

ANDREA LAFISCA

ANÁLISE HISTÓRICA E CRÍTICA DE LEGISLAÇÕES BRASILEIRAS E
EUROPÉIAS RELACIONADAS À PRODUÇÃO DE CARNE BOVINA E AVALIAÇÃO
DE MICRORGANISMOS INDICADORES DE HIGIENE E *Listeria monocytogenes* EM
CARCAÇAS BOVINAS EM LINHAS DE ABATE

Dissertação apresentada à Universidade
Federal de Viçosa, como parte das exigências
do Programa de Pós-Graduação em Medicina
Veterinária, para obtenção do título de
Magister Scientiae.

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2011

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV

T

L164a
2011

Lafisca, Andrea, 1977-

Análise histórica e crítica de legislações brasileiras e europeias relacionadas à produção de carne bovina e avaliação de microrganismos indicadores de higiene e *Listeria monocytogenes* em carcaças bovinas em linha de abate. – Viçosa, MG, 2011.
xvi, 100f. : il. (algumas col.) ; 29cm.

Orientador: Luís Augusto Nero.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
Inclui bibliografia.

1. Carne bovina. 2. Legislação. 3. Comércio internacional.
4. Exportações. 5. Microbiologia veterinária. 6. Higiene veterinária. 7. *Listeria spp.* 8. *Listeria monocytogenes*.
I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

CDD 22. ed. 636.213

ANDREA LAFISCA

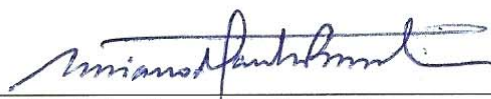
**ANÁLISE HISTÓRICA E CRÍTICA DE LEGISLAÇÕES BRASILEIRAS E
EUROPÉIAS RELACIONADAS À PRODUÇÃO DE CARNE BOVINA E
AVALIAÇÃO DE MICRORGANISMOS INDICADORES DE HIGIENE E
Listeria monocytogenes EM CARCAÇAS BOVINAS EM LINHAS DE ABATE**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

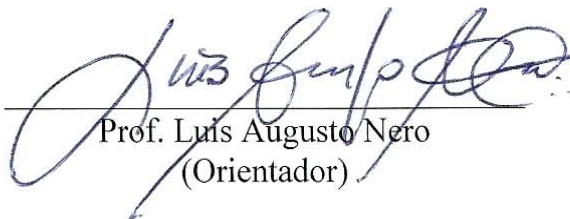
APROVADA: 21 de junho de 2011.



Prof. Paulo Sérgio de Arruda Pinto
(Co-orientador)



Prof. Luciano dos Santos Bersot



Prof. Luis Augusto Nero
(Orientador)

Dedico este trabalho à memória da minha
mãe, professora Margherita Turchetto.

*Dedico questo lavoro alla memoria di mia
madre, Professoressa Margherita Turchetto*

“Per aspera ad astra”
(Battaglione Alpini “Vicenza”)

AGRADECIMENTOS

Meu primeiro agradecimento é para a minha família brasileira: minha esposa, Karine, minha filha, Sofia Margherita, e meus sogros, Vânia e Jacy, por terem sempre me apoiado, em todos os momentos lindos e difíceis que este percurso providenciou.

Meus amigos e colegas do laboratório: Frederico, Mariane, Japa Rob, Gabi e Isabela pela ajuda, a companhia, as gargalhadas e as muitas horas de trabalho noturno no laboratório, escutando musica e aprendendo, além da microbiologia, a beleza do Brasil. (Obrigado também para ter disfarçado quando não dava para entender minha fala, principalmente no início).

Ao meu amigo Mococa: você tem um longo caminho pra frente: continue assim, com alegria e determinação, e com a certeza do seu sucesso, presente e futuro.

Todos os amigos dos laboratórios de inspeção dos alimentos, bacteriologia e biologia molecular.

O Professor Luís Augusto Nero, que sempre me acompanhou durante este mestrado, sempre me apoiando nas decisões, as vezes difíceis que eu tomei, me ensinando coisas, bem além da microbiologia dos alimentos, mantendo sempre um ânimo sereno e de confiança. Obrigado!

A Professora Cidinha, pelas dicas sobre PCR e extração de DNA.

A Rose, que me ajudou com todos os documentos que foram precisos, sempre com alegria e com um sorriso!

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, processos 505861/2008-9; 578163/2008-0; 550036/2010-5) por ter financiado o projeto de pesquisa e este meu mestrado através de uma bolsa que me permitiu de me dedicar com exclusividade à pesquisa.

Aos professores Laércio, Patarroyo e Paula para ter revalidado os estudos feitos na Itália e ter-me permitido de ser, além que “*medico veterinario*” também “médico veterinário”.

A mis amigos colombianos por la ajuda, la alegría constante y la amistad.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	VII
LISTA DE TABELAS	IX
RESUMO.....	XI
ABSTRACT	XIII
INTRODUÇÃO GERAL	1
OBJETIVOS	2
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
1. PRODUÇÃO DE CARNE BOVINA NO BRASIL	3
2. LEGISLAÇÕES RELACIONADAS A PRODUÇÃO DE CARNE BOVINA NO BRASIL	8
3. PROCESSAMENTO DE CARNE BOVINA	13
4. CONTAMINAÇÃO MICROBIANA EM PRODUTOS CÁRNEOS.....	17
5. <i>Listeria monocytogenes</i>	22
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	28
CAPÍTULO 1. SIMILARITIES AND RELATIONSHIP BETWEEN BRAZILIAN AND EUROPEAN LEGISLATION CONCERNING BOVINE MEAT PRODUCTION AND SAFETY.....	39
ABSTRACT	40
RESUMO.....	41
1. INTRODUCTION	42
2. MATERIAL AND METHODS.....	44
3. RESULTS AND DISCUSSION	45
3.1. <i>Overview of the development of European legislation on beef</i>	45
3.2. <i>Overview of the development of Brazilian legislation on beef</i>	50
3.3. <i>General considerations</i>	55
4. REFERENCES	61

CAPÍTULO 2. PESQUISA DE MICRORGANISMOS INDICADORES DE HIGIENE, <i>Listeria</i> SPP. E <i>Listeria monocytogenes</i> EM CARÇAÇAS BOVINAS EM LINHAS DE ABATE	73
RESUMO.....	74
ABSTRACT	75
1. INTRODUÇÃO	76
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	77
2.1. Seleção de abatedouros.....	77
2.2. Coleta de amostras superficiais de carcaças bovinas	80
2.3. Processamento das amostras coletadas.....	81
2.4. Análise estatística dos dados	83
3. RESULTADOS	84
4. DISCUSSÃO	91
5. CONCLUSÕES	95
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	95
CONCLUSÕES FINAIS	99
PERSPECTIVAS DO ESTUDO	100

LISTA DE FIGURAS

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

- Figura 1. Evolução da produção, consumo interno e exportações de carne bovina brasileira, entre 1994 e 2009 (Fonte: IBGE e SECEX/MDIC, em ABIEC, 2011). 4
- Figura 2. Receita total (Mil US\$) gerada a partir das exportações de carne bovina e derivados produzidos no Brasil e adquiridos pelos principais países importadores em 2010 (ABIEC, 2011). 4
- Figura 3. Evolução dos volumes de exportações de carne bovina brasileira total e destinados a países europeus (gráficos em áreas), e percentuais dessa relação (linha), entre 1996 e 2010 (ABIEC, 2011). 6
- Figura 4. Evolução da receita gerada (em Milhões de US\$) pelas exportações de carne bovina brasileira para todos os parceiros comerciais (área em azul escuro) e para os países europeus (área em azul claro), entre 1996 e 2010 (ABIEC, 2011). 7
- Figura 5. Evolução do valor pago pela carne bovina brasileira para todo o mercado importador (linha contínua) e para países europeus (linha tracejada), entre 1996 e 2010 (em mil US\$ por ton., ABIEC, 2011). 7
- Figura 6. Principais etapas dos processos de abate de bovinos, inspeção e processamento de carne bovina (adaptado de Pinto, 2008 e Gomide et al., 2006). Figuras em cinza indicam instalações, figuras em verde as etapas de inspeção, e figuras em branco as operações. Os asteriscos do lado esquerdo indicam os principais pontos de contaminação microbiológica dos processos. 15

CAPÍTULO 1

- Figure 1. Evolution of Brazilian beef exportation (total and to Europe Union countries) between 1996 and 2010 (in 1,000 tons., ABIEC, 2011). 43
- Figure 2. Value paid per ton. of Brazilian beef globally and by Europe Union countries (ABIEC, 2011). 43
- Figure 3. Main laws on animal diseases and animal identification from European Union and Brazil. 56
- Figure 4. Main regulations on chemical residues on animal origin foods from European Union and Brazil. 57
- Figure 5. Main regulations on food safety, quality and animal welfare from European Union and Brazil. 58

CAPÍTULO 2

- Figura 1. I) Localização geográfica do estado de Minas Gerais no Brasil e América do Sul, na área destacada em cinza; II) Localização no Estado de Minas Gerais (MG) dos municípios de Viçosa, Betim (onde está localizado frigorífico 1), Muriaé (frigorífico 2), e Belo Horizonte (frigorífico 3). 78
- Figura 2. Esquemas das linhas de abate de bovinos nos três frigoríficos selecionados (F1, F2 e F3). Os pontos pretos numerados indicam as localizações das principais etapas do abate de bovinos (1: insensibilização, 2: sangria, 3: esfolagem, 4: evisceração, 5: divisão da carcaça, 6: toalete, 7: lavagem, e 8: resfriamento), e os pontos brancos indicam os locais selecionados para coleta de amostras superficiais de carcaças bovinas (A: após sangria, B: após esfolagem, C: após evisceração e separação de carcaças, e D: após lavagem). 79
- Figura 3. Localização dos pontos de coleta de amostras superficiais em carcaças bovinas (quadrados com linhas pontilhadas) na calha de sangria e após esfolagem (A, representando a carcaça inteira, de ambos os lados), e após evisceração/separação das carcaças e lavagem (B, representando uma meia carcaça, no lado externo e interno). 80
- Figura 4. Gel de eletroforese dos produtos de PCR multiplex para identificação de *Listeria* spp. e *Listeria monocytogenes*. 1: marcador de peso molecular de 100 pb (indicação de 500 pb), 2: controle positivo de *L. monocytogenes*, 3: controle positivo de *Listeria* spp. (*L. innocua*), 4: controle negativo, 5 a 7: isolados testados. 90

LISTA DE TABELAS

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Tabela 1. Renda, volume e preço pago por tonelada dos principais produtos cárneos brasileiros importados pelos cinco maiores parceiros comerciais em 2010 (ABIEC, 2011).....	5
Tabela 2. Parâmetros microbiológicos de referência para avaliação da qualidade de carcaças bovinas e adequação dos processos higiênicos de abate e processamento (valores em log UFC/cm ²).	20
Tabela 3. Contaminação por diferentes grupos de microrganismos indicadores de higiene na pele e em carcaças bovinas amostradas em diferentes etapas da linha de abate e processamento (resultados em log UFC/cm ²).....	21
Tabela 4. Ocorrência (%) de <i>Listeria</i> spp. e <i>L. monocytogenes</i> em fezes, peles, carcaças bovinas carne e produtos cárneos, segundo estudos científicos publicados internacionalmente.....	24
Tabela 5: Principais surtos de listeriose relacionados ao consumo de produtos cárneos. EUA = Estados Unidos de América (Warriner e Namvar, 2009).....	27

CAPÍTULO 2

Tabela 1. Sequencias dos oligonucleotídeos utilizados para a realização da reação em cadeia pela polimerase para identificação do gênero <i>Listeria</i> e da espécie <i>L. monocytogenes</i> em isolados suspeitos obtidos de carcaças bovinas em diferentes etapas do abate (Border et al., 1990).	83
Tabela 2: Parâmetros microbiológicos de referência para avaliação da qualidade de carcaças bovinas e adequação dos processos higiênicos de abate e processamento (valores em log UFC/cm ²)	84
Tabela 3. Parâmetros estatísticos de contagens de microrganismos indicadores de higiene obtidos de amostras superficiais de carcaças bovinas coletadas em diferentes etapas do abate (A: após sangria; B: após esfolia; C: após evisceração; e D: após lavagem).	85
Tabela 4. Medianas (Q25 - Q75) de contagens de microrganismos indicadores de higiene obtidas de amostras superficiais de carcaças bovinas coletadas em diferentes etapas do abate (A: após sangria; B: após esfolia; C: após evisceração; e D: após lavagem), e parâmetros estatísticos obtidos por Kruskal-Wallis (K) e níveis de significância (P)....	86
Tabela 5. Frequências de amostras superficiais de carcaças bovinas obtidas em diferentes	

etapas da linha de abate (A: após sangria; B: após esfolagem; C: após evisceração; e D: após lavagem) com contagens acima de diferentes níveis de contaminação por aeróbios mesófilos, e parâmetros estatísticos obtidos por Chi-quadrado (χ^2) e níveis de significância (P).....	87
Tabela 6. Frequências de amostras superficiais de carcaças bovinas obtidas em diferentes etapas da linha de abate (A: após sangria; B: após esfolagem; C: após evisceração; e D: após lavagem) com contagens acima de diferentes níveis de contaminação por enterobactérias, e parâmetros estatísticos obtidos por Chi-quadrado (χ^2) e níveis de significância (P).....	87
Tabela 7. Frequências de amostras superficiais de carcaças bovinas obtidas em diferentes etapas da linha de abate (A: após sangria; B: após esfolagem; C: após evisceração; e D: após lavagem) com contagens acima de diferentes níveis de contaminação por coliformes totais, e parâmetros estatísticos obtidos por Chi-quadrado (χ^2) e níveis de significância (P).....	88
Tabela 8. Frequências de amostras superficiais de carcaças bovinas obtidas em diferentes etapas da linha de abate (A: após sangria; B: após esfolagem; C: após evisceração; e D: após lavagem) com contagens acima de diferentes níveis de contaminação por <i>Escherichia coli</i> , e parâmetros estatísticos obtidos por Chi-quadrado (χ^2) e níveis de significância (P).....	88
Tabela 9. Número de amostras superficiais de carcaças bovinas obtidas em diferentes etapas do abate (A: após sangria; B: após esfolagem; C: após evisceração; e D: após lavagem) com contagens de aeróbios mesófilos e enterobactérias acima de valores críticos e inaceitáveis definidos por referências específicas.....	89
Tabela 10. Frequências de isolados identificados como <i>Listeria</i> spp. e <i>L. monocytogenes</i> obtidos de amostras superficiais de carcaças bovinas coletadas em diferentes etapas da linha de abate (A: após sangria; B: após esfolagem; C: após evisceração; e D: após lavagem).....	90
Tabela 11. Frequências de amostras superficiais de carcaças bovinas coletadas em diferentes etapas do abate (A: após sangria; B: após esfolagem; C: após evisceração; e D: após lavagem) com resultados positivos para <i>Listeria</i> spp. e <i>L. monocytogenes</i>	91

RESUMO

LAFISCA, Andrea, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, junho de 2011. **Análise crítica e histórica de legislações brasileiras e européias relacionadas à produção de carne bovina e avaliação de microrganismos indicadores de higiene e *Listeria monocytogenes* em carcaças bovinas em linha de abate.** Orientador: Luís Augusto Nero. Co-orientador: Paulo Sérgio de Arruda Pinto

A produção de carne bovina é um elemento fundamental do setor agropecuário no Brasil. Atualmente o país é o segundo maior produtor e o primeiro exportador deste alimento para mais de cem países no mundo inteiro. A manutenção desses mercados requer o cumprimento das leis, estabelecidas pelos países importadores, com o fim de proteger a saúde do rebanho, dos consumidores e promover a consolidação dos parceiros comerciais internacionais. As legislações dos países importadores sempre foram um modelo para o desenvolvimento das normas no Brasil. As legislações européias possuem grande destaque, uma vez que a Europa foi principal mercado de carne bovina para o Brasil até a década de 1990. Atualmente a Europa já não é mais o maior importador, mas sempre tem destaque pela alta valorização da carne bovina brasileira. Geralmente as legislações relacionadas à segurança dos alimentos são baseadas na análise dos riscos e na aplicação de ferramentas de controle, como as boas práticas de produção e análise de perigos e pontos críticos de controle. A garantia da segurança microbiológica das carnes exportadas é certificada realizando a pesquisa direta dos patógenos ou a pesquisa indireta, avaliando a contaminação por microrganismos indicadores de higiene. Os grupos microbianos mais frequentemente pesquisados são aeróbios mesófilos (AM), enterobactérias (EB), coliformes totais (CT) e *Escherichia coli* (EC). Em relação a patógenos, *Listeria monocytogenes* possui grande destaque devido a sua alta associação com produtos cárneos e alta patogenicidade. De Setembro de 2009 a Novembro de 2010, foram analisadas 103 carcaças de bovinos abatidos em 3 abatedouros fiscalizados pelo Serviço de Inspeção Federal no estado de Minas Gerais. Em cada carcaça foram coletadas amostras superficiais pela técnica do esfregaço depois da sangria (ponto A), depois da esfolagem (ponto B), depois da evisceração e divisão da carcaça ao meio (ponto C) e antes da entrada na câmara de refrigeração (ponto D). As amostras foram submetidas a análises microbiológicas para enumeração de microrganismos indicadores de higiene (AM, EB, CT e EC, usando placas Petrifilm™), e pesquisa de *Listeria* spp. e *L. monocytogenes* (ISO 11.290-1). Os isolados caracterizados como suspeitos de *Listeria* spp. foram submetidos a um protocolo de PCR

multiplex para confirmação do gênero e identificação da espécie *L. monocytogenes*. Para todos os microrganismos indicadores enumerados foram verificadas diferenças significativas ($P < 0,05$) entre as contagens observadas no ponto A e as demais. AM apresentaram diferenças significativas ($P < 0,05$) de contaminação entre o ponto C e os outros pontos de coleta. CT mostraram diferenças significativas de contaminação ($P < 0,05$) entre os pontos B e C. Foram encontradas 28 carcaças positivas para *Listeria* spp. Entre estas, 4 foram positivas por *L. monocytogenes*. Houve uma significativa concentração da contaminação por *Listeria* spp. no ponto A ($P < 0,05$), sem diferenças significativas de contaminação entre os pontos considerando *L. monocytogenes* ($P > 0,05$). A ocorrência observada de *Listeria* spp. e *L. monocytogenes* foi menor que a observada na literatura consultada, assim como as contagens dos microrganismos indicadores de higiene. Esses resultados indicam que os frigoríficos analisados aplicam procedimentos higiênicos adequados nos processos de abate de bovinos e obtenção de carcaças, auxiliando a redução dos níveis de contaminação por microrganismos indicadores de higiene e ocorrência de *Listeria* spp. e *L. monocytogenes*.

