, seção 1, p. 2, de 01/06/2017.

CHEN, Y.; KNABEL, S. J. Multiplex PCR for simultaneous detection of bacteria of the genus *Listeria*, *Listeria monocytogenes*, and major serotypes and epidemic clones of *L. monocytogenes*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 73, n. 19, p. 6299-6304, 2007.

COSTA, G. M. D.; PEREIRA, U. D. P.; CUSTÓDIO, D. A. D. C. et al. Caracterização de *Staphylococcus* coagulase-positiva utilizando plasmas de diferentes espécies animais. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 70, n. 4, p. 584-588, 2011.

DAMEZ, J. L.; CLERJON, S. Meat quality assessment using biophysical methods related to meat structure. **Meat Science**, v. 80, n. 1, p. 132-149, 2008.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia de Alimentos**. São Paulo. Editora Atheneu, 182 p., 2003.

ISO 6888-1. Microbiology of Food and Animal Feeding Stuff – Horizontal Method for the Enumeration of Coagulase-Positive Staphylococci (*Staphylococcus aureus* and Other Species) – Part 1: Technique Using Baird-Parker Agar Medium, **International Organization for Standardization**, 1999, Amendment 1:2003.

ISO 11290-1. Microbiology of Food and Animal Feeding Stuff - Horizontal Method for the Detection and Enumeration of *Listeria monocytogenes* e Part 1: Detection Method. **International Organization for Standardization**, 1996, Amendment 1:2004.

ISO 6579. Microbiology of Food and Animal Feeding Stuff – Horizontal Method for Detection of *Salmonella* spp. 4<sup>th</sup> ed., **International Organization for Standardization**, 2002, Amendment 1:2007.

JAY, M. J. **Microbiologia de Alimentos**. 6<sup>ed</sup>. Porto Alegre, Artmed, 711 p., 2005.

KOUTSOUMANIS, K.; SOFOS, J. N. Microbial contamination of carcasses and cuts. **Encyclopedia of Meat Sciences**, v. 67, n. 8, p. 1624-1629, 2004.

KRAUSE, J.; TSHIDINO, S. C.; OGAWA, T.; et al. Purification and partial characterization of ostrich skeletal muscle cathepsin D and its activity during meat maturation. **Meat Science**, v. 87, n. 3, p. 196-201, 2011.

LAUTENSCHLAEGER, R. Latest trends in beef maturation—Dry-aged versus wet-aged beef. In Proceedings of the 58<sup>th</sup> **International Congress of Meat Science and Technology**, p. 12-17, 2012. Disponível em: <[http://icomst-proceedings.helsinki.fi/papers/2012\\_07\\_03.pdf](http://icomst-proceedings.helsinki.fi/papers/2012_07_03.pdf)>, Acesso em 02/11/2020.

LEE, H. J.; YOON, J. W.; KIM, M.; et al. Changes in microbial composition on the crust by different air flow velocities and their effect on sensory properties of dry-aged beef. **Meat Science**, v. 153, p. 152-158, 2019.

LIU, D.; AINSWORTH, A. J.; AUSTIN, F. W.; et al. Use of PCR primers derived from a putative transcriptional regulator gene for species-specific determination of *Listeria monocytogenes*. **International Journal of Food Microbiology**, v. 91, n. 3, p. 297-304, 2004.

MARTY, E.; BUCHS, J.; EUGSTER-MEIER, E.; et al. Identification of staphylococci and dominant lactic acid bacteria in spontaneously fermented Swiss meat products using PCR–RFLP. **Food Microbiology**, v. 29, n. 2, p. 157-166, 2012.

MATEUS, K. A.; DOS SANTOS, M. R.; VIANA, L. R.; et al. Período de maturação promove alterações dos parâmetros físico-químicos e microbiológicos da carne bovina submetida a vácuo. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 17, n. 4, p. 599-602, 2018.

MEZALI, L.; MEBKHOUT, F.; NOUICHI, S.; et al. Serotype diversity and slaughterhouse-level risk factors related to *Salmonella* contamination on poultry

carcasses in Algiers. **The Journal of Infection in Developing Countries**, v. 13, n. 5, p. 384-393, 2019.