ABSTRACT

LAFISCA, Andrea. M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, June, 2011. **Historical and critical analysis of Brazilian and European laws on beef production and analysis of hygiene indicator bacteria and *Listeria monocytogenes* on bovine carcasses during slaughtering process.** Adviser: Luís Augusto Nero. Co-adviser: Paulo Sérgio de Arruda Pinto

Bovine meat production is a fundamental sector of land business in Brazil. Brazil is the second world producer of beef and the first world exporter, to over one hundred countries worldwide. The preservation of these markets depend on the compliance to a broad set of laws established by the importing countries in order to preserve their herds health, consumer protection and to promote the consolidation of international market relationship. Importers countries legislation have always been a model for development of such norms in Brazil. European laws have always been an important model for Brazil, as Europe has been, until the end of the decade of 1990 the most important importer of Brazilian beef. Still today, even if Europe is no longer the most relevant market for Brazilian bovine meat, it requires attention as it pays more than the others to have Brazilian beef. Generally food safety laws are based on the application of worldwide known procedures such as the good handling procedures (GHP) and the Hazard Analysis and Critical Control Points (HACCP). The guarantee of microbiological safety of exported beef is certified through the direct search for pathogenic microorganisms or through the indirect search for hygiene indicating bacteria. The most commonly searched bacteria are the mesophilic aerobic count (AM), Enterobacteriaceae (EB), total coliforms (CT) and *Escherichia coli* (EC). For what concerns to pathogenic bacteria, *Listeria monocytogenes* stands out for its association to beef products and its high pathogenicity. From September, 2009, until November, 2010, we analysed 103 bovine carcasses slaughtered in 3 abattoirs in the state of Minas Gerais. In any carcass we collected swab samples after bleeding (A), after hide removal (B), after evisceration and carcass splitting (C) and after final washing, before chilling (D). The samples were analysed for the counting of indicating bacteria (AM, EB, CT, EC, using Petrifilm platesTM) and for the presence of *Listeria* spp. And *L. monocytogenes*, according to ISO 11.290-1 protocol. Those isolates, suspected to be *Listeria* spp. Were submitted to a multiplex PCR protocol for the confirmation of genus and the identification of *L. monocytogenes*. All indicating bacteria showed significant different concentration ($P < 0,05$) between the point A and the followings. AM also showed

significant different concentration between point C and the others ($P < 0,05$) and CT showed significant differences between points B and C ($P < 0,05$). We found *Listeria* spp. in 28 carcasses. Among these, 4 were positive for *L. monocytogenes*. The contamination for *Listeria* spp. was significantly concentrated at point A ($P < 0,05$). For the low number of isolates we couldn't find significant contamination points for *L. monocytogenes* ($P > 0,05$), even if it was more concentrated at point A than at the others. The indicating bacteria count and the prevalence of *Listeria* spp. and *L. monocytogenes* were lower than found in literature, indicating that in the abattoirs we analysed, good hygienic procedures are adopted during slaughtering and carcass processing, helping to obtain a proper reduction of indicating bacteria, *Listeria* spp. and *L. monocytogenes*.

INTRODUÇÃO GERAL

A carne bovina brasileira é atualmente exportada para mais de 100 países, representando um setor muito importante da agropecuária nacional e gerando uma receita significativa para o país. A história da exportação de carne do Brasil para países europeus é antiga, com início na segunda metade do século XIX pela comercialização de extrato de carne. Além das relações comerciais com países europeus, várias outras parcerias internacionais são freqüentemente firmadas, o que demanda constantes atualizações e adequações da legislação Brasileira relacionada à produção de carne bovina. Essas modificações são naturais uma vez que é necessário o atendimento a parâmetros internacionais de qualidade e segurança dos alimentos, características exigidas por consumidores e países importadores e em constante evolução. A qualidade e segurança microbiológica da carne bovina *in natura* são aspectos importantes da cadeia produtiva, já que esse produto é naturalmente susceptível a contaminação microbiana e um ótimo substrato para a multiplicação de diversos microrganismos, sejam deteriorantes ou patogênicos.

Entre os patógenos associados a carnes e que representam maiores riscos aos consumidores, *Listeria monocytogenes* possui grande destaque pela alta letalidade (acima de 20%), além de ser associada a abortos e encefalites. Esse patógeno está naturalmente presente no ambiente de processamento de carne bovina, principalmente em utensílios e equipamentos utilizados nas diferentes etapas de obtenção desse produto. A presença de *L. monocytogenes* em carcaças bovinas usualmente está associada a contaminações cruzadas, e o patógeno pode persistir inclusive em produtos finais, como cortes cárneos e derivados. Assim, estudos que identifiquem as origens da contaminação por *L. monocytogenes* em linhas de abate de bovinos são importantes para a adoção de medidas efetivas que visem o controle da contaminação dos produtos destinados ao consumo humano.

Considerando a importância da adequação de legislações para o comércio internacional de carne bovina e o potencial de contaminação microbiológica desse produto durante o processamento, a pesquisa apresentada nessa dissertação teve dois objetivos: 1) realizar uma análise crítica das legislações brasileira e europeia relacionadas a carne bovina, verificando similaridades, equivalências e possíveis associações, e 2) realizar um estudo microbiológico em linhas de abate de bovinos, visando a identificação dos principais pontos de contaminação de carcaças por *L. monocytogenes*, além de enumeração de microrganismos indicadores de higiene.

OBJETIVOS

- 1) Realizar uma análise crítica e um estudo histórico de legislações européias e brasileira sobre a cadeia de produção e comercialização de carnes bovinas, procurando associações, equivalências entre as normas e analisando o impacto da promulgação de novas normas sobre as exportações de carne de gado para a União Europeia.
- 2) Realizar um estudo detalhado da contaminação microbiana nos principais pontos da linha de abate de bovinos, verificando a contaminação das carcaças por microrganismos indicadores de higiene (aeróbios mesófilos; Enterobacteriaceae; coliformes totais e *Escherichia coli*), *Listeria spp.* e *Listeria monocytogenes*.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1. PRODUÇÃO DE CARNE BOVINA NO BRASIL

Desde o início do século XXI a economia brasileira vem apresentando um desenvolvimento relevante, permitindo a expansão de diversos setores para o mercado externo, como o cosmético, combustível e vestuário. Nesse cenário, o setor agropecuário brasileiro possui grande destaque. O Brasil é considerado o “celeiro do mundo” devido a sua grande extensão territorial e significativa produção agropecuária (Monteiro e Pregnaca, 2010; Anônimo, 2010a, 2010b, 2010c), que coloca o país entre os maiores produtores mundiais de produtos agrícolas, como soja e suco de laranja, e produtos de origem animal, como leite e carne.

A carne bovina é um setor muito importante da produção agrícola nacional. Entre 1994 e 2009 houve um crescimento na produção de aproximadamente cinco para mais de nove milhões de toneladas. A maioria da carne bovina produzida no país é consumida internamente, sendo o restante destinado principalmente para a exportação (Figura 1). O volume de carne bovina exportado pelo Brasil apresentou um crescimento relevante desde 1994, porém a partir de 2006 ocorreu uma queda provavelmente devido a crise econômica mundial que reduziu a disponibilidade de recursos financeiros.

Atualmente o Brasil é o segundo maior produtor mundial de carne bovina, sendo responsável por 15% da produção, inferior apenas à produção dos Estados Unidos, que em 2009 foi de 11 milhões de toneladas (19%). Entretanto, o Brasil é o maior exportador desse produto, com acordos comerciais com mais de 100 países e com um volume de exportação superior a 7,5 milhões de toneladas por ano. Os principais destinos da carne bovina brasileira e seus derivados são 10 países (Rússia, Irã, Hong Kong, Egito, Itália, Venezuela, Reino Unido, Holanda, Arábia Saudita e Israel), que juntos são responsáveis por mais de 75% da receita gerada pelas exportações (Figura 2) (ABIEC, 2011).

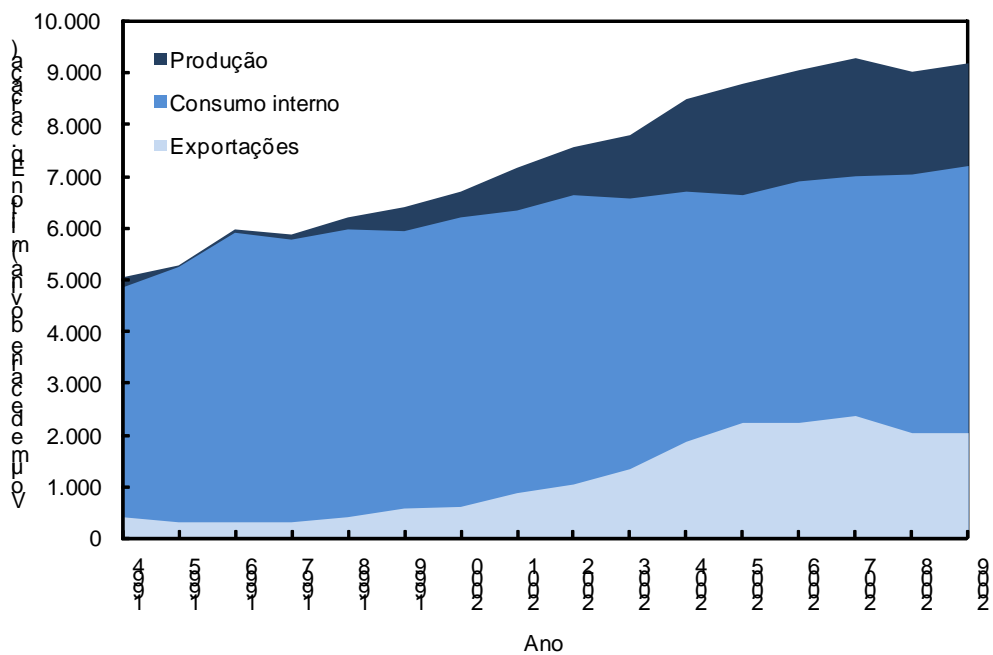


Figura 1. Evolução da produção, consumo interno e exportações de carne bovina brasileira, entre 1994 e 2009 (Fonte: IBGE e SECEX/MDIC, em ABIEC, 2011).

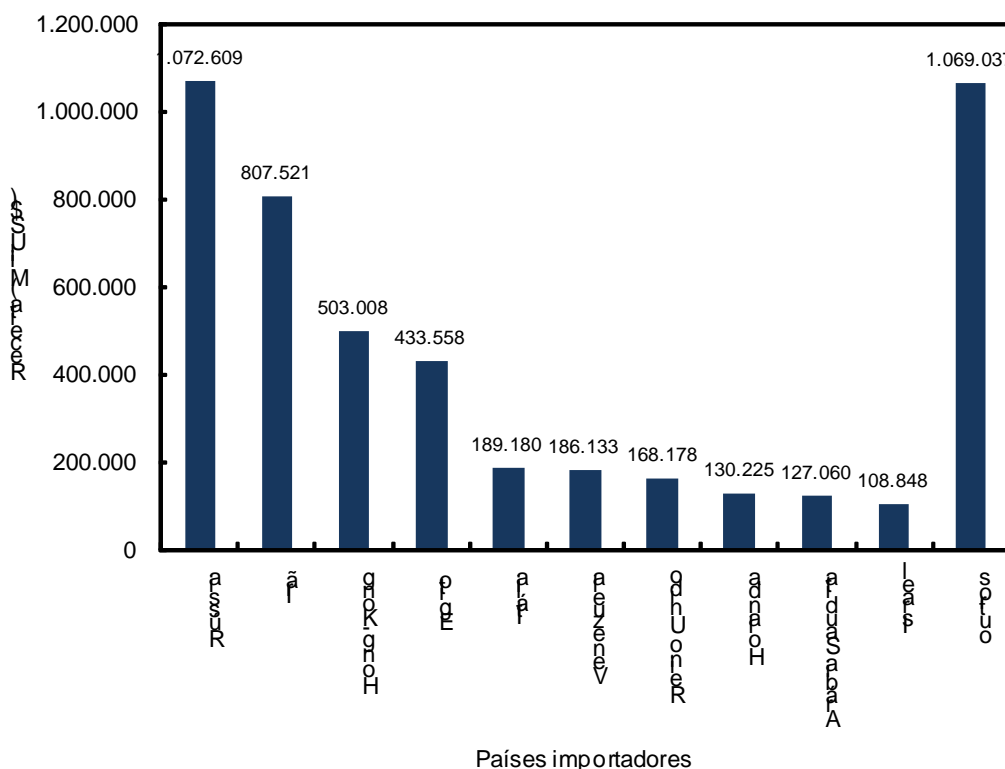


Figura 2. Receita total (Mil US\$) gerada a partir das exportações de carne bovina e derivados produzidos no Brasil e adquiridos pelos principais países importadores em 2010 (ABIEC, 2011).

Os principais produtos exportados para esses países são carnes *in natura* refrigeradas e congeladas (77% do volume total, e 81% da receita gerada, em 2010), carnes processadas (10% do volume e receita), miúdos (7% do volume, e 4% da receita), e tripas e carnes salgadas (6% do volume e 5% da receita) (ABIEC, 2011). Considerando os cinco principais importadores de carne bovina brasileira (Rússia, Irã, Hong-Kong, Egito e Itália), podem ser verificadas diferenças relevantes entre os principais produtos adquiridos, bem como a renda específica gerada nesse comércio (Tabela 1). Analisando esses dados, é possível identificar o destaque econômico que a Itália possui, devido a alta valorização dos produtos cárneos adquiridos.

Tabela 1. Renda, volume e preço pago por tonelada dos principais produtos cárneos brasileiros importados pelos cinco maiores parceiros comerciais em 2010 (ABIEC, 2011).

País	Ítem*	Carne bovina					
		total	<i>in natura</i>	fresca e	congelada	industrializada	miúdos, tripas
Rússia	Renda	1.072.609	1.023.431	394	1.023.037	443	48.735
	Volume	295.176	284.909	69	284.840	97	10.170
	Valor/Ton	3.634	3.592	5.702	3.592	4.556	4.792
Irã	Renda	807.531	807.321	121	807.200	0	210
	Volume	191.255	191.181	24	191.157	0	74
	Valor/Ton	4.222	4.223	4.967	4.223	0	2.828
Hong Kong	Renda	503.008	235.278	180	235.097	305	267.426
	Volume	165.496	66.722	57	66.665	121	98.652
	Valor/Ton	3.039	3.526	3.161	3.527	2.516	2.711
Egito	Renda	433.558	409.960	0	409.960	15.934	7.665
	Volume	172.748	113.228	0	113.228	4.601	4.918
	Valor/Ton	3.532	3.621	0	3.621	3.463	1.558
Itália	Renda	189.180	141.935	33.223	108.712	39.496	7.749
	Volume	29.693	18.697	3.706	14.991	8.876	2.120
	Valor/Ton	6.371	7.591	8.964	7.252	4.450	3.656

* Renda: em mil US\$; Volume: em toneladas; Valor/Ton.: US\$/Ton

O Brasil conseguiu acessar esses novos mercados, principalmente por conseguir produzir carne bovina a baixo custo, uma vez que a produção é caracterizada por ser tipicamente extensiva, além da valorização da moeda nacional desde 2007 (de Carvalho et al., 2008). Outro importante fator para o sucesso das exportações brasileiras de carne bovina foi a queda na produção e comércio de carne bovina argentina (Brown, 2010), o que permitiu a abrangência do produto nacional em mercados originalmente ocupados por

aquele país.

De forma geral, os países europeus são importantes parceiros comerciais do Brasil em relação à carne bovina. Entretanto, essa parceria foi mais relevante na década de 1990, quando a Europa era o principal importador de carne bovina brasileira, absorvendo aproximadamente 65% das exportações. Atualmente os países europeus adquirem menos que 10% das exportações brasileiras de carne bovina (Figuras 3 e 4). Mesmo não sendo os maiores importadores, os países europeus são os que mais valorizam a carne bovina brasileira no mercado internacional, o que indica a relevância desses parceiros comerciais para o Brasil nesse setor (Figura 5). Essa relevância já foi comentada anteriormente, quando foi ilustrada a valorização dos produtos cárneos brasileiros pela Itália (Figura 2, Tabela 1).

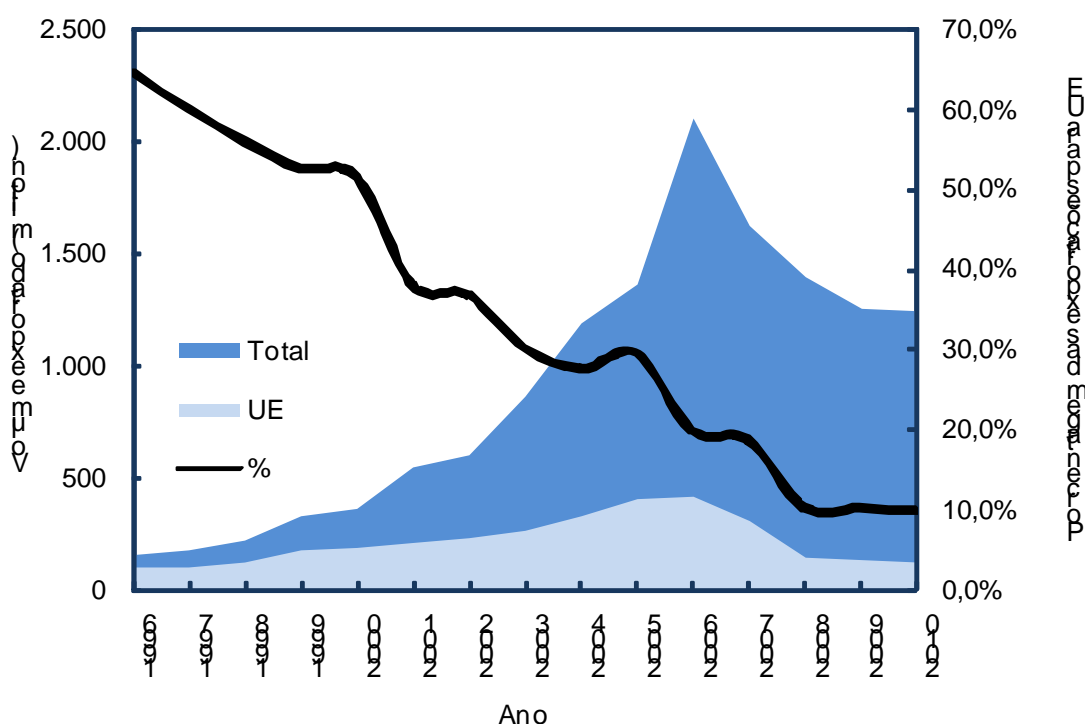


Figura 3. Evolução dos volumes de exportações de carne bovina brasileira total e destinados a países europeus (gráficos em áreas), e percentuais dessa relação (linha), entre 1996 e 2010 (ABIEC, 2011).

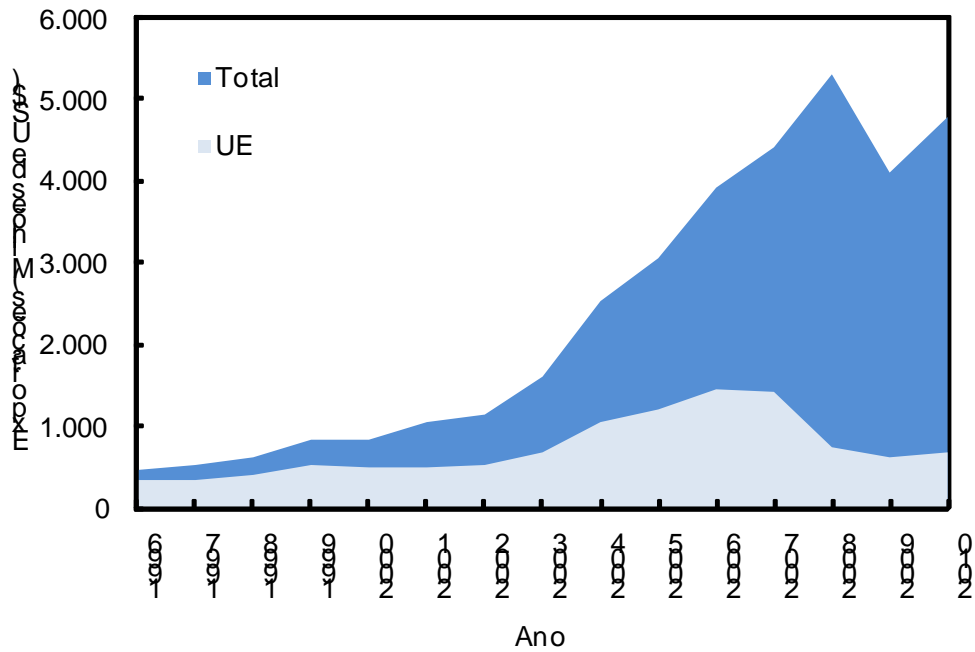


Figura 4. Evolução da receita gerada (em Milhões de US\$) pelas exportações de carne bovina brasileira para todos os parceiros comerciais (área em azul escuro) e para os países europeus (área em azul claro), entre 1996 e 2010 (ABIEC, 2011).

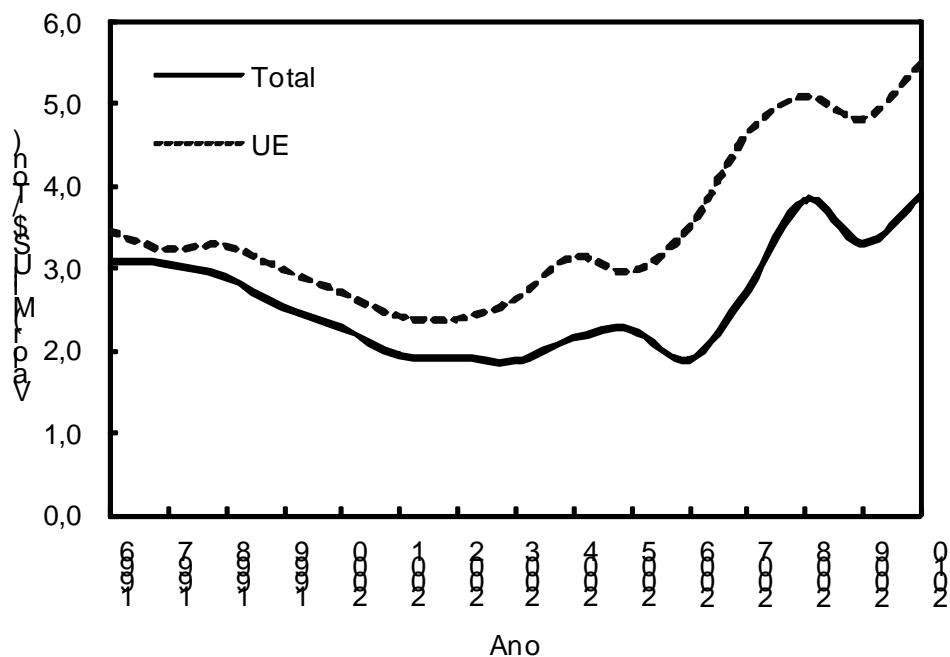


Figura 5. Evolução do valor pago pela carne bovina brasileira para todo o mercado importador (linha contínua) e para países europeus (linha tracejada), entre 1996 e 2010 (em mil US\$ por ton., ABIEC, 2011).

Comparando historicamente a evolução das exportações brasileiras de carne bovina para países europeus com o total (Figuras 3 e 4), é possível identificar dois pontos relevantes: entre 1998 e 2002, e a partir de 2006. Entre 1998 e 2002 houve um moderado acréscimo das exportações brasileiras de carne bovina, porém sem alteração relevante nos rendimentos dessa atividade. Nesse período, houve uma variação no valor aproximado do quilo da carne bovina de US\$ 3,28 a US\$ 2,38 (Figura 5). Essa variação pode ter sido ocasionada pelos surtos de encefalopatia espongiforme bovina (BSE) que ocorreu nesse período na Europa, determinando descarte de diversos animais e estimulando o aumento das importações de carne bovina do Brasil. Entretanto, a percepção do perigo de transmissão do agente etiológico da BSE pela carne bovina determinou uma queda significativa do consumo desse produto na população europeia (Pennings et al., 2002), o que pode explicar sua desvalorização (Figura 5).

Já a partir de 2006 pode ser observada uma redução relevante do volume de exportações de carne bovina do Brasil para países europeus, assim como a receita gerada a partir dessa atividade (Figuras 3 e 4). A partir desse período ocorreu uma valorização da moeda brasileira no mercado internacional, além do estabelecimento de novas parcerias comerciais, determinando um aumento da demanda global de carne bovina brasileira. Finalmente, a redução da demanda de carne bovina brasileira nos países europeus também pode ser reflexo da crise econômica que tem afetado a Europa desde a crise dos bancos de 2005. Apesar da redução relevante do volume e renda gerada a partir das exportações de carne bovina para os países europeus a partir de 2006, a valorização desse produto por esse mercado continuou a evoluir. É possível identificar claramente que o valor pago pela tonelada de carne bovina é maior quando se considera apenas a parcela destinada a países europeus, comparado com o total (Figura 5).

2. LEGISLAÇÕES RELACIONADAS A PRODUÇÃO DE CARNE BOVINA NO BRASIL

Considerando a relevância da carne bovina para a economia brasileira, é necessário que as normas que regulamentam a sua produção sejam bastante precisas e detalhadas, a fim de garantir um controle efetivo de toda a cadeia produtiva. O objetivo final a ser atingido é a obtenção de produtos com características que atendam as expectativas dos consumidores, principalmente em relação a qualidade e segurança. Por ser um produto de origem animal, a carne bovina está sujeita a constantes contaminações durante toda a cadeia produtiva, sejam por substâncias químicas ou mesmo

microrganismos, que podem comprometer a qualidade dos produtos finais e a saúde dos consumidores. Assim, as normas previstas para produção de carne bovina têm como objetivo o controle sistemático de sua qualidade e segurança, visando atender esses objetivos.

As primeiras normas brasileiras relacionadas à produção de carne bovina foram publicadas na década de 1910, quando o processamento industrial desse produto foi iniciado (Decreto 11462/1915, Pardi, 1996): instituição do serviço nacional de inspeção às indústrias de produtos de origem animal. Nesse período as primeiras indústrias de abate de bovinos e processamento de carne foram inauguradas no Brasil, no interior do Estado de São Paulo, mais especificamente no município de Barretos. Essas empresas eram multinacionais norte americanas e européias, principalmente francesas e inglesas. A primeira empresa foi a *Companhia Frigorífica e Pastoril*, que foi inaugurada em 1913 e posteriormente mudou seu nome para *Frigorífico Anglo*, e visava o abastecimento do mercado inglês. Além dessa empresa, outras como *Liebig Extract of Meat Company*, *Wilson & Company*, e *Continental Products Company* (controlada pelo grupo Schwartzchild & Salzberger, dos Estados Unidos) (Silva e Szmrecsány, 1996) escolheram o interior do Estado de São Paulo para suas instalações devido à relevante produção de bovinos, e do acesso facilitado por redes rodoviárias e ferroviárias, que permitiam a melhor logística entre as áreas de criação e processamento dos animais com os portos. Os principais produtos processados eram carnes enlatadas, congeladas e secas, que eram obtidos visando principalmente o abastecimento do mercado europeu (Pardi, 1996).

O início da primeira guerra mundial impulsionou o processamento de carne bovina no Brasil, que passou a ser o principal fornecedor desse produto às tropas aliadas nos combates na Europa. Como existia uma grande preocupação com a segurança microbiológica da carne bovina que era exportada, as indústrias começaram a procurar atender a vários parâmetros de qualidade e higiene durante o processamento, segundo recomendações dos países importadores europeus. Esses parâmetros europeus de higiene e qualidade foram as principais referências para a elaboração das primeiras normas brasileiras para produção de alimentos, publicadas em 1915 (Decreto 11462) (Pardi, 1996). Em seguida foi organizado o Serviço da Indústria Pastoril do Ministério da Agricultura (atualmente Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA) pelo Decreto 14711 (Pardi, 1996), que tinha como função organizar normas gerais para produção de alimentos de origem animal no Brasil, especificamente produtos cárneos e lácteos. A partir daí, várias legislações foram publicadas buscando a padronização dos procedimentos

industriais de abate e obtenção de produtos cárneos, como a Portaria Ministerial de 30 de novembro de 1921, que determinava Instruções para Regerem a Inspeção Federal de Frigoríficos, Fábricas e Entrepostos de Carnes e Derivados (Brasil, 1921a), e o Decreto 20550, que descrevia procedimentos específicos para fiscalização de estabelecimentos produtores de carnes e derivados, e parâmetros de qualidade, baseados pela primeira vez em conceitos científicos (Pardi, 1996).

Embora várias normas tenham sido publicadas como referência para os processos industriais de obtenção de alimentos, inclusive produtos cárneos, apenas em 1950 que a obrigatoriedade da fiscalização oficial de indústrias de alimentos de origem animal foi regulamentada, através da Lei 1283 (Brasil, 1950). Nessa lei ficou determinado que a fiscalização desses estabelecimentos passou a ser atribuição do Ministério da Agricultura, e que poderia ser realizada por órgãos federais, estaduais ou municipais, dependendo da abrangência do comércio dos produtos finais. Entretanto, vários problemas começaram a ser observados principalmente em indústrias fiscalizadas por agentes estaduais e municipais, o que determinou a publicação da Lei 5760 em 1971 (Pardi, 1996), onde ficou determinado que apenas o Serviço de Inspeção Federal seria responsável pela fiscalização. Após essa fase, em 1989 foi publicada a Lei 7889 que descentralizou novamente o Serviço de Inspeção, situação que ocorre até os dias atuais.

Considerando ainda a Lei 1283 (Brasil, 1950), era prevista a elaboração de um conjunto de normas específicas que seriam utilizadas como referência para a fiscalização adequada dos estabelecimentos industriais produtores de alimentos de origem animal. Assim, em 1952, através do decreto 30691 (Brasil, 1952), o Ministério da Agricultura publicou o Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária dos Produtos de Origem Animal (RIISPOA), estabelecendo normas específicas de produção e padrões de segurança para todos os alimentos de origem animal produzidos no Brasil. Essa legislação ainda é vigente, apesar de várias modificações e adequações, e é a base da legislação higiênica dos alimentos no Brasil, cobrindo assuntos relacionados à qualidade, segurança e resíduos em alimentos, rastreabilidade, saúde e bem-estar dos animais, principalmente durante o transporte e o abate. As constantes adequações e atualizações são necessárias devido aos avanços científicos na área de ciência dos alimentos, além de estabelecimento de diversas parcerias comerciais internacionais, demandando padronização de procedimentos e, até mesmo, termos utilizados.

As normas oficiais relacionadas a produção de alimentos de origem animal devem abranger todos os pontos da cadeia produtiva. Assim, normas relacionadas a sanidade dos

animais produtores são fundamentais para garantia da segurança microbiológica da carne bovina, uma vez que deve ser previsto o controle de enfermidades e agentes patogênicos que possam ser transmitidos aos seres humanos. Nesse contexto, o controle de zoonoses no rebanho bovino é fundamental, com destaque para brucelose e tuberculose. A legislação brasileira sobre o controle destas enfermidades no rebanho bovino tem origem na década de 1930, quando o Decreto 24548, de 3 de julho de 1934 (Brasil, 1934) visava o controle sanitário de animais produtores e conseqüentemente garantia do mercado internacional de animais vivos e produtos de origem animal. Já na década de 1970, a Portaria 23 (Brasil, 1976) determinou normas para a profilaxia da brucelose animal, utilizando como referência a Diretiva EEC 432 (EEC, 1964), publicada na Europa em 1964 (*on animal health problems affecting intra-Community trade in bovine animals and swine*). Finalmente, em 2001 o MAPA publicou a Instrução Normativa 2, que institui o Plano Nacional de Controle e Erradicação de Brucelose e Tuberculose Animal (Brasil, 2001a).

Recentemente novas zoonoses foram identificadas em bovinos, afetando fortemente o mercado da carne no mundo inteiro. Os surtos de BSE ocorridos entre as décadas de 1980 e 1990 na Europa chamaram a atenção dos consumidores sobre a importância do controle adequado da sanidade dos animais produtores e conseqüentemente da segurança da carne bovina. Os países da União Européia reagiram a essa “crise” iniciando em 1999 uma verdadeira revolução nas legislações, promovendo um processo de atualização e revisão de diversas normas relacionadas a higiene e segurança dos alimentos. Essa situação gerou alguns reflexos no Brasil, principalmente em relação a volume de exportações de carne bovina para países europeus (como mencionado anteriormente), mas também em relação a legislações. À medida que a BSE passou a ser motivo de preocupação na Europa, os países importadores passaram a exigir garantias de que a carne bovina brasileira fosse isenta de príons, os fatores determinantes da enfermidade. Considerando isso, o MAPA publicou em 1993 a Instrução Normativa 2 (Brasil, 1993, MAPA, 2011), estabelecendo medidas para evitar a entrada da BSE no Brasil, e uma possível disseminação da enfermidade no rebanho bovino, apesar do baixo risco de contaminação devido a alimentação dos animais ser predominantemente a pasto, ou seja, de origem vegetal e com baixo uso de concentrados proteicos.

Outro aspecto relevante na produção de carne bovina, que demanda normas específicas, é o controle da higiene durante as etapas de abate de bovinos e obtenção dos produtos finais. A partir da década de 1990 houve uma intensificação do comércio global de alimentos, determinando a necessidade de padronização de procedimentos higiênicos

durante as diferentes etapas da cadeia produtiva, com o objetivo de facilitar os intercâmbios internacionais entre países importadores e exportadores. A padronização de procedimentos higiênicos gerais, o que garante a qualidade e segurança dos alimentos, é o objetivo do Acordo Sanitário e Fitosanitário (*Sanitary and Phyto-sanitary Agreement*, SPS), assinado em 1994 pelos países membros da Organização Mundial do Comércio (*World Trade Organization*, WTO, 2011). Como resultado desse acordo, os países signatários rapidamente regulamentaram a adoção de ferramentas de controle de contaminação durante a cadeia produtiva dos alimentos, como as Boas Práticas de Fabricação (*Good Manufacturing Practices*, GMP) e Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (*Hazard Analysis and Critical Control Points*, HACCP). Apesar de serem abrangentes para todos os tipos de alimentos, essas ferramentas possuem evidente aplicação na cadeia produtiva de carne bovina, sendo fundamentais para garantia da qualidade e segurança dos produtos finais e consolidação de acordos comerciais.

No Brasil, as Portarias 326 e 368 (Brasil, 1997a, 1997b) estabeleceram os requisitos gerais de higiene e implantação de procedimentos sistematizados de GMP em indústrias de alimentos destinados ao consumo humano. No ano seguinte, foi estabelecido pela Portaria 46 que todas essas mesmas indústrias adotassem a ferramenta HACCP como medida de controle sistemático da contaminação durante a cadeia produtiva, visando a garantia da qualidade e segurança microbiológica dos produtos finais (Brasil, 1998). A relevância dessas duas ferramentas foi reforçada em 2006, com a organização do Sistema Unificado de Atenção à Sanidade Agropecuária (SUASA), onde ficou estabelecida a importância da “*aplicação geral dos procedimentos baseados no sistema de análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle e Análise dos Riscos*” (Brasil, 2006). Na Europa essas ferramentas possuem relevância para a garantia da qualidade e segurança dos alimentos, da mesma forma que ocorre no Brasil. GMP e HACCP passaram a ser oficialmente adotadas em diversos países europeus no início da década de 1990, com a Diretiva 93/43 sobre higiene dos alimentos (EEC, 1993), tornando-se um ponto chave em programas estratégicos de segurança alimentar, principalmente com a nova legislação alimentar europeia formada pelo Reg. CE 178/2002 e leis seguintes (EC, 2002). Em complementação, o SUASA também determinou a possibilidade da equivalência entre os Serviços de Fiscalização previstos no Brasil, onde estabelecimentos registrados em órgãos Estaduais ou Municipais podem requerer equivalência Federal, aumentando a abrangência de comercialização de seus produtos (Brasil, 2006).

Além da preocupação na cadeia produtiva dos alimentos, a qualidade e segurança

dos produtos disponíveis para os consumidores também recebem grande atenção dos órgãos reguladores e fiscalizadores brasileiros. Após as etapas industriais de beneficiamento, os alimentos destinados ao consumo humano também devem ser fiscalizados em seus pontos comerciais. Nesses locais, a fiscalização desses alimentos é uma atribuição do Ministério da Saúde, que executa essa atividade através de seus agentes sanitários vinculados à Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Considerando a necessidade de evitar a contaminação por patógenos, a Instrução Normativa 9 (Brasil, 2009) do MAPA determinou o controle de *Listeria monocytogenes* em alimentos prontos para o consumo (termo adotado do inglês: *ready-to-eat*), seguindo as recomendações do *Codex Alimentarius* (Codex Alimentarius, 2007). A ANVISA também determina parâmetros específicos de qualidade e segurança, que são publicados oficialmente e utilizados como referência por seus agentes. Uma importante legislação publicada pela ANVISA é a Resolução-RDC n. 12 (Brasil, 2001b), que estabeleceu padrões microbiológicos de qualidade e segurança alimentar para diversos alimentos, inclusive produtos cárneos. Em relação a esses produtos, é previsto o controle de *Salmonella* spp. em carne bovina (resfriada ou congelada) e produtos cárneos (ausência em 25 g), e contagens inferiores a 10^4 coliformes termotolerantes por g de carne bovina crua preparada.

3. PROCESSAMENTO DE CARNE BOVINA

A transformação de tecidos musculares de bovinos em carne é um processo complexo, determinado por várias reações enzimáticas que ocorrem logo após o abate dos animais. De forma simplificada, as etapas necessárias para essa transformação são a interrupção da circulação sanguínea; queda no fornecimento de oxigênio as massas musculares e consequente passagem de um metabolismo aeróbio a um anaeróbio, com liberação de ácido láctico e redução do pH de 7,4 a 5,6; liberação de cálcio intra-celular, com consequente instauração de “*rigor mortis*”; desnaturação das proteínas musculares e a liberação de catepsinas, com consequente finalização do processo de “*rigor mortis*” e aumento gradual do pH. Após esses processos, os tecidos musculares passam a ser denominados como carnes, que por definição do RIISPOA (Brasil, 1952) são:

“massas musculares maturadas e demais tecidos que as acompanham incluindo ou não a base óssea correspondente, procedentes de animais abatidos sob inspeção veterinária”

A definição de carnes pela legislação europeia é descrita no Regulamento EC 853/2004 (EC,2004), e difere por não ser prevista a necessidade de transformação do músculo em carne, ou especificação do tipo de tecido que compõe esta matéria alimentar:

“Carne: as partes comestíveis dos animais referidos nos pontos 1.2 a 1.8. (diferentes espécies animais), incluindo o sangue”

O processo de abate industrial de bovinos, apesar de ser realizado em instalações mecanizadas, demanda a atuação direta de funcionários e técnicos habilitados a manipular animais e produtos cárneos derivados nas diferentes etapas de processamento. Em linhas gerais, o processo de abate e obtenção de produtos cárneos segue a seguinte seqüência: recepção de animais e inspeção *ante-mortem* dos lotes, descanso, jejum e fornecimento de água, atordoamento, pendura pelo membro traseiro, sangria, remoção dos membros anteriores, esfola da região perianal e dos membros posteriores, oclusão e liberação do esôfago, remoção completa da pele, liberação e oclusão do ânus, remoção da cabeça, abertura do esterno e cavidade abdominal evisceração, divisão da carcaça em duas meias carcaças, remoção da medula, toailete, pesagem e avaliação, lavagem com água potável, avaliação final do Serviço de Inspeção, refrigeração em câmara fria (0 a 2 °C) por 24 h para maturação por reações enzimáticas, e finalmente separação em cortes para obtenção de peças destinadas a comercialização (McEvoy et al., 2004; Fernandes, 2009; Brasil, 1998). O fluxograma de todos os processos de abate de bovinos, inspeção e processamento da carne bovina são ilustrados na Figura 6.

Considerando as várias etapas previstas, os produtos cárneos são naturalmente susceptíveis a contaminação microbiológica, decorrentes dos próprios animais produtores e mesmo do ambiente de processamento em abatedouros e frigoríficos. Assim, um controle higiênico eficiente deve ser adotado sistematicamente, conforme previsto por legislações nacionais (Portarias 326 e 368, Brasil, 1997a, 1997b), e compatível com a realidade de mercado e atual demanda dos consumidores por qualidade e segurança. Nesse contexto, as ferramentas de GMP e HACCP são extremamente importantes para auxiliar o controle de contaminação, além de permitir o monitoramento de pontos chave da linha de abate onde a contaminação microbiológica pode ser mais relevante.

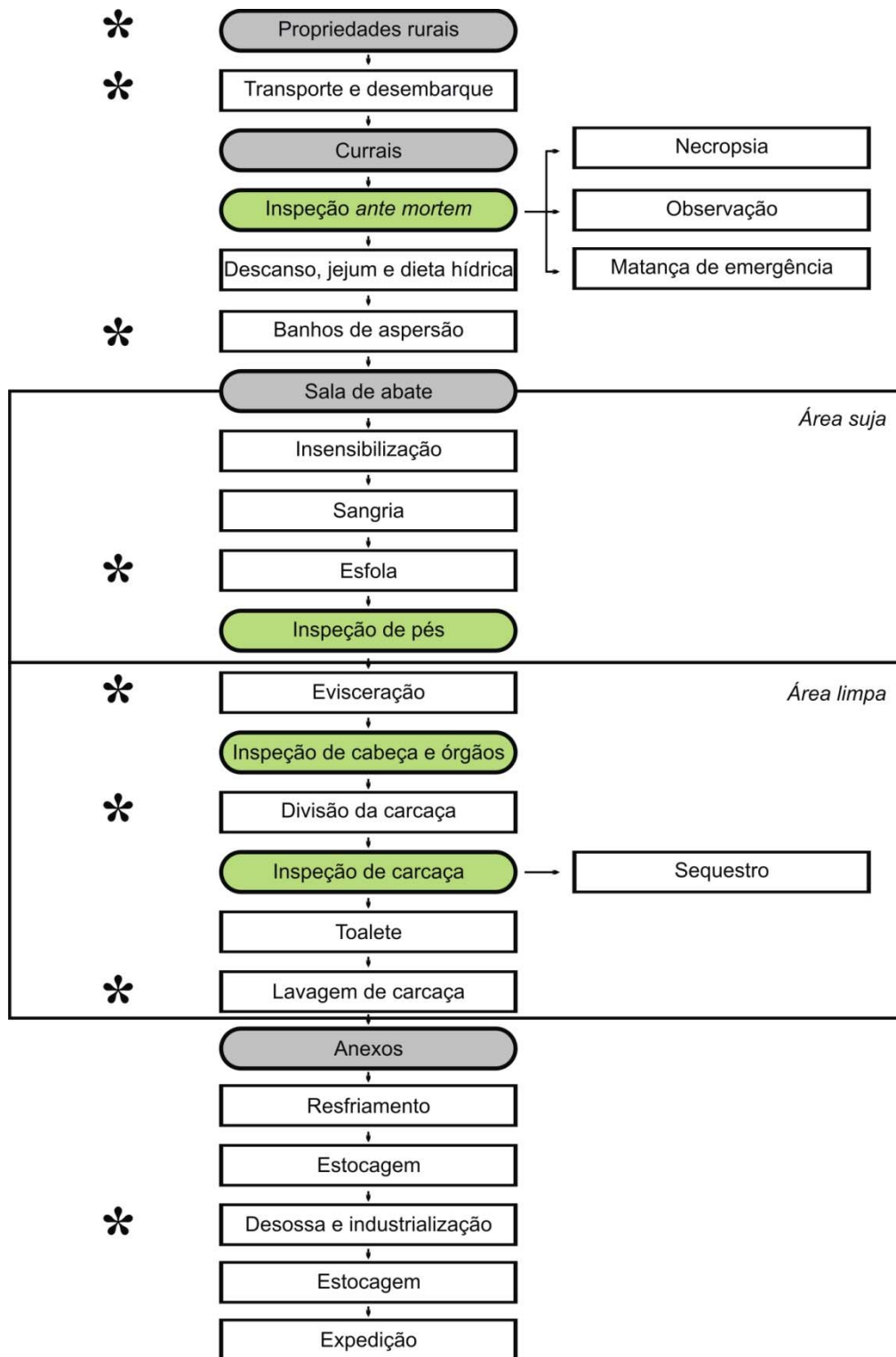


Figura 6. Principais etapas dos processos de abate de bovinos, inspeção e processamento de carne bovina (adaptado de Pinto, 2008 e Gomide et al., 2006). Figuras em cinza indicam instalações, figuras em verde as etapas de inspeção, e figuras em branco as operações. Os asteriscos do lado esquerdo indicam os principais pontos de contaminação microbiológica dos processos.

As principais origens dos microrganismos patogênicos e deteriorantes são contaminações cruzadas originadas da pele e vísceras dos animais. A partir de um ponto inicial de contaminação, pode ocorrer uma distribuição para áreas limpas onde os microrganismos podem se multiplicar e representar novos focos de contaminação. A redução do nível de contaminação microbiológica em um ponto determinado da carcaça bovina pode ocorrer tanto por redistribuição como por remoção (Gill et al., 1996). Durante o abate, os principais pontos de contaminação de carcaças bovinas são: contaminação cruzada por contato direto nos animais ainda vivos; contato da superfície externa da pele com as massas musculares durante a esfolagem; ruptura de alças intestinais durante a evisceração; manipulação inadequada de carcaças, determinando contaminações por mãos, utensílios ou instalações mal higienizadas (Jordan et al., 1999; Bolton et al., 2001).

A redistribuição dos microrganismos usualmente ocorre pelo contato direto de carcaças contaminadas com limpas, e lavagem no final do processo de abate (Bolton et al., 2001). A redistribuição dos microrganismos tende a acontecer principalmente nos pontos mais baixos da carcaça, como o pescoço e o peito, devido ao escoamento da água de lavagem, ou nos pontos mais expostos, como a região da paleta. A remoção da contaminação microbiológica pode ocorrer durante a remoção mecânica das áreas sujas ou durante a lavagem final da carcaça. Na Figura 6 também são ilustrados os principais pontos de contaminação microbiológica em carcaças bovinas e produtos finais.

Considerando essas etapas de processamento, Bolton et al. (2001) descreveram alguns pontos que podem ser considerados críticos para a contaminação microbiológica: a entrada dos animais na linha de abate depois do atordoamento e da sangria; a esfolagem (contaminação das carcaças com microrganismos presentes na pele); a evisceração (contaminação da carcaça com conteúdo intestinal); a divisão das carcaças inteira em duas metades e a lavagem final (descontaminação da carcaça através do jato de água, avaliação da higiene geral de processo). Cada um destes pontos pode ser considerado um ponto crítico de controle (PCC) do processo de abate, analisando a contaminação visível das carcaças.

Embora não sejam geralmente considerados *pontos críticos de controle* nos planos de HACCP dos frigoríficos, nessas etapas é possível, além da avaliação visual da contaminação por resíduos de fezes ou de conteúdo intestinal, o monitoramento sistemático de microrganismos indicadores de higiene e patógenos, garantindo informações extremamente úteis no controle da contaminação microbiológica das carcaças bovinas. A partir desses dados, é possível estabelecer um sistema de monitoramento eficaz, utilizando

como referência níveis de contaminação microbiológica que podem ser considerados indicadores de problemas ou falhas no processamento (Gill et al., 1995; Gill e Jones, 2000). Mesmo que esse monitoramento não seja realizado continuamente, atividade que seria a ideal para um controle efetivo da contaminação, uma verificação periódica fornece dados relevantes para avaliar a eficiência de programas de qualidade, como HACCP e GMP.

4. CONTAMINAÇÃO MICROBIANA EM PRODUTOS CÁRNEOS

As carcaças bovinas e produtos cárneos possuem vários nutrientes que podem servir como substratos para a multiplicação de microrganismos. A glicose e os outros carboidratos presentes nos músculos são os primeiros substratos a serem utilizados pelos microrganismos. Gradativamente, esgotando-se os carboidratos, ocorre o início da utilização de fontes protéicas, presentes em quantidades abundantes. A partir de contaminações de 7,0 - 8,0 log/cm² a descarboxilação de lisina, ornitina e arginina determina a formação de aminas responsáveis de odores desagradáveis na carne (cadaverina e putrescina). Contaminações superiores a esses valores determinam a formação de limosidade na superfície desses produtos e a liberação de H₂S ou NH₃, causando um aspecto repugnante e incompatível com o consumo humano (Jay, 2005).

Devido às conseqüências determinadas pela multiplicação bacteriana, as baixas temperaturas são as mais adequadas para manter a qualidade dos produtos cárneos, por inibir o desenvolvimento da maioria dos microrganismos deteriorantes. Entretanto, alguns grupos de microrganismos conseguem se desenvolver nessas temperaturas, os psicrotróficos, e podem ser encontrados em produtos cárneos determinando deterioração ou mesmo representado perigos aos consumidores. Entre os principais psicrotróficos usualmente associados a produtos cárneos, *Pseudomonas* spp. e *Listeria monocytogenes* possuem destaque.

Independente da importância dos psicrotróficos nos produtos cárneos, vários outros grupos de microrganismos devem ser pesquisados por fornecerem informações importantes sobre as condições higiênicas de produção na linha de abate, além das condições de conservação e estocagem desses produtos. Buchanan (2000) divide a pesquisa de microrganismos em alimentos em duas classes: a pesquisa direta de microrganismos potencialmente patogênicos, que é uma avaliação da segurança; e a pesquisa indireta por indicadores que mostram as condições higiênicas de produção e

podem sugerir a presença de patógenos. Essa pesquisa indireta pode ser realizada de duas formas: através da avaliação de microrganismos indicadores da presença de patógenos específicos, e pela avaliação de microrganismos indicadores de higiene, que revelam possíveis condições as quais o alimento foi exposto e que permitem o desenvolvimento de patógenos. Um exemplo bem evidente do primeiro grupo são as espécies não patogênicas do gênero *Listeria*, que indicam a potencial presença da espécie patogênica *L. monocytogenes*. Em relação ao segundo grupo, os principais exemplos são os microrganismos usualmente pesquisados no controle de qualidade dos alimentos, como aeróbios mesófilos, coliformes, enterobactérias, e os psicrotróficos. Para um controle efetivo dos processos higiênicos de produção, esses grupos de microrganismos são usualmente enumerados nos alimentos, e mesmo em pontos chave do processamento, e comparados com parâmetros de referência que indicam diferentes condições de produção.

A enumeração de aeróbios mesófilos fornece uma estimativa da população geral de microrganismos presentes nos produtos cárneos, independentemente destes serem patogênicos ou não. Altos níveis de contaminação estão associados à baixa qualidade dos produtos e a condições higiênicas inadequadas de processamento da matéria-prima (Gill et al., 1998; Jay, 2005) ou estocagem em temperaturas elevadas. Gill (1996) pesquisou quais são os principais gêneros microbianos constituintes da microbiota de carne bovina refrigerada e identificaram principalmente Gram negativos (gêneros *Acinetobacter*, *Aeromonas*, *Moraxella*, *Pseudomonas*, *Psychrobacter*), e pequena participação de Gram positivos (principalmente o gênero *Enterococcus*) (Jay, 2005). Ainda, enterobactérias, lactobacilos e *Bronchothrix thermosphacta* são também encontrados em carne bovina, porém em baixas concentrações.

Coliformes são considerados bons indicadores das condições higiênicas de produção dos alimentos, sendo *Escherichia coli* a principal espécie indicadora desse grupo (Eisel et al., 1997; Jay, 2005). Segundo a legislação americana, a pesquisa de *E. coli* em carcaças bovinas é obrigatória, por sugerir a possível contaminação por patógenos de origem entérica (USDA, 1996). A legislação européia (Reg. EC 1441, EC 2007) determina que carcaças de bovinos, equinos, caprinos e ovinos, devem ser avaliadas quanto à contaminação por aeróbios mesófilos e enterobactérias após o final do processo de abate e antes do resfriamento, visando o monitoramento da higiene geral dos procedimentos e das possíveis contaminações cruzadas. No Brasil, a Resolução 12 (Brasil, 2001b) não determina limites para a contaminação de carcaças bovinas por microrganismos indicadores de higiene (Barros et al., 2007), e menciona apenas a ausência de *Salmonella*

spp. em 25 gramas das amostras a serem analisadas. Entretanto, para outros produtos cárneos a mesma legislação (Brasil, 2001) determina a pesquisa de diversos microrganismos indicadores de higiene (como coliformes a 45 °C, *Staphylococcus* coagulase positivos, e clostrídios sulfito redutores a 46 °C), com níveis de contaminação tolerados variados.

Apesar de serem usualmente associados a possível presença de patógenos, a real importância dos microrganismos indicadores de higiene é evidenciar as condições de produção, processamento e estocagem dos alimentos. Atualmente sabe-se que essa associação direta entre altos níveis de contaminação por esses grupos e a presença de patógenos não é totalmente verdadeira, principalmente em alimentos de origem animal (Barros et al., 2007; Fernandes, 2009).

O controle da contaminação microbiológica em carcaças bovinas deve ser realizado periodicamente, permitindo o monitoramento adequado de importantes pontos de contaminação e adoção de medidas corretivas pertinentes. Nos países europeus existe uma regulamentação (Dec. EC 471/2001, EC, 2001) que determina o monitoramento semanal de aeróbios mesófilos e enterobactérias em 5 a 10 carcaças, de onde devem ser coletadas amostras do pescoço, paleta, peito, e região perineal utilizando técnica destrutiva (20 cm²) ou não destrutiva (por esfregação duplo molhado-seco, em 100 cm²). Considerando que a legislação europeia permite esses diferentes processos para obtenção de amostras, McEvoy et al. (2004) e Zwiefel et al. (2005) estudaram os desempenhos e as equivalências entre esses procedimentos para enumeração de microrganismos indicadores de higiene, e propuseram diferentes valores de referência para verificação de adequação dos procedimentos higiênicos de processamento de carne bovina. Esses valores são apresentados na Tabela 2, onde também podem ser observados os parâmetros oficiais europeus para controle de qualidade na produção de carne bovina.

Tabela 2. Parâmetros microbiológicos de referência para avaliação da qualidade de carcaças bovinas e adequação dos processos higiênicos de abate e processamento (valores em log UFC/cm²).

Microrganismo Indicador	Procedimento de coleta	Valores de referência			Referência
		Aceitável	Marginal	Inaceitável	
Aeróbios mesófilos	Excisão ou Swab	<3,5	3,5-5,0	>5,0	EC, 2007
	Swab	<2,8	2,8-4,3	>4,3	McEvoy et al. 2004
	Swab	<3,0	3,0-4,0	>4,0	Zwiefel et al. 2005
Enterobactérias	Excisão ou Swab	<1,5	1,5-2,5	>2,5	EC, 2007
	Swab	<0,8	0,8-1,8	>1,8	McEvoy et al. 2004
	Swab	<1,0	1,0-2,0	>2,0	Zwiefel et al. 2005

Esses valores de referência (Tabela 2) são importantes parâmetros para indústrias de produtos cárneos. A partir desses valores é possível a realização de um monitoramento sistemático das etapas de produção e a verificação da qualidade dos produtos finais obtidos. Ainda, esses valores são utilizados em estudos científicos que visam avaliar a qualidade microbiológica de produtos cárneos e as condições higiênicas de produção (McEvoy et al., 2004; Zweifel et al., 2005; Blagojevic et al., 2010). Na Tabela 3 são apresentados alguns desses dados, considerando níveis de contaminação por diferentes microrganismos indicadores de higiene na pele e em carcaças bovinas, obtidos em diferentes pontos da linha de abate.

Apesar de alguns microrganismos indicadores sugerirem a presença de certos patógenos, a pesquisa efetiva destes microrganismos é fundamental para a garantia da segurança microbiológica de produtos cárneos. Vários são os patógenos associados a produtos cárneos, sendo possível listar os seguintes: *E. coli* O157:H7, *Salmonella* spp., *Aeromonas hydrophila*, *Bacillus cereus*, *Campylobacter* spp., *Clostridium botulinum* e *C. perfringens*, *Staphylococcus aureus*, *Yersinia enterocolitica* e *L. monocytogenes* (Fernandes, 2009; Akkaya et al., 2008; Rhoades et al., 2009; Jay, 2005; Zavarella, Cantoni, 2005). Em relação a esses microrganismos patogênicos, *L. monocytogenes* possui destaque.

Tabela 3. Contaminação por diferentes grupos de microrganismos indicadores de higiene na pele e em carcaças bovinas amostradas em diferentes etapas da linha de abate e processamento (resultados em log UFC/cm²).

Referência	Microrganismo Indicador	Etapa do abate					Carcaça final
		Pele	Esfola	Evisceração	Divisão	Lavagem	
Gill et al.	Aeróbios mesófilos	-	2,		3,0	2,6	2,3
	<i>Escherichia coli</i>	-	1,3		1,2	1,1	1,0
McEvoy et al.	Aeróbios mesófilos	3,5	3,3	3,2	-	-	3,3
	Coliformes totais	3,0	3,8	4,9	-	-	3,3
	<i>Escherichia coli</i>	3,0	2,4	2,8	-	-	2,5
	Enterobactérias	2,9	2,8	2,7	-	-	2,5
Prendergast et al.	Aeróbios mesófilos	-	-	-	-	-	2,5 a 2,6
Zweifel et al.	Aeróbios mesófilos	-	-	-	-	-	2,1 a 3,1
	Enterobactérias	-	-	-	-	-	0,1 a 0,6
Barros et al.	Aeróbios mesófilos	-	-	-	-	-	3,6
	Coliformes totais	-	-	-	-	-	1,5
	<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	-	1,0
Martinez et al.	Aeróbios mesófilos	-	-	-	-	-	2,4 a 4,1
	Enterobactérias	-	-	-	-	-	0,7 a 2,5
Antic et al.	Aeróbios mesófilos	6,7	-	-	-	-	
	Enterobactérias	4,3	-	-	-	-	
Blagojevic et al.	Aeróbios mesófilos	7,9 a 8,0	-	-	-	-	3,2 a 4,1
	Enterobactérias	2,3 a 2,5	-	-	-	-	0,8 a 2,0

5. *LISTERIA MONOCYTOGENES*

Listeria monocytogenes é um bacilo Gram positivo, anaeróbio facultativo, não esporulado, psicrótrofico, capaz de se desenvolver em temperaturas entre 0 e 45 °C (temperatura ótima de multiplicação a 37 °C). Esse microrganismo possui resistência ao congelamento, descongelamento e à secagem, e sobrevive em temperaturas de até 50 °C. Também possui habilidade de se manter viável em ambientes com pH variando em ter 4,3 e 9,6, e com atividade de água superior a 0,83 (Cliver, 1990; Perry e Donnelly, 1990; Pell, 1997; Ryser e Marth, 1999; Dykes e Moorhead, 2000, Fabbi et al., 2005).

Considerando as características de *L. monocytogenes*, 13 sorotipos são descritos como potencialmente causadores de enfermidades em seres humanos. Entretanto, 95% das cepas isoladas de casos clínicos pertencem aos sorotipos 1/2a, 1/2b e 4b. Esse microrganismo é considerado um agente zoonótico e o primeiro relato oficialmente descrito de listeriose, baseado em sintomatologia, foi de um soldado durante a Primeira Guerra Mundial (Fabbi et al., 2005). O primeiro surto confirmado de listeriose associado a produtos de origem animal ocorreu em 1983, nos Estados Unidos, devido a consumo de leite pasteurizado contaminado e que afetou 49 indivíduos, dos quais 14 morreram (Warriner e Namvar, 2009).

Os sintomas determinados por *L. monocytogenes* nos seres humanos variam desde a um quadro gastrintestinal, similar a outras infecções associadas a consumo de alimentos contaminados, até septicemias graves, inclusive atingindo o sistema nervoso central. A gravidade e as conseqüências dos sintomas dependem diretamente de vários fatores, como quantidade de microrganismos viáveis e potencial patogênico das cepas ingeridas, e susceptibilidade dos consumidores. Indivíduos imunocomprometidos, idosos, crianças e gestantes são potencialmente susceptíveis aos quadros mais graves determinados por *L. monocytogenes*. Apesar da baixa ocorrência de listeriose em seres humanos, essa enfermidade possui relevante importância em Saúde Pública pela alta letalidade, principalmente nos indivíduos mais susceptíveis, que pode atingir 20 a 30% dos casos, especialmente quando atinge o sistema nervoso central (Fabbi et al., 2005, Warriner e Namvar, 2009).

L. monocytogenes é um microrganismo ubíquo, podendo ser isolado do solo, água, e silagem. A descrição desse patógeno em silagem e em seguida nas fezes dos animais é conhecida desde a década de 1960 (Acha e Szyfres, 2003; Fabbi et al., 2005, Barros e al.,

2009; Warriner e Namvar, 2009). Esse patógeno tem sido encontrado mundialmente em pelo menos 42 espécies de mamíferos, tanto domésticos quanto silvestres, assim como em pelo menos 22 espécies de pássaros e também em algumas espécies de peixes e moluscos (Anon., 1991; Anon., 1996; Ryser e Marth, 1999; Rocourt et al., 2000; Destro, 2000). Dessa forma, esses animais possuem importância epidemiológica por representarem reservatórios para *L. monocytogenes*. Fabbi et al. (2005) descreveram a presença desse patógeno em 10 a 50% de frangos, suínos e bovinos, e entre 1 a 5% em seres humanos. Outros estudos sugerem que até 21% dos humanos sejam portadores de *L. monocytogenes* nos intestinos (Skidmore, 1981; Schuchat et al., 1991; Mascola et al., 1992; Slutsker & Schuchat, 1999).

Por ser um microrganismos amplamente distribuído nos animais de produção e no ambiente de processamento dos alimentos, *L. monocytogenes* é frequentemente isolada de diversos produtos como leite e derivados, vegetais, produtos cárneos de origem bovina, frangos e frutos do mar. Como a maioria desses alimentos é conservada sob temperaturas de refrigeração, *L. monocytogenes* encontra condições adequadas para manter sua viabilidade e se multiplicar, o que explica sua relativa alta frequência nesses produtos (Rorvik e Yndestad, 1991; Sanaa et al., 1993; Norrung et al., 1999; Petersen e Madsen, 2000; Destro, 2000; Bersot et al., 2008). Na Tabela 4 são apresentados alguns dados de ocorrência de *Listeria* spp. e *L. monocytogenes* em fezes, carcaças bovinas e produtos cárneos. Apesar da diversidade de metodologias utilizadas, esses dados permitem visualizar a importância desses produtos como veiculadores desse patógeno.

A eliminação de *L. monocytogenes* em ambientes de indústrias de alimentos é sabidamente difícil pela sua conhecida resistência a agentes antimicrobianos e substâncias químicas, como ácidos e bases. Entretanto, a capacidade de adesão e conseqüente formação de biofilmes são consideradas como principais fatores de persistência de *L. monocytogenes* em indústrias de alimentos (Hood e Zottola, 1995; Dykes e Moorhead, 2000; Dykes, 2003; Takhistov e George, 2004; Møretro e Langsrud, 2004). Este microrganismo possui comprovada capacidade de adesão em superfícies de diferentes tipos de materiais, como borracha, plástico, vidro e aço inoxidável, frequentemente utilizados em utensílios e equipamentos nessas indústrias (Beresford et al., 2001; Gandhi e Chikindas, 2007).

Tabela 4. Ocorrência (%) de *Listeria* spp. e *L. monocytogenes* em fezes, peles, carcaças bovinas carne e produtos cárneos, segundo estudos científicos publicados internacionalmente.

Referência	Microrganismo	Origem do isolamento				
		fezes	pele	carcaça	carne	carne processada
Buncic et al. (1991)	<i>L. monocytogenes</i>	-	-	-	-	69,0
Siragusa et al. (1993)	<i>Listeria</i> spp.	22,2	-	-	-	-
	<i>L. monocytogenes</i>	2,2	-	-	-	-
Loncarevic et al (1994)	<i>L. monocytogenes</i>	-	-	20,0	-	-
McNamara (1995)	<i>L. monocytogenes</i>	-	-	4,1	-	-
De Mesquita et al. (1995)	<i>Listeria</i> spp.	-	-	0,0	-	-
Anon. (1996)	<i>L. monocytogenes</i>	-	-	11,3	-	-
Karr et al. (1996)	<i>L. monocytogenes</i>	-	-	2,5	-	-
Fenlon et al. (1996)	<i>L. monocytogenes</i>	-	-	7,0	-	-
Jericho et al. (1997)	<i>L. monocytogenes</i>	-	-	5,93	-	-
Vanderlinde et al. (1998)	<i>L. monocytogenes</i>	-	-	0,8-15	-	-
Nørrung et al. (1999)	<i>L. monocytogenes</i>	-	-	-	12,3	23,5
Madden et al. (2001)	<i>Listeria</i> spp.	-	-	0,0	-	-
	<i>L. monocytogenes</i>	-	-	0,0	-	-
Rivera-Betancourt et al. (2004)	<i>L. monocytogenes</i>	-	9,9	0,0-1,1	-	-
Nightigale et al. (2004)	<i>L. monocytogenes</i>	29,4	-	-	-	-
Busani et al. (2005)	<i>L. monocytogenes</i>	-	-	-	5,4	-
Madden et al. (2006)	<i>L. monocytogenes</i>	4,8	-	-	-	-
Barros et al. (2007)	<i>Listeria</i> spp.	-	-	25,9	-	-
	<i>L. monocytogenes</i>	-	-	17,9	-	-
Guerini et al. (2007)	<i>L. monocytogenes</i>	-	13,3	2,4-4,8	-	-
Takahashi et al. (2007)	<i>Listeria</i> spp.	50,0	-	0,0	-	-
	<i>L. monocytogenes</i>	5,0	-	0,0	-	-
Esteban et al. (2009)	<i>L. monocytogenes</i>	30,6	-	-	-	-
Rhoades et al. (2009)	<i>L. monocytogenes</i>	4,8-29,4	10,0-13,0	0,0-11,3	2,0-24,0	4,7-18,1
Pesavento et al. (2010)	<i>Listeria</i> spp.	-	-	-	17,3	-

Considerando que os alimentos são os principais veículos de *L. monocytogenes*, o controle da contaminação por esse patógeno na cadeia produtiva é fundamental para

garantia da segurança dos alimentos. Alguns países determinam a ausência desse patógeno nos alimentos destinados ao consumo humano, ocasionando um rigoroso controle oficial por órgãos fiscalizadores. A FDA (*Food and Drug Administration*, órgão regulador da qualidade e segurança dos alimentos nos Estados Unidos) historicamente mantinha uma política de “tolerância zero” para *L. monocytogenes*, que se aplicava a todos os alimentos prontos para o consumo. Entretanto, esse órgão recentemente publicou novas diretrizes para o controle desse patógeno em alimentos prontos para o consumo baseadas em análise do risco, prevendo a tolerância de diferentes concentrações considerando os riscos pertinentes a cada produto. Esta política é um reflexo evidente dos novos conhecimentos sobre *L. monocytogenes* na linha de produção de alimentos, que evidenciam a dificuldade de eliminar totalmente esse patógeno em utensílios e equipamentos. Assim, as concentrações toleradas de *L. monocytogenes* em alimentos variam entre 0,04 a 100 UFC/g ou mL, dependendo das condições oferecidas pelo alimento para multiplicação do patógeno (FDA, 2011).

Essa adequação do FDA em relação ao controle de *L. monocytogenes* em alimentos seguiu uma tendência já existente na União Européia, que desde 2005 adota essa política de tolerância considerando características específicas dos alimentos (EC 2073, EC, 2005). A política de tolerância de *L. monocytogenes* em alimentos é baseada principalmente pela dificuldade de eliminar o patógeno no ambiente industrial, e também por não haver relação entre frequência de listeriose e política adotada para o controle desse patógeno (Warriner e Namvar 2009). Ainda, conforme os mesmos autores, a política de tolerância zero do patógeno em produtos finais não é um estímulo ao controle de *L. monocytogenes* no ambiente industrial, que é considerado o principal local de manutenção e contaminação desse patógeno, já que qualquer amostra positiva, mesmo em concentrações muito baixas, resultaria na obrigação de recolher os alimentos contaminados. Por outro lado, a confiança exclusiva na aplicação do autocontrole e das medidas de limpeza e higienização dos estabelecimentos de produção de alimentos, sem a realização de monitoramento do produto destinado à venda, também abre espaço para a ocorrência de surtos. Esta dificuldade de desenvolver uma estratégia de redução do risco de listeriose evidencia a necessidade de um monitoramento sistemático de *L. monocytogenes* na linha de produção dos alimentos, principalmente carne bovina, que usualmente é associada a esse patógeno. Baseado nesses monitoramentos, lotes de diversos alimentos podem ser recolhidos (*recalls*) quando identificado o perigo. Sofos (2008) descreveu os

principais *recalls* de alimentos ocorridos nos Estados Unidos, e identificou que os três maiores foram de produtos cárneos possivelmente contaminados por *L. monocytogenes* (todos com recolhimento de mais de 10 milhões de quilos).

Associada a preocupação de controle da contaminação nos alimentos, o monitoramento de casos e surtos de listeriose é fundamental para traçar as possíveis rotas epidemiológicas determinantes dessa enfermidade, assim como os principais alimentos efetivamente associados ao patógeno. Nos Estados Unidos existe um controle eficiente de enfermidades de origem alimentar, sendo estimada a ocorrência anual de pelo menos 1600 casos de listeriose, e 415 mortes (Anon., 1996). Mead et al. (1999) estudaram a prevalência de doenças de origem alimentar nos Estados Unidos, cruzando os dados oficiais de vários sistemas de monitoramento entre 1996 e 1997 com modelos matemáticos que estimaram o número de casos que não são denunciados e que não levaram a hospitalização. Conforme os resultados desta pesquisa, *L. monocytogenes* provocou no período 2518 casos anuais com 20% de letalidade e hospitalização em 92% dos casos. Ammon e Makela (2010) descreveram que em 2007 foram reportados ao ECDC (*European Center for Disease Prevention and Control*) e ao EFSA (*European Food Safety Authority*) 25 surtos de listeriose humana ocorridos na União Européia. Todd e Notermans (2011), comentando esses mesmos dados da EFSA e do ECDC, ressaltaram que esses surtos foram mais frequentes em pessoas com mais de 65 anos de idade (53,1%). Casos de listeriose são raramente publicados no Brasil e as poucas publicações não permitem a definição precisa da prevalência desta doença no país, nem as possíveis associações entre a infecção e o consumo de algum alimento específico. Hofer et al. (1998) relataram casos de meningite no Distrito Federal; Souto Martins et al. (2010) realizaram um estudo de casos de listeriose em doentes hospitalizados entre 2006 e 2007, e encontraram 6 casos provavelmente associados à contaminação de alimentos preparados na cozinha do hospital. Os poucos relatórios de casos de listeriose descritos no Brasil são associados a infecções hospitalares, sem a identificação exata da importância do consumo de alimentos contaminados na rota epidemiológica da doença.

Apesar de vários alimentos serem usualmente contaminados por *L. monocytogenes*, e potencialmente causadores de listeriose nos seres humanos, os produtos cárneos possuem grande importância na rota epidemiológica desse patógeno. Na Tabela 5 são apresentados os principais surtos de listeriose relacionados ao consumo de produtos cárneos entre 1979 a 2008, descritos em um artigo de revisão sobre as políticas adotadas

por diversos países para gestão dos riscos associados a *L. monocytogenes* (Warriner e Namvar, 2009).

Tabela 5: Principais surtos de listeriose relacionados ao consumo de produtos cárneos.

EUA = Estados Unidos de América (Warriner e Namvar, 2009).

Ano	País	Casos (mortos)	Alimento responsável
1992	França	279 (85)	Carne fatiada
1998	EUA	105	Hot dog
1999	EUA	2	Carne fatiada
1999	EUA	5	Carne fatiada
1999	EUA	4	Hot dog
2000	EUA	30	Carne fatiada
2001	EUA	6	Carne fatiada
2002	EUA	54	Carne fatiada
2008	Canadá	65 (20)	Carne fatiada

O primeiro surto comprovado de listeriose associado a consumo de produtos cárneos ocorreu no Reino Unido, e determinou a enfermidade em 366 pessoas além de 63 mortes, que consumiram um patê importado (McLauchlin et al., 1991). O primeiro relato nos Estados Unidos de listeriose associado a consumo de produtos cárneos foi caracterizado como um caso esporádico em um paciente com câncer após o consumo de um embutido produzido com carne de peru (MMWR, 1989). Mais recentemente, Winter et al. (2009) relataram um surto de listeriose entre 2006 e 2008 em hospital para pessoas idosas, relacionado ao consumo de linguças cozidas no estabelecimento de produção e prontas para o consumo, com letalidade de 31,25%. Smith et al. (2011) relataram um surto de listeriose ocorrido em 2009 na Dinamarca envolvendo 14 pessoas, todos adultos, que consumiram alimentos prontos para o consumo contendo carne bovina. O rastreamento epidemiológico demonstrou que a origem do agente foi a carne utilizada no preparo dos alimentos envolvidos no surto, que possuíam carne bovina contaminada com *L. monocytogenes*.

Considerando o material apresentado sobre surtos de listeriose associada a consumo de alimentos contaminados, principalmente produtos cárneos (além de outras referências relacionadas e outros tipos de alimentos, Makino et al., 2005; Suárez et al., 2007; Johnsen et al., 2010), fica evidente a dificuldade de um rastreamento preciso das

rotas epidemiológicas do agente patogênico. Como os casos não são concentrados num mesmo intervalo de tempo e região, a identificação das origens da contaminação do patógeno é extremamente difícil, o que dificulta a investigação epidemiológica adequada dos surtos ocorridos.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABIEC Associação Brasileira de Indústrias Exportadoras de Carne, 2011. <http://www.abiec.com.br/> acesso em 12/01/2011
- Acha, P. N., Szyfres, B., 2003. Zoonoses and Communicable diseases common to man and animals. Volume 1: Bacterioses and Mycoses, 3th edition. Pan American Health Organization.
- Akkaya, L., Alisarli, M., Cetynkaya, Z., Kara, R., Telli, R., 2008. Occurrence of *Escherichia coli* O157:H7 O 157, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp. in beef slaughterhouse environment, equipment and workers. J. Musc. Food. 19, 261-274.
- Ammon, A., Makela, P., 2010. Integrated data on zoonoses in the European Union, from animal to humanas, and the analysis of the data. Int. J. Food Microbiol. 139, 543-547.
- Anônimo - FDA/CFSAN, EUA, 1991. Bad Bug Book - Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins Handbook: *Listeria monocytogenes*.
- Anônimo - United States Department of Agriculture, Food Safety and Inspection Service, 1996. Nationwide beef microbiological baseline data collection program: cows and bulls. pp. 33.
- Anônimo, 2010b. The world's Farm: Brazil success in Agriculture 27/08/2010 <http://www.economist.com/node/16913525> acesso em: 18/02/2011
- Anônimo, 2010c. The Miracle of the Cerrado 26/08/2010 <http://www.economist.com/node/16886442> acesso em: 18/02/2011
- Antic, D.; Blagojevic, B., Ducic, M., Nastasijevic, I., Mitrovic, R., Buncic, S., 2010. Distribution of microflora on cattle hides and its transmission to meat via direct contact. Food Control 21, 1025-1029.
- Barros, J. I., Oporto, B., Aduriz, G., Juste, R. A., Hurtado, A., 2009. Fecal shading and

- strain diversity of *Listeria monocytogenes* in healthy ruminants and swine in Northern Spain BMC Vet. Res. 5,2. www.biomedcentral.com/1746-6148/5/2 acesso em 02/01/2011.
- Barros, M. A. F., Nero, L. A., Monteiro, A. A., Beloti, V., 2007. Identification of main contamination points by hygiene indicator microorganisms in beef processing plants. Ciênc. Tecnol. Aliment. 27, 856-862.
- Bersot, L.S., Gillio, C., Tavolaro, P., Landgraf. M., Franco. B.D.G.M., Destro, M.T. 2008. Behaviour of *L. monocytogenes* in sliced, vacuum-packed mortadella. Braz. J. Microbiol. 39, 238-240.
- Blagojevic, B., Antic, D., Ducic, M., Buncic, S. 2011. Ratio between carcass and skin microflora as an abattoir process hygiene indicator. Food Control 22, 186-190.
- Bolton, D. J., Doherty, A. M., Sheridan, J. J., 2001. Beef HACCP: intervention and non-intervention systems. Int. J. Food Microbiol. 66, 119-129.
- Brasil, 1934. Decreto n. 24.548, de 03 de julho: Fica aprovado o regulamento que com esta baixa, para execução, no país, do Serviço de Defesa Sanitária Animal. Diário Oficial da União, de 14 de julho de 1934, seção 1, p.4.
- Brasil, 1950. Lei n. 1.283, de 18 de dezembro: Inspeção Sanitária e Industrial dos Produtos de Origem animal. Diário Oficial da União de 19 de dezembro de 1950, seção 1, p.18161.
- Brasil, 1952. Decreto n. 30.691, de 29 de março: Aprova o Novo Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. Diário Oficial da União de 7 de julho de 1952, seção 1, p.10785.
- Brasil, 1976. Portaria n. 23, de 20 de janeiro: Aprova as normas para a Profilaxia da Brucelose animal. Diário Oficial da União de 16 de dezembro de 1976, seção 1, p. 2266
- Brasil, 1993. Instrução Normativa n. 2, de 7 de setembro: Dispõe sobre a importação de animais vivos e produtos de origem animal de países onde ocorre a Encefalopatia espongiiforme Bovina (EEB). Diário Oficial da União de 14 de setembro de 1993, seção 1, p.13646.
- Brasil, 1997a. Portaria n. 326, de 30 de julho de 1997: Aprova o regulamento técnico:

- condições higiênico sanitárias e de boas práticas de fabricação para estabelecimentos produtores/industrializadores de alimentos. Diário Oficial da União de 1 de agosto de 1997, seção 1, p.16560.
- Brasil, 1997b. Portaria n. 368, de 4 de setembro de 1997: Aprova o regulamento técnico sobre as condições higiênico-sanitárias e de boas práticas de fabricação para estabelecimentos elaboradores/industrializadores de alimentos. Diário Oficial da União de 8 de setembro de 1997, seção 1, p. 19697.
- Brasil, 1998. Portaria n. 46, de 10 de fevereiro: Institui o Sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle - APPCC - a ser implantado, gradativamente, nas indústrias de produtos de origem animal sob o regime do Serviço de Inspeção Federal - SIF, de acordo com o manual genérico de procedimentos. Diário Oficial da União de 16 de março de 1998, seção 1, p. 24.
- Brasil, 2001a. Instrução Normativa n. 2, de 2 de janeiro: Institui o Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal. Diário Oficial da União de 11 de janeiro de 2001, seção 1, p. 5.
- Brasil, 2001b. Resolução-RDC n. 12, de 2 de janeiro: Aprova o regulamento técnico sobre os Padrões Microbiológicos para alimentos. Diário Oficial da União de 10 de janeiro de 2001, seção 1, p. 45.
- Brasil, 2006. Decreto n. 5.741, de 30 de março: Fica aprovado na forma de anexo deste decreto o regulamento dos arts. 27-A, 28-A e 29-A da lei 8171 de 17 de janeiro de 1991. Diário Oficial da União de 31 de março de 2006, seção 1, p. 82.
- Brasil, 2009. Instrução Normativa n. 9, de 8 de abril: Institui os procedimentos de Controle da *Listeria monocytogenes* em produtos de origem animal prontos para o consumo na forma de anexo à presente normativa. Diário Oficial da União de 9 de abril de 2009, seção 1, p. 9.
- Brown, R., 2010. Long term trade in world meat trade: 2010, 2015, 2020. In: 2010 World Meat Congress. Buenos Aires, Argentina, Setembro 2010.
- Buchanan, R. L., 2000. Aquisition of microbiological data to enhance food safety. J. Food Prot. 63, 832-838.
- Buncic, S. 1991. The incidence of *Listeria monocytogenes* in slaughtered animals, in meat, and in meat products in Yugoslavia. *Int. J. Food Microbio.* 12, 173-180

- Busani, L., Cigliano, A., Taioli, E., Caligiuri, V. Chiavichchi, L., Di Bella, C., Battisti, A., Duranti, A., Gianfranceschi, M., Nardella, M. C., Ricci, A., Rolesu, S., Tamba, M., Marabelli, R., Caprioli, A., 2005. Prevalence of *Salmonella enterica* and *Listeria monocytogenes* contamination in foods of animal origin in Italy. J. Food Prot. 68, 1729-1733.
- Cliver, D. O., 1990. Foodborne diseases. Academic Press, San Diego.
- Codex Alimentarius, 2007. Guidelines on the Application of General Principles of Food Hygiene to the control of *Listeria monocytogenes* in foods. CAC/GL 61.
- de Carvalho, B, de Zen, S., Ferreira, P. C., 2008. Caracterização da pecuária de corte nos principais países produtores de carne bovina. XLVI Congresso da Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociologia Rural Rio Branco (Acre 20-23 Julho 2008)
- de Mesquita, A. J., Timo Iara, S., Nunes, I. A., 1995. Bactéria do gênero *Listeria* em carne e água residual de lavagem de carcaça de um matadouro-frigorífico e em carne moída comercializada na cidade de Goiânia-GO. Anais Escola Agronômica e Veterinária 25, 37-45.
- Destro, M.T., 2000. Incidence and significance of *Listeria* in fish and fish products from Latin America. Int. J. Food Microbiol. 62, 191-196.
- Dykes, G.A. 2003. Influence of the adaptation of *Listeria monocytogenes* populations to structured or homogeneous habitats on subsequent growth on chilled processed meat. Int. J. Food Microbiol. 85, 301-306.
- Dykes, G.A., Moorhead, S.M., 2000. Survival of osmotic and acid stress by *Listeria monocytogenes* strains of clinical or meat origin. Int. J. Food Microbiol. 56, 161-166.
- Eisel, W.G., Linton, R.H., Muriana, P.M., 1997. A survey of microbial levels for incoming raw beef, environmental sources, and ground beef in a processing plant. Food Microbiol. 14, 273-282.
- Esteban, J. I., Oporto, B., Aduriz, G., Juste, R. A., Hurtado, A. 2009. Fecal shedding and strain diversity in healthy ruminants and swines in Northern Spain. Biomol. Centr. <http://www.biomedcentral.com/1746-6148/5/2>
- European Community (EC), 2001. Decision EC 471 of 8/6/2001 laying down rules for the regular checks on the general hygiene carried out by the operators in establishments

- according to Directive 64/433/EEC on health conditions for the production and marketing of fresh meat and Directive 71/118/EEC on health problems affecting the production and placing on the market of fresh poultry meat. Official Journal of the European Union, L165, 48-53.
- European Community (EC), 2002. Regulation 178 of 29/4/2004 on the hygiene of foodstuffs, establishing the European Food Safety Authority and laying down procedures in matters of food safety. Official Journal of the European Union, L 31, 1-24.
- European Community (EC), 2004. Regulation 853 of 29/4/2004 establish specific rules applicable to foods of Animal origin. Official Journal of the European Union, L139, 55.
- European Community (EC), 2005. Regulation 2073 of 15/11/2005 microbiological criteria for foods. Official Journal of the European Union, L 338, 1.
- European Community (EC), 2007. Regulation 1441 of 5/12/2007 modifies Reg EC 2005/2073 on microbiological criteria for foodstuff Official Journal of the European Union, L 322, 12-29.
- European Economic Commission (EEC), 1964. Directive 432 of 26/6/1964 on animal health problems affecting intra-Community trade in bovine animals and swine. Official Journal of the Economic European Community Official Journal of the European Economic Community L120, 13.
- European Economic Commission (EEC), 1993. Directive 43 of 14/6/1993 on the hygiene of foodstuff. Official Journal of the European Economic Community L175, 1-11.
- Fabbi, M., Andreoli, G., De Giuli, L., Carretto, E., 2005. "*Listeria monocytogenes*" in Rondanelli E. G., Fabbi, M., Marone, P., 2005. Trattato sulle infezioni e tossinfezioni alimentari Ed. Selecta Medica.
- FDA, 2011. Guidance for Industry: Control of *Listeria monocytogenes* in frozen and refrigerated ready to eat foods: draft guidance. <http://www.fda.gov/Food/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/GuidanceDocuments/FoodProcessingHACCP/ucm073110.htm> acesso em 23/04/2011
- Fenlon, D. R., Wilson, J., Donachie, W., 1996. The incidence and levels of *Listeria monocytogenes* contamination of food sources at primary production and initial processing. J. Appl. Bacteriol. 81, 641-650.
- Fernandes, R., 2009. Microbiology handbook: Meat Products ed. Leatherhead Food.

International.

- Gandhi, M.; Chikindas, M.L. 2007. *Listeria*: a foodborne pathogen that knows how to survive. Int. J. Food Microbiol. 113, 1-15.
- Gill, C. O, Jones, T., 2000. Microbiological sampling of carcasses by excision or swabbing. J. Food Prot. 63, 167-173.
- Gill, C. O, McGinnis, D. S., Bryant, J., Chabot, B., 1995. Decontamination of commercial polished pig carcasses with hot water. Food Microbiol. 12, 143-149.
- Gill, C. O, McGinnis, J. C., Badoni, M., 1996. Use of total or *Escherichia coli* count to assess the hygienic characteristics of a beef carcass dressing process. Int. J. Food Microbiol. 31, 181-196.
- Gill, C.O. 1998. Microbiological contamination of meat during slaughter and butchering of cattle, sheep and pigs. In: Davies, A., Board, R. (Eds.) The Microbiology of Meat and Poultry.: Blackie Academic and Professional, London pp. 118-157.
- Gomide, L.A.M., Ramos, E.M., Fontes, P.R., 2006. Tecnologia de abate e tipificação de carcaças. Viçosa: Editora UFV.
- Guerini, M. N., Brichta Harhay, D. M., Shackelford, S.D., Arthur, T. M., Bosilevac, J. M., Kalchayanand, N., Wheeler, T. L., Koochmarai, M., 2007. *Listeria* prevalence and *Listeria monocytogenes* serovar diversity at cull cow and bull processing plants in the United States. J. Food Prot. 70, 2578-2582.
- Hofer, E., do Nascimento, R., S., De Oliveira, M. A., 1998. Meningitis due to *Listeria monocytogenes*. Case reports from Distrito Federal, Brazil. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 31, 173-177.
- Hood, S. K.; Zottola, E.A. 1995. Biofilms in food processing. Food Cont. 6, 9-18.
- Jay, J. M., 2005. Microbiologia de alimentos. Porto Alegre: ARTMED Editora
- Jericho, K. J. W. F.; Kozub, G. C.; Gannon, V. P. J.; Golsteyn T. E. J.; King, R. K.; Bigham, R. L.; Tanaka, E. E.; Dixon-MacDougall, J. M.; Nishiyama, B. J.; Kirbyson, H.; Bradley, J. A., 1997. Verification of the level of Microbiological Control for the Slaughter and Cooling Processes of Beef Carcass Production at a High-line-Speed Abattoir. J. Food Prot. 60, 1509-1514.
- Johnsen, B. O., Lingaas, E., Torfoss, D., Strom, E. H., Nordoy, I., 2010. A large outbreak

- of *Listeria monocytogenes* infection with short incubation period in a tertiary care hospital. J. Inf. 61, 465-470
- Jordan, D., McEwen, S. A., Lammerding, A. M., McNab, W. B., Wilson, J. B., 1999. A simulation model for studying the role of pre-slaughter factors on the exposure of beef carcasses to human microbial hazards. Prev. Vet. Med. 41, 37-54.
- Karr, K. J., Boyle, E. A. E., Kastner, C. L., Marsden, J. L., Phebus, R. K., Prasai, R. K., Pruet, W. P., Zepada, C. M. G., 1996. Standardized microbiological sampling and testing procedures for the beef industry. J. Food Prot. 59, 778-780.
- Loncarevic, S., Milanovic, A., Caklovica, F., Tham, W., Danielsson-Tham, M.L., 1994. Occurrence of *Listeria* species in an abattoir for cattle and pigs in Bosnia and Hercegovina. Acta Vet. Scand. 35 11-15.
- Madden, R. H., Murray, K. A., Gilmour, A., 2006. Carriage of four bacterial pathogens by beef cattle in Northern Ireland at time of slaughter. Lett. Appl. Microbiol. 44, 115-119.
- Makino, S. I., Kawamoto, K., Takeshi, K., Okoda, Y., Yamasaki, M., Yamamoto, S., Igimi, S., 2005. An outbreak of foodborne listeriosis due to cheese in Japan during 2001. Int. J. Food Microbiol. 104, 189-196
- MAPA, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Brasil, 2011. <http://www.agricultura.gov.br/portal/page/portal/Internet-MAPA/pagina-inicial/animal/especies/bovinos-e-bubalinos> acesso em: 08/03/2011
- Martinez, B., Celda, M. F., Millán M. E., Espacio, A., Cano, M., López-Mendoza M. C., 2009. Assessment of the microbiological condition of reed meat carcasses from bacterial count recovered by sampling via excision or swabbing with cotton wool. Int. J. Food Sci and Tech. 44, 770-776
- Martins, I. S., Faria, F. C. C., Miguel, M. A. L., Dias, M. P. S. C., Cardoso, F. L. L., Magalhães, A. C. G. M., Mascarenhas, L. A., Nouér, S. A., Barbosa A. V., Vallim, D. C., Hofer, E., Rebello, R. F., Riley, R. W., Moureira, B. M. 2010. A cluster of *Listeria monocytogenes* infection in hospitalized adults. Am. J. Inf. Contr. 38, e31-e36
- Mascola, L., Sorvillo, F., Goulet, V., Hall, B., Weaver, R., Linnan, M., 1992. Fecal carriage of *Listeria monocytogenes*: observations during a community-wide, common-source outbreak. Clin. Inf. Dis. 15, 557-558.

- McEvoy, J. M., Sheridan, J. J., Blair, I. S., McDowell, D. A., 2004. Microbial contamination on beef in relation to hygienic assessment based on criteria used in EU Decision 2001/471/EC. *Int. J. Food Microbiol.* 92, 217-225.
- McLauchlin, J.; Hall, S.M.; Velani, S.K.; Gilbert, R.J. 1991. Human listeriosis and pate: a possible association. *Brit. Med. J.* 303, 773-775.
- McNamara, A. M., 1995. Establishment of baseline data of the microbiota in meats. *J. Food Saf.* 15, 113-119.
- Mead, P. S., Slutsker, L., Dietz, V., Mccaig, L. F., Bresee, J. S., Shapiro, C., Griffin, P. M., Tauxe, R. V, 1999. Food related illness and death in the United States. *Emerg. Inf. Dis.* 5, 607-625.
- MMWR - CDC - Morbidity Mortality Weekly Reports. 1989. Listeriosis associated with consumption of turkey franks. .38, 267-268
- Monteiro, S., Pregnaca, R., 2010. Sem Descanso. *América Economia Brasil.* 386, 28-31.
- Nightigale, K. K., Schukken, Y. H., Nightigale, C. R., Fortes E.D., Ho, A. J., Her Z., Grohn, Y. T., Mc Donough, P. L., Wiedmann, L., 2004. Ecology and transmission of *Listeria monocytogenes* infecting ruminants and in the farm environment. *Appl. Env. Microbiol.* 70, 4458-4467.
- Nørrung, B.; Andersen, J.K.; Schlund, J. 1999. Incidence and control of *Listeria monocytogenes* in foods in Denmark. *Int. J. Food Microbiol.* 53, 195-203,.
- Pardi, M. C., 1996. Memória da inspeção Sanitária e industrial de Produtos de Origem Animal no Brasil: O serviço de Inspeção Federal - SIF. Conselho Federal de Medicina Veterinária, Depoimento para a História da Medicina Veterinária do Brasil, tomo 1.
- Pell, A.N., 1997. Manure and microbes: public and animal health problem? *J. Dairy Sci.* 80, 2673-2681.
- Pennings, J. M. E., Wansink, B., Meulenberg M. T., 2002. A note on modeling consumers reaction to a crisis: the case of mad cow disease. *Int. J. Res. Mark.* 19, 91-100.
- Perry, C.M., Donnelly, C.W., 1990. Incidence of *Listeria monocytogenes* in silage and its subsequent control by specific and nonspecific antagonism. *J. Food Prot.* 53, 642-647.
- Pesavento, G., Ducci, B., Nieri, D., Comodo, N., Lo Nostro, A., 2010. Prevalence and antibiotic susceptibility of *Listeria* spp. Isolated from raw meat and retail foods. *Food*

Control 21, 708-713.

Petersen, L.; Madsen, M. 2000. *Listeria* spp. in broiler flocks: recovery rates and species distribution investigated by conventional culture and the EiaFoss method. *Int. J. Food Microbiol.* 58, 113-116.

Pinto, P.S.A., 2008. *Inspeção e higiene de carnes*. Viçosa: Editora UFV.

Prendergast, D. M., Daly, D. A., Sheridan, J. J., McDowell, D. A., Blair, I. S., 2004. The effect of abattoir design on aerial contamination levels and the relationship between aerial and carcass contamination levels in two Irish beef abattoirs. *Food Microbiol.* 21, 589-596.

Rhoades, J. R., Duffy, G., Koutsomanis, K., 2009. Prevalence and concentration of verocytotoxigenic *Escherichia coli*, *Salmonella enterica* and *Listeria monocytogenes* in the beef production chain: a review. *Food Microbiol.* 26, 357-376.

Rivera-Betancourt, M., Shackelford, S. D., Arthur T. M., Westmoreland, K. E., Bellinger, G., Rossman, M., Reagan, J. O., Koohmaraie, M., 2004. Prevalence of *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* in two geographically distant commercial beef processing plants in the United States. *J. Food Prot.* 67, 295-302.

Rocourt, J., Jacquet, C.h., Reilly, A., 2000. Epidemiology of human listeriosis and seafoods. *Int. J. Food Microbiol.* 62, 197-209.

Rorvik, L.M.; Yndestad, M. 1991. *Listeria monocytogenes* in foods in Norway. *Int. J. Food Microbiol.* 13, 97-104.

Ryser, E.T., Marth, E.H., 1999. *Listeria, Listeriosis, and Food Safety*. 2. ed. Marcel Dekker, New York.

Sanaa, M.; Poutrel, B.; Menard, J.L.; Serieys, F. 1993. Risk factors associated with contamination of raw milk by *Listeria monocytogenes* in dairy farms. *J. Dairy Sci.* 76, 2891-2898.

Schuchat, A., Swaminathan, B., Broome, C.V., 1991. Epidemiology of human listeriosis. *Clin. Microbiol. Rev.* 4, 169-183.

Silva, S. S., Szmrecsány, T., 1996. *Historia Econômica da Primeira República*, vol. 3. Hucitec, são Paulo.

Siragusa, G.R.; Dickson, J.S.; Daniels, E.K. 1993. Isolation of *Listeria* spp. from feces of

- feedlot cattle. *J. Food Pro.* 56, 102-105.
- Skidmore, A.G., 1991. Listeriosis at Vancouver General Hospital, 1965-79. *Can. Med. Ass.* 125, 1217-1221.
- Slutsker, L., Schuchat, A., 1999. Listeriosis in humans. In: Ryser, E.T., Marth, E.H. eds. *Listeria, Listeriosis and Food Safety: Food Science and technology.* Marcel Dekker, New York pp.75-95
- Smith, B., Larsson, J. T., Lisby, L., Mueller, L., Madsen, S. B., Engberg, J., Bangsborg, J., Ethelberg, S., Kemp, M., 2011. Outbreak of listeriosis caused by infected beef met from a meals-on-wheels delivery in Denmark 2009. *Clin. Microbiol. Inf.* 17, 50-52.
- Sofos, J. N., 2008. Challenges to meat safety in the 21th century. *Meat Sci.* 78, 3-13.
- Souto Martins, I., da Conceição Faria, F. C., Lemos Miguel, M. A., de Sá Colaço Dias, M, Lopes Cardoso, F. L., de Gouveia Magalhães, .A. C., Mascarenhas, L. A., Aranha Nouér, S., Victor barbosa, A., Vallim, D. C., Hofer, E., Fernandes Rebello, R., Riley, L. W., Meurer Moreira, B., 2010. A cluster of *Listeria monocytogenes* infection in hospitalized adults american. *J. Inf. Cont.* 38, 31-36.
- Suárez, M. M., Bautista, R. M., Almela, M., Soriano, A., Marco, F., Bosch, J., Martinez, J. A., Bové, A. Trilla, A., 2007. Bacteremia por *Listeria monocytogenes*, análisis de 110 casos. *Med. Clin. Barc.* 129, 218-221
- Takahashi, T., Ochiai, Y., Matsudate, H., Hasegawa, K., Segawa, T., Fukuda, M., Hondo, R., Ueda, F., 2007. Isolation of *Listeria monocytogenes* from the skin of slaughtered beef cattle. *J. Vet. Med. Sci.* 69, 1077-1079.
- Takhistov e George, 2004. Early events and pattern formation in *Listeria monocytogenes* biofilms. *Biofilms.* 1, 351-359. Anônimo, 2010a. Brazil: How to feed the world 26/08/2010 <http://www.economist.com/node/16889019> acesso em: 18/02/2011
- Todd, E. C. D., Notermans, S., 2011. Surveillance of listeriosis and its causative pathogen, *Listeria monocytogenes*. *Food Control* 22, 1484-1490.
- United States Department of Agriculture USDA, 1996. Food Safety and Inspection Service. Pathogen Reduction / Hazard Analysis and Critical Control Point (HACCP) Systems / Specific Sample Collection Procedure CRF / Part 304, *Rules and Regulations 38931*, Washington: United States Department of Agriculture USDA, v. 144, n. 61,

1996.

United States Department of Agriculture USDA, 2011. Isolation and identification of *Listeria monocytogenes* from red meat, poultry, egg and environmental samples, revision 3, April 29, 2002. Microbiology Laboratory Guidebook <http://www.fsis.usda.gov/OPHS/microlab/mlgbook.htm> acesso em 02/02/2011

Vanderlinde, P. B., Shay, B., Murray, J., 1998. Microbiological quality of Australian beef carcass meat and frozen bulk packed beef. *J. Food Prot.* 61, 437-443.

Warriner, K, Namvar, A., 2009. What is the hysteria with *Listeria*?. *Trends F. Sci Tech.* 20, 245-254

Winter, C. H., Brockmann, S. O., Sonnentag, S. R., Schaupp, T., Prager, R., Hof, H., Backer, B., Stegmanns, T., Roloff, H. U., Vollrath, G., Kuhm, A. E., Mezger, B. B., Schmolz, G. K., Klittich, G. B., Pfeff, G., Piechtowski, I., 2009. Prolonged hospital and community based listeriosis outbreak caused by ready-to-eat scalded sausages. *J. Hosp. Inf.* 73, 121-128

WTO, World Trade Organization, 2011. <http://www.wto.org> acesso em: 10/02/2011

Zavanella, M., Cantoni, C., 2005. Microrganismi negli ecosistemi alimentari. em: Rondanelli, E. G., Fabbi, M., Marone, P., (Eds,) 2005. Trattato sulle infezioni e tossinfezioni alimentari. Selecta Medica Milano

Zweifel, C., Baltzer, D., Stephan, R., 2005. Microbiological contamination of cattle and pig carcasses at five abattoirs determined by swab sampling in accordance with EU Decision 2001/471/EC. *Meat Sci.* 69, 599-566.

**SIMILARITIES AND RELATIONSHIP BETWEEN BRAZILIAN AND
EUROPEAN LEGISLATION CONCERNING BOVINE MEAT PRODUCTION
AND SAFETY**

*SIMILARIDADES E RELAÇÕES ENTRE AS LEGISLAÇÕES BRASILEIRA E EUROPEIA
SOBRE A PRODUÇÃO E SEGURANÇA DA CARNE BOVINA*

Artigo preparado conforme as normas da revista Food Policy

ABSTRACT

Bovine breeding is an important sector of Brazilian primary sector. Brazil is the first exporter of bovine meat of the world and the second beef meat producer. International market of foods of animal origin depends on the compliance to a wide set of laws implemented from the importers countries in order to protect herd sanity, consumer health and fair trade. One of the most important international markets for Brazilian beefs has always been the European one, since the very beginning of industrial beef slaughtering at the beginning of the XX century. The aim of this article is to compare the historical development of Brazilian and European food laws concerning bovine meat, in order to establish correlations and associations between them and their impacts of them on the Brazilian beef production and exportation. We developed a directional search on data of exportation of Brazilian beef meat to Europe, and legislations of Brazil and European countries concerning bovine and beef production (using the web official tools EUROLEX and SISLEGIS/VISALEGIS, both from European Community and Brazil, respectively), and current bibliography. The obtained data were categorized in the following themes: animal health, residuals in animal origin foods, microbiological requirements for foodstuffs, animal traceability and animal welfare. By our results it may be seen that, since the beginning of industrial exploitation of beef, Brazilian laws took those of the main importing countries (USA, United Kingdom, France and Germany) as a benchmark, which is consistent with the relevance of European market until the end of the decade of 1990. In the last years, because of the global harmonization of food laws, one of the aims of the Sanitary and Phyto-Sanitary Agreement (World Trade Organization), European food laws are no longer the only model for the development of animal health and food safety in Brazil but are still very important, considering the importance of Europe for the exportation of Brazilian meat.

Keywords: beef, Brazil, European Union, exportation, legislation, international trade

RESUMO

A criação de bovinos é uma atividade muito importante do setor primário brasileiro. O Brasil atualmente é o segundo maior produtor de carne bovina do mundo e o primeiro exportador. O comércio internacional de alimentos de origem animal depende do cumprimento de um grande número de normas definidas pelos países importadores visando a proteção da saúde do rebanho, dos consumidores e a manutenção dos acordos comerciais. Historicamente, o mercado europeu sempre foi um dos mais importantes para a carne bovina brasileira, desde o início do século XX quando iniciou a industrialização dessa atividade. O objetivo deste artigo foi comparar as legislações européias e brasileira sobre a produção de carne bovina, procurando estabelecer correlações e associações entre as mesmas, e verificar qual foi o impacto da promulgação de novas normas para a produção de carne bovina no país. Em paralelo, foi realizada uma análise da evolução do volume de carne bovina exportada para países europeus, além de uma revisão bibliográfica extensa sobre as legislações relacionadas a carne bovina publicadas no Brasil e Europa, utilizando ferramentas de busca oficiais (EUROLEX, SISLEGIS, VISALEGIS), e literatura sobre o assunto. As normas selecionadas foram categorizadas nos seguintes temas: saúde animal, resíduos e contaminantes, padrões microbiológicos dos alimentos de origem animal, rastreabilidade dos animais e bem estar animal. A nossa pesquisa mostrou que desde o início da exploração industrial da carne bovina no Brasil, o país utilizou as legislações dos principais países importadores (EUA, Inglaterra, França e Alemanha) como um modelo, compatível com a importância do mercado europeu considerado destino principal da carne bovina brasileira no até a década de 1990. Posteriormente, com a necessidade de harmonização das legislações internacionais decorrentes do SPS (Acordo Sanitário e Fitosanitário, da Organização Mundial do Comércio), as normas européias passaram a não ser mais o único modelo para o desenvolvimento da saúde veterinária e da segurança dos alimentos no Brasil. Entretanto, o mercado europeu ainda é considerado importante para a carne bovina brasileira principalmente devido a valorização monetária desse produto.

Palavras-chave: carne bovina, Brasil, União Européia, exportação, legislação, comércio internacional

1. INTRODUCTION

Since the beginning of the XXI century, Brazilian economy is growing higher and higher. Several national industries, especially in the fields of oil business, cosmetics and clothes are known worldwide. Although, the fastest growth of Brazilian economy is in the primary sector: grains, fruits and meat production make the Brazil being called “world's grain bin” (Monteiro e Pregnaca, 2010; Anonymous, 2010a, 2010b, 2010c).

The importance of bovine meat industry in Brazil has also grown in the last years. Historical data since 1994 show an increasing in the production of bovine meat, both in terms of volumes (26 millions heads slaughtered in 1994; 43.6 millions in 2009) and of value: the exportation of Brazilian beef meat produced US\$ 573 million in 1994 to US\$ 4,950 million in 2009. (ABIEC, 2011). These data put Brazil as the second (greatest) world producer of bovine meat, covering almost 15% of world production (over 9 million tons in 2009), following the United States (19% of world production, 11 million tons in 2009). However, Brazil is also the first world exporter (almost 1.2 millions tons exported in 2010) and the second world consumer (almost 7.5 million tons in 2010). Exportation of Brazilian meat valued over US\$ 317 million in 2010 (ABIEC, 2011). As reflex of this panorama, JBS-Friboi, largest Brazilian industry of bovine meat processing, is considered the world largest industry of proteins production (Monteiro & Pregnaca, 2010; JBS, 2011).

Exportations of Brazilian beef are directed to over 100 countries in the world. The highest importers of Brazilian production are Russia and countries from North Africa and Middle East (such as Iran, Egypt, and Saudi Arabia). At the end of the 1990 decade, European countries were the first importers of Brazilian meat, responsive for almost 65% of the exported volume and over 70% of the bill. Nowadays, according to the latest data of ABIEC (2011), less than 10% of exported beef meat is directed to Europe (Figure 1), but still it generates a good income, as 14% of the exportation bill comes from European countries. Even if Europe is no longer the first market for the exportation of Brazilian beef, European countries still pay more than others to have this product, and therefore for Brazil is worth to be paid attention on their requirements and necessities (Figure 2).

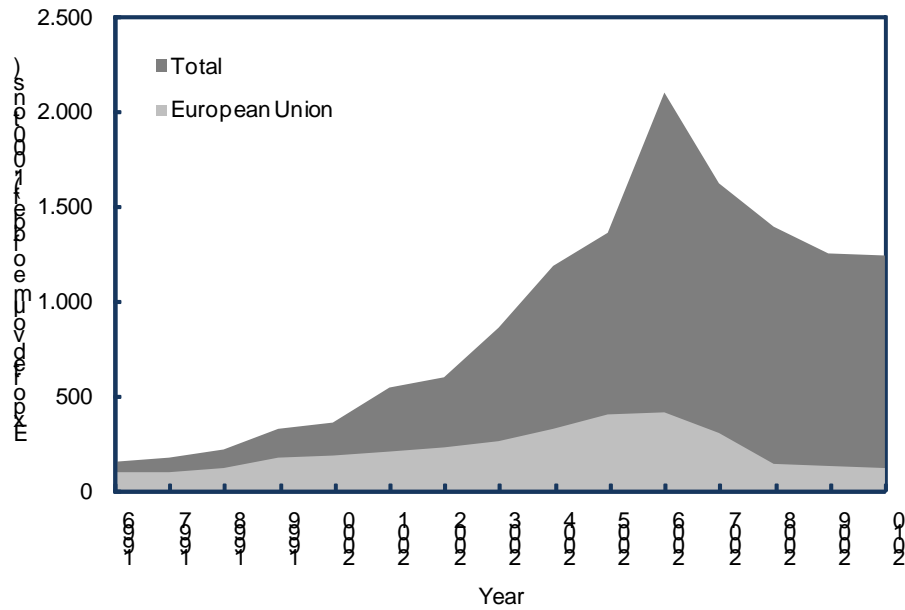


Figure 1. Evolution of Brazilian beef exportation (total and to Europe Union countries) between 1996 and 2010 (in 1,000 tons., ABIEC, 2011).

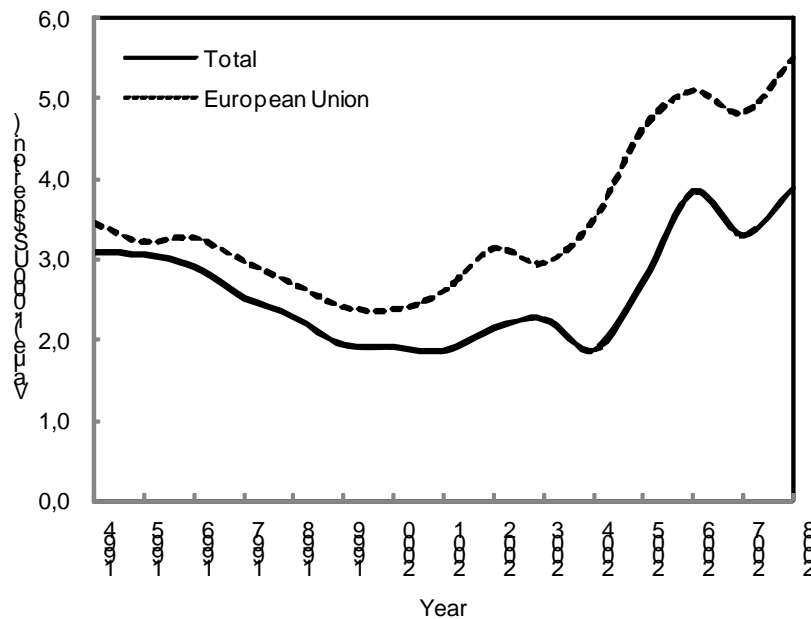


Figure 2. Value paid per ton. of Brazilian beef globally and by Europe Union countries (ABIEC, 2011).

Considering the close commercial relation with European countries in the decade of 1990, and the need of legislation development and refining due to the international partnerships, Brazil started a process of actualization and development of its legislation

concerning beef production and processing. Considering that European countries were relevant partners in this trade, European laws were naturally examples for Brazilian development of similar laws. In addition, laws concerning animal sanity were developed in an international context, in order to avoid the spread of some relevant diseases for animal production, mainly when the health for human was jeopardized due to zoonosis. At the end of the chain, the economic losses due to these problems were the more reliable justification for these updating.

Considering the international trade of bovine meat, and the necessity of adequacy of production and procession rules for this product, and the relevance of the bovine meat produced in Brazil in this context, the objective of this paper is to verify the evolution of the Brazilian and European legislations and the effect of promulgation of new laws in Europe on the exportations of brazilian beef.

2. MATERIAL AND METHODS

We performed a chronological analysis of current and past legislation related to bovine meat, using official legislation web search tools from European Union (EU, EUROLEX: <http://eur-lex.europa.eu/>) and Brazil (SISLEGIS: <http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis/> and VISALEGIS: <http://www.anvisa.gov.br/legis/>), and also bibliography related to food legislation, beef production data and food inspection history (ABIEC, 2011; Pardi, 1996).

Considering the obtained data, the most relevant laws were categorized in the following themes: animal health and prevention of epizootic diseases, residuals and contaminants in foods and feeds, food safety, animal and food traceability, and animal welfare. According to the selected laws, we performed a critical analysis, considering the date of publication, and similarities and correlations between correspondent laws. Finally, we analyzed the evolution of the beef market in the last years in Brazil (production, internal consumption, exportation) considering the impact of international and national legislation on it.

This analysis allowed the verification of the interference of the European and the international trade in the development of Brazilian beef market and legislation, and also the impact over the social and economic situation of Brazilian population.

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1. Overview of the development of European legislation on beef

The history of development of European legislation on food safety and animal health cannot be separated from the history of the European Union self, as agricultural sector represent an important voice of EU market and of EU budget, since its very beginning. After the end of Second World War (WWII), Europe faced the need to rebuild all that war had destroyed, including all economic sectors, from new houses building, to the provision of foods to all citizens. In 1950 the first treaty among European countries to build a common market and to ease the commerce among states creates the “European Coal and Steel Community”. Seven years later the Treaty of Rome creates the European Economic Community (EEC). Founders countries were Belgium, France, Germany, Italy, Luxembourg and the Netherlands. Among the aims of the Treaty of Rome, the development of a Common Agricultural Policy (CAP), to foster the production of food at reasonable prices after the years of shortages caused by war (European Union, 2011).

During the 1960 decade the first laws were published in order to regulate the international trades of animals and animal origin products among the states of the European Economic Community, preventing the risk of diffusion of animal diseases (EEC Directive 432/1964) (EEC, 1964a), and improving the commerce of safe foods (EEC Directive 433/1964) (EEC, 1964b). The international commerce of live animals began to develop, considering the aptitudes of different countries to the breeding of meat bovines and the growing demand of the different member states. These trades were fostered during the 1960 decade, with the elimination of customs duties among the members of EEC when they trade with each others. The international commerce of live animals and animal origin products opened the risk of a wider diffusion of infectious diseases among different states. EEC regulated the commerce of live animals with Directive 462/1972 (EEC, 1972). Main focus of legislation on infectious diseases is on three very important diseases: brucellosis, tuberculosis and foot and mouth disease (FMD). As EEC begun to realize the necessity to import meat product from countries outside EEC, specific laws were developed to regulate international trades of animals and animal origin foods in order to reduce the risk of transmission of diseases. The first regulation was in 1964 (Directive 432 and 433/1964) (EEC, 1964a, 1964b) followed by complementary laws in the next years (Directive

462/1972 and decision 542/1979) (EEC, 1972b; EEC, 1979), which have been modified several times since then. Decision 542/1979 (EEC, 1979) regulates the list of foods that can be imported from other countries, including bovine meat from Brazil. Then, Directive 894/1982 (EEC, 1982), Directive 662/1989 (EEC, 1989a), Directive 425/1990 (EEC, 1990a) and Directive 426/1990 (EEC, 1990b), regulated the notification of infectious diseases, the veterinary checks at borders for intracommunitary trades of live animals and animal origin foods. Directive 78/1997 (EC, 1997a) regulated the veterinary checks to be performed on animal products entering the EEC. Any of these laws have been amended several times to be updated to the evolution of international commerce and to the advances in scientific knowledge on animal diseases.

During the decade of 1980, among European citizens began to rise the perception of the risk posed by chemical contamination of environment and foods, mainly after the diffusion of the book “The Silent Spring” by Rachel Carson (Carson, 1962) which had warned on the risks posed by the extensive use of pesticides on the environment. In 1986 the EEC fixes the maximum acceptable levels for pesticide residues on foodstuffs of animal origin (EEC, 1986a). 7 years later the concept of “contaminant” is widened in the Reg. 315/1993 (EEC, 1993a). According to this norm, contaminant means:

“any substance not intentionally added to food which is present in such food as a result of the production (including operations carried out in crop husbandry, animal husbandry and veterinary medicine), manufacture, processing, preparation, treatment, packing, packaging, transport or holding of such food, or as a result of environmental contamination. Extraneous matter, such as, for example, insect fragments, animal hair, etc, is not covered by this definition”.

Maximum levels of contaminants were first determined by Reg 194/1997 (EC 1997d), later modified by Reg. 466/2001 (EC, 2001a) and Reg 1881/2006 (EC, 2006). This last norm has been modified several times until now.

Besides the risk posed by contaminants, unintentionally present in foods, another chemical risk is posed by residuals of drugs in foods. The first regulations on this matter date back to 1981 (Dir. 602/1981, EEC, 1981) and prohibits the use of substances with hormonal activity or thyrostatic action. Later in 1985 this norm was supplemented by Dir. 358/1985 (EEC, 1985). One year later, in the Dir. 469/1986 (EEC, 1986b) the concept of

“residues” was widened to include any “*residue of substances having a pharmacological action and of conversion products thereof and other substances transmitted to meat and which are likely to be dangerous to human health*” (EEC, 1986b) including mainly antibiotics and hormones. In this same directive, third countries importing live animal and meat to European Community should provide details on the monitoring plan which is put in action in the country for checking of residuals of those contaminants listed in the norm. From this norm on, it was realized a list of countries providing adequate information, that are authorized to import animals and meat to Europe Dec. EEC 15/1989 (EEC, 1989b). . Among these countries, Brazil was presented at that time, due to the existence of a national monitoring plan for residuals and contaminants in foods (that will be discussed later).

The 1990 decade drove another new sensibility among European consumers: animal welfare. Following this new perception, it was published the directive EEC 119/1993 (EEC, 1993b). In the same year, the Maastricht Treaty creates the European Union (EU). Still at the end of 1980 decade, 1986, the United Kingdom, started to detect in their production animals an increase in the number of cases of bovine spongiform encephalopathy (BSE) (PAHO, 2002). The epidemic of this prionic disease opened a deep crisis in the social trust of European citizens on food safety, and a serious fall in the international market of bovine meat. At the same time, BSE showed the faintness of European legislation on traceability of animals and foods along the commercial net. In order to prevent the spread of the disease, Europe reacted (decision 469/1989) banning the sell to other States of bovines born before July, 1988 or born to females positive or suspected of BSE. In 2006 the BSE crisis deepened as it was discovered the relation between the disease and a variant of the human prionic Creutzfeld Jakob disease (CJD), affecting younger people as usually should happen with the sporadic CJD (Baker, Ridley, 1996).

Considering the increasing concern of consumers by food safety, and consequently quality, EU begun a revolution on food legislation in 1999, introducing a new strategy for the integrated inspection of the whole food chain, from the feeds , to the foods sold to the consumers (from stable to table as it is commonly known). Scientific bases of these new strategies have been suggested considering the recommendation of the *Codex Alimentarius* commission, mainly based on the White Paper on Food Safety, published in 2000 (EC, 2000a). One of the first laws of this new pathway of EU toward food safety has been the Regulation EC 1760/2000 (EC, 2000b), which establishes new rules on the

identification and registration of bovine animals and labelling of bovine meat, repealing the previous regulation EC 820/1997 (EC, 1997c). In the initial considerations of this regulation, the importance of establishing a new confidence of European consumers on bovine meat consumption was stated and according to this law, it has to be based on transparency:

“Following the instability in the market in beef and beef products caused by the bovine spongiform encephalopathy crisis, the improvement in the transparency of the conditions for the production and marketing of the products concerned, particularly as regards traceability, has exerted a positive influence on consumption of beef. In order to maintain and strengthen the confidence of consumers in beef and to avoid misleading them, it is necessary to develop the framework in which the information is made available to consumers by sufficient and clear labelling of the product” (EC, 1997c)

Years later, Regulation EC 1082/2003 (EC, 2003) and Reg. EC 911/2004 (EC, 2004a) implemented this law, giving specific indication on proper identification of bovines and beef, and showing the importance of traceability and certification of the origin of all foods for the EU as a primary tool to prevent the occurrence of disease and risk for human and animal health. Considering these new rules, the new European legislation on food safety was not limited to BSE and traceability of animals and foods, but changed every previous law on this theme, modifying the point of view of legislation and jointing a wide set of previous norms, both national and communitarian in wide regulations directed to the entire European Community.

The protection of animal welfare has been of concern of the European Community since the end of the 1970 decade. Since then, more than 1,700 documents were published concerning this. The first relevant norm was the European convention for the protection of animals kept for farming purposes, from 1978 (EEC, 1978). Several modifications were published since then, mainly focusing on transport, slaughtering and intensive breeding. Welfare during transport of live animals has been regulated since the Directive 628/1991 (EEC, 1991a), first specific law on this theme, dealing on animal welfare as a part of broader themes: veterinary checks at borders and intra-communitary trades of live animals. Welfare during slaughter has been ruled since the Directive 119 on the protection of animal

at the time of slaughtering or killing (EEC, 1993b). Welfare during intensive breeding, such as it is in the case of calves breeding was published in 1991 with the Directive 629, laying down minimum standards for the protection of calves (EEC, 1991b).

New European legislation focuses mainly on the consumers safety, highlighting the importance of food safety strategies based on HACCP (Hazard Analysis and Critical Control Points) and Risk Assessment, in order to reduce the eventuality of accidents and to reduce the cost of these for food producers, as indicated in the introducing consideration of the EU Regulations 178/2002 (EC, 2002) and 852/2004 (EC, 2004b). In order to give a scientific basis to the European activities on food safety, Regulation 178/2002 (EC, 2002), grounding of the new EU food laws, created the EFSA (European Food Safety Agency), on the model of the American Food and Drug Administration (FDA). A very important modification on food safety strategy was the shifting of the responsibility on food safety from competent authorities to food business operators. European legislation laid down minimal hygiene requirement, giving to food business operators a higher freedom and responsibility on how high security level they want to implement in their business. This shift was crucial, as it required a higher knowledge on food safety and food legislation from producers. The importance of food inspection by competent authorities is still out of question, but their duty becomes not just to verify the quality of the final products, but also to audit the compliance of food business operators to the protocols of good hygienic practices and HACCP they self wrote, in a discussion that should be based not just on law compliance, but also on actual and updated scientific knowledge.

Another important sector of food legislation was the provision of criteria of microbiological safety that must be applied to foods (of animal origin). These criteria have been first established by the Regulation 2073/2005 (EC, 2005), later modified by regulation 1441/2007 (EC, 2007b). Regulation 2073/2005 joined together several previous regulations establishing microbiological criteria for specific kinds of foods (as described in the considerations at the beginning of the norm) and *Codex Alimentarius* suggestions (Codex Alimentarius, 1997) on establishment and application of microbiologic criteria for foodstuffs. Regulations 2073/2005 and 1441/2007 are divided in two parts: the former establishes safety criteria for foods, which indicate limits of established pathogens in foods (food safety criteria), the latter indicate limits of indicating bacteria that indicate the hygiene of food processing (process hygiene criteria). Concerning to beef, legislation simply indicates, *Salmonella* spp. must be absent in 25 grams, as it should be in most of the

foods considered by the law. In relation to process hygiene, the norm established limits of total viable count bacteria (average below 3.5 log) and of Enterobacteriaceae (average below 1.5 log). A previous norm, Decision EC 471/2001 (EC, 2001c) yet established the same limits of bacterial contamination on beef carcasses and indicated the frequency of monitoring of process hygiene that should be performed during slaughtering. According to this law, between 5 and 10 carcasses should be sampled on a single day during each week, halfway through the slaughter day and before the chilling start in order to highlight the hygiene of slaughtering.

3.2. Overview of the development of Brazilian legislation on beef

The potential of Brazil for the production of beef has been known since the second half of the XIX century, when French and German industries (Brazilian Extract of Meat & Hide Company was one of the first, in 1888) built slaughterhouses and processing units for the production of meat extract (Pardi, 1996). At the beginning of the XX century, first World War (WWI) stimulated the necessity of large quantities of meat to feed the allied troops. In order to provide food for the troops at war, American, British and Brazilian trades began to exploit the potentialities of Brazil for the production of bovines and built the first industrial bovine slaughterhouses in the state of São Paulo, in the south-eastern region of the country, as it was the best developed in terms of cattle breeding, railways and harbours. In 1914 began the exportation of frozen, chilled, corned and salted beef, sold at the West Smithfield market in London from the first industrial abattoirs, produced by the “Companhia Frigorífica e Pastoril” of the city of Barretos, in the state of São Paulo (Pardi, 1996).

Even the highest demand for meat from the armies at war, foreign industries in Brazil concerned to provide safe food for the soldiers, requiring the application of strict regulations for the hygienic production of foods. Considering this, Brazilian legislation about food began to develop. In 1915 and 1921 the first laws on the inspection of meat were published and a national system of food inspection was implemented in the entire country (*Decreto* 11462/1915: institution of the national inspection service of animal products factories) (Pardi, 1996). American and British standards on red meat inspection were a benchmark for Brazilian veterinarians. Recognising the importance of this, in 1918, the ministry of Agriculture published a law supporting veterinarians to travel abroad to

learn in foreign structures of breeding and food processing (*Decreto* 13028/1918) (Pardi, 1996). Foreign industries were at that time a model to be applied to national ones, both industrial and smaller ones.

After the end of WWI the development of beef industries did not stop. In 1935 the first (large scale) industrial slaughterhouses committed by Brazilian industries on European project were built. WWII stimulated once again the sector of beef processing, as Brazilian industries provided again food for allied and national troops. The concerns for food safety and quality were still current, improving the production and processing systems in Brazilian slaughterhouses. In 1952 a new law set the standards for the production of any kind of food of animal origin: “*Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária dos Produtos de Origem Animal*” (Regulation for the Industrial and Sanitary Inspection of Animal Origin Products), usually called “RIISPOA” (Brasil, 1952). Since then, this law has been updated many times, according to the scientific discoveries, and is still the core of Brazilian food inspection legislation (Pardi, 1996).

Concerning the first step of animal production, the Brazilian regulations of bovine meat production predict the animal health and the prevention of spreading of cattle and zoonotic diseases. Brucellosis and tuberculosis were the main focus of control in bovines. In 1965, Brazil promulgates the technical rules for the prophylaxis of brucellosis (*Decreto* 57165/1965, Brasil, 1965), modelling on the European law that had been promulgated just one year before: EEC Directive 432/1964 (EEC, 1964a). The control of this disease was detailed by *Portaria* 23 (Brasil, 1976) based mainly on its prophylaxis, and many years later, when a national plan for the control and eradication of bovine brucellosis and tuberculosis was established by *Instrução Normativa* 2 (Brasil, 2001a). The prophylaxis of bovine tuberculosis, in spite of the relevance of the disease and its impact on dairy products, did not have national regulations, nor standard control procedures with value at national level, until the *Instrução Normativa* 2/2001 (MAPA/SDA/DSA, 2006).

FMD was another disease included in the control programs in Brazil, mainly due to its high lethality among animal breeds, representing a cause of impressive economic losses and must, therefore be fought. Brazilian legislation on FMD dates back to 1948 (*Lei* 569/1948), establishing the compulsoriness of refund the land-owner in case of the necessity to eliminate animals to prevent the spreading of infectious diseases (Brasil, 1948), followed by modifications and protocols when cases and outbreaks of the disease were detected (*Ofício Circular* 06/2001, Brasil, 2001b). Finally, in 2007 a complete law

established the eradication plan for this disease, *Instrução Normativa* 44/2007 (Brasil, 2007a).

Concerning BSE, the production characteristics of cattle breeding in Brazil are not compatible with the development of the disease, keeping its risk very low. However, the European outbreaks influenced the confidence on Brazilian meat, even by the Brazilian population, leading the publication of the *Instrução Normativa* 2 (Brasil, 1993) in order to prevent the entry of BSE and other encephalopathies in Brazil. Since then, other laws have been approved in order to guarantee the safety of Brazilian beef meat. The most important laws on BSE and others spongiform encephalopathies were: *Portaria* 290/1997, prohibiting the use of ruminant derived proteins in the feeding of ruminants (Brasil, 1997a); *Portaria* 516/1997, declaring Brazil as free from bovine spongiform encephalopathy (Brasil 1997d); the *Instrução de Serviço* (service instruction) 1/2002 establishes procedures for the inspection of at risk animals at slaughtering (Brasil, 2002b). *Instrução Normativa* 8/2004, prohibited production, commercialization, and sell of products destined to the feeding of ruminants, containing proteins and fats of animal origin (Brasil, 2004). In 2008 several laws were promulgated related to BSE: *Instrução Normativa* 15, indicating protocols of action in case of suspect or confirmation of scrapie disease (Brasil, 2008a); *Instrução Normativa* 34 on processing and transporting of residuals of animals (Brasil, 2008b), and *Instrução Normativa* 49/2008 establishing risk categories for BSE and classifying countries for the risk of BSE (Brasil, 2008c). The control of residuals in meat began in Brazil in 1979 as the *Portaria* 86/1979 was promulgated, promoting the control of residuals of herbicides, inseticides, antibiotics, heavy metals and hormones in meat (Brasil, 1979). Later, this norm was substituted by the *Portaria* 51/1986 (Brasil, 1986) instituted the PNCR: “*Plano Nacional de Controle de Resíduos*” (National Plan for Residues Control). Initially this legislation established a simple plan of monitoring and identification of main chemical residues were the most frequent on animal origin foods, without any kind of technical or operative information for its application. Officially, the PNCR started in 1995, after the regulation by the *Portaria* 527 (Brasil, 1995). Then, the *Instrução Normativa* 42/1999 (Brasil, 1999) modified the PNCR detailing a specific monitoring plan that had been developed for the different foods of animal origin. Later, the *Instrução Normativa* 26/2009 (Brasil, 2009a) established rules for the fabrication and use of antimicrobial products intended for veterinary use. Every year an *Instrução Normativa* is published to describe the control plan for the presence of

residuals of drugs in animal origin foods. An example of it is the *Instrução Normativa* 8/2010, relative to the programmed control plan for foods in 2010 (Brasil, 2010).

In parallel, the ANVISA (*Agência Nacional de Vigilância Sanitária*: National Agency of Sanitary Surveillance, a branch of Brazilian Ministry of Health) published in 2003 a national program to control veterinary drugs residues in foodstuff, called PAMVet (*Resolução RDC 253, Programa Nacional de Análise de Resíduos de Medicamentos Veterinários em Alimentos Expostos ao Consumo*, National Program for Analysis of Veterinary Drugs Residues in Foodstuff), based on the recommendations of *Codex Alimentarius* in establishing the maximum residues limits of the main drugs used in animal production (Brasil, 2003). As for PNCR, PAMVet publishes periodically results of analysis for drug residues in foodstuff.

Another relevant point of Brazilian food (and beef) production is the traceability of animal and animal origin foods. A mission to Brazil of European Directorate general for Health and Consumers (DG-SANCO) commission performed in 2001 (DG-SANCO 3462/2001, DG-SANCO, 2001) noticed serious deficiencies in the proper registration of animals to be slaughtered for the production of meat intended to EU market. After this audit, Brazil developed the national system of identification of animal, the so called “SISBOV” (*sistema brasileiro de identificação e certificação de origem bovina e bubalina* - Brazilian system of identification and certification of bovine and bubaline products) (*Instrução Normativa* 1/2002) (Brasil, 2002a), but further improvement were necessary, according to the report of further audits performed in 2004 (DG-SANCO 7145/2004, DG-SANCO, 2004). Further improvements of SISBOV occurred after this, by *Instrução Normativa* 17/2006 (Brasil, 2006a) and *Instrução Normativa* 49/2007 (Brasil, 2007b). Last audit performed by DG-SANCO (DG-SANCO 8493/2010, DG-SANCO, 2010) recognised the Brazilian systems of identification of animals and meats were satisfactory to the exportation to EU.

Animal welfare is discussed in three norms in the Brazilian legislation. The oldest is the *Decreto Lei* 24645, from 1934, that until now is the only specific Brazilian law on animal welfare. Animal welfare at slaughtering is discussed by the *Instrução Normativa* 3/2000 and the theme of welfare of animal is also approached in general form in the *Instrução Normativa* 64/2008 on organic agriculture.

Brazilian legislation also followed the tendency of the international trend to control the quality and safety of animal origin products in all food chain, since the

production level to the consumers house (farm to fork). Concerning this, two *Portarias* published in 1997 (326/1997 and 368/1997) (Brasil, 1997b, 1997c) established the requirements for the hygienic production of foods. One year later, another *Portaria* (46/1998) (Brasil, 1998) indicated that the HACCP approach to food risks should be gradually implemented in food producing industries. The importance of the use of HACCP strategy is once again pointed out in the *Decreto* 5741/2006 (Brasil, 2006b) which institutes the SUASA (*Sistema Único de Atenção a Sanidade Agropecuária* - Unified System of Attention to Agricultural and Livestock Sanity). The development of SUASA was a very important step for the development of Brazilian agriculture and animal production sectors. It had been already planned 15 years earlier by the law 8171/1991 (Brasil, 1991) on agricultural policy. SUASA was also determined as the responsible for the development of Risk Analysis programs and studies for foods produced in Brazil.

In order to uniform the Brazilian approach to HACCP plans construction and auditing in meat industries, in 2005, Brazil published two *Circulares*: 175 e 176. The former norm fits the approach to the inspection of HACCP plans by the competent authorities, giving specific indications for any sector of an industry of meat products, giving specific references to European CE and American USDA regulations. The latter specifies how inspections and auditing in beef production plants should be performed. These two norms are “operative guides” for the inspectors, which may be very useful in the proper conducting of inspection of industries (Brasil 2005 b,c).

Finally, the microbiological requirements for foods for human consumption were published by ANVISA first through the *Portaria* 451/1997 (Brasil, 1997e), later modified by the , *Resolução-RDC* 12/2001 (Brasil, 2001c), that is still valid nowadays. The food safety requirement for beef is only the absence of *Salmonella* in 25 grams of product. Hygiene requirements (in terms of maximum levels of contamination by indicating bacteria, such as *E. coli* or coliforms) have not been considered for beef, but only for meat preparations, where a maximum of 10^4 termotolerant coliforms was determined. The *Instrução Normativa* 40/2005 (Brasil, 2005a) established standard methods for the isolation of *Salmonella* in foods and *Instrução Normativa* 9/2009 (Brasil, 2009b) established standard methods for the isolation and control of *Listeria monocytogenes* in ready to eat foods.

3.3. General considerations

As it can be seen from the description of European and Brazilian historical development of legislation of animal health and food safety, both cover the same themes under the current and historical legislation. From the historical point of view, it can be seen how legislations have developed together, covering the same themes, often in the same periods. Figures 3, 4 and 5 show the chronology of the main laws related to bovine meat production, covering the subject areas considered in the present study. The requirements of European markets have stimulated the necessity in the Brazilian government to cover specific themes of legislation, as it happened on animal identification and traceability. At this moment, how has been stated by the last audit of EU on the production of bovine meat and certification procedures (DG-SANCO 2010-8493, DG-SANCO, 2010), Brazilian situation on bovine meat establishments and bovine certification is considered satisfactory.

Considering the publication of specific laws, on specific themes, it can be verified that the trade of beef between Brazil and EU countries varied according to some key events. Since 1996 occurred two periods that can be considered as critic: the first has been between 1996 and 2002, and the second since 2007 and is lasting until now (Figures 1, 2). The first crisis of beef market is subsequent to the BSE crisis. In 1996 for the first time was discovered the correlation between BSE and the human variant of Creutzfeld-Jakobs disease (vCJD). This event unchained in the public the consciousness that BSE could affect people, and not only animals (BBC, 2011). This consciousness caused a deepest fall in the European and global consumption of beef, especially meat from those countries, that used intensive breeding of bovines and integration of feed with meat flour, such as most of European countries (Pennings et al., 2002; Leemig and Turner, 2004; Lloyd et al., 2006). The critical situation led to a fall of prizes of beef, that is visible from US\$ 3.28 to US\$ 2.38 per kg (Figure 2). The market of beef from countries such as Brazil, which use extensive pasture, was less affected by BSE crisis. Brazil could take advantage of this situation and, even the fall of prices, incremented its exportation (Figure 1). In the same period, it can be verified the publication of several laws concerning BSE (Figure 3), indicating the alert of regulatory organs to control it.

Europe	Decade	Brazil
	1940	Lei 569/1948 - <i>Foot and Mouth Disease</i>
1950 - Foundation of the "European Coal and Steel community"	1950	Decreto 30691/1952 - <i>RIISPOA: Regulation for the Industrial and Sanitary Inspection of Animal Origin Products</i>
1957 - Treaty of Rome: European Economic Community	1960	
Directive 432/1964 - <i>Diffusion of animal diseases</i>		Decreto 57165/1965 <i>Brucellosis control</i>
Directive 433/1964 - <i>Diffusion of animal disease through fresh meat trade</i>	1970	Portaria 23/1976 - <i>Brucellosis control</i>
Decision 462/1972 - <i>Trade of live animals</i>	1980	
Decision 542/1979 - <i>Foods importation</i>		
Directive 894/1982 - <i>Notification of infectious diseases</i>	1990	
Directive 662/1989 - <i>Notification of infectious diseases</i>		
Decision 469/1989 - <i>BSE contamination, prevention of exportation of bovines from UK</i>		
Directive 425/1990 - <i>Animal diseases and intra-comunitary trades</i>	2000	Portaria 290/1997 - <i>Bovine Spongiform Encephalopathy</i>
Directive 426/1990 - <i>Animal diseases and importation of animals from third countries</i>		
Directive 78/1997 - <i>Check for products entering the community from third countries</i>		
Regulation EC 999/2001 - <i>Bovine Spongiform Encephalopathy</i>		Instrução Normativa 2/2001 - <i>National plan for animal brucellosis and tuberculosis eradication and control</i>
		Ofício Circular 6/2001 - <i>Foot and Mouth Disease</i>
		Instrução Normativa 1/2002 - <i>SISBOV (Brazilian system of identification and certification of bovine and bubaline products)</i>
		Instrução Normativa 17/2006 - <i>SISBOV improvement</i>
		Instrução Normativa 44/2007 - <i>Foot and Mouth Disease plan</i>
		Instrução Normativa 49/2007 - <i>SISBOV improvement</i>
Regulation 722/2007 - <i>Bovine Spongiform Encephalopathy</i>		Instrução Normativa 49/2008 - <i>BSE risk categories</i>

Figure 3. Main laws on animal diseases and animal identification from European Union