MONSÓN, F.; SAÑUDO, C.; SIERRA, I. Influence of breed and ageing time on the sensory meat quality and consumer acceptability in intensively reared beef. **Meat Science**, v. 71, n. 3, p. 471-479, 2005.

OLIVEIRA, G. B. D.; FAVARIN, L.; LUCHESE, R. H.; et al. Psychrotrophic bacteria in milk: How much do we really know?. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 46, p. 313-321, 2015.

ORTIGUES-MARTY, I.; THOMAS, E.; PRÉVÉRAUD, D. P.; et al. Influence of maturation and cooking treatments on the nutritional value of bovine meats: Water losses and vitamin B12. **Meat Science**, v. 73, n. 3, p. 451-458, 2006.

PIDCOCK, K.; HEARD, G. M.; HENRIKSSON, A. Application of nontraditional meat starter cultures in production of Hungarian salami. **International Journal of Food Microbiology**, v. 76, n. 2, p. 75-81, 2002.

PESCIAROLI, M.; CUCCO, L.; DE LUCA, S.; et al. Association between pigs with high caecal *Salmonella* loads and carcass contamination. **International Journal of Food Microbiology**, v. 242, p. 82-86, 2017.

POLETI, M. D.; ROSA, A. F.; VIGNATO, B. S.; et al. Mudanças proteolíticas em músculo de bovinos Nelore durante o processo de maturação. In **Novos desafios da pesquisa em nutrição e produção animal**. Pirassununga, Editora 5D, p. 133-149, 2016. Disponível em: <<http://posvnp.org/novo/wp-content/uploads/2016/11/x-simposio-vnp-pos-graduacao-livro-2016.pdf#page=133>>, Acesso em 02/11/2020.

RADOSHEVICH, L.; COSSART, P. (2018). *Listeria monocytogenes*: towards a complete picture of its physiology and pathogenesis. **Nature Reviews Microbiology**, v. 16, n. 1, p. 32-46, 2018.

RIBEIRO JÚNIOR, J. C.; TAMANINI, R.; SOARES, B. F.; et al. Efficiency of boiling and four other methods for genomic DNA extraction of deteriorating spore-forming bacteria from milk. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 37, n. 5, p. 3069-3078, 2016.

RIBEIRO JÚNIOR, J. C.; SILVA, F. F.; LIMA, J. B. A.; et al. Molecular characterization and antimicrobial resistance of pathogenic *Escherichia coli* isolated from raw milk and Minas Frescal cheeses in Brazil. **Journal of Dairy Science**, v. 102, n. 12, p. 10850-10854, 2019.

RIBEIRO JÚNIOR, J. C.; SANTOS, I. C. G.; DIAS, B. P.; et al. Influence of dry and wet beef maturation on the microbiological quality and safety. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 42, n. 1, p. 155-166, 2021.

RODRÍGUEZ-LÓPEZ, P.; BERNÁRDEZ, M.; RODRÍGUEZ-HERRERA, J. J.; et al. Identification and metagenetic characterisation of *Listeria monocytogenes*-harbouring communities present in food-related industrial environments. **Food Control**, v. 95, p. 6-17, 2019.

SANTANA, E. D.; BELOTI, V.; BARROS, M. D. A. F.; et al. Contaminação do leite em diferentes pontos do processo de produção: I. Microrganismos aeróbios mesófilos e psicrotróficos. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 22, n. 2, p. 145-154, 2001.

SCHÄFER, D. F.; STEFFENS, J.; BARBOSA, J.; et al. Monitoring of contamination sources of *Listeria monocytogenes* in a poultry slaughterhouse. **LWT**, v.86, p.393-398, 2017.

SHANMUGASAMY, M.; VELAYUTHAM, T.; RAJESWAR, J. *InvA* gene specific PCR for detection of *Salmonella* from broilers. **Veterinary World**, v. 4, n. 12, p. 562-564, 2011.

VAN BA, H.; SEO, H. W.; PIL-NAM, S.; et al. The effects of pre-and post-slaughter spray application with organic acids on microbial population reductions on beef carcasses. **Meat Science**, v. 137, p. 16-23, 2018.

XIN, L.; MENG, Z.; ZHANG, L.; et al. The diversity and proteolytic properties of psychrotrophic bacteria in raw cows' milk from North China. **International Dairy Journal**, v. 66, p. 34-41, 2017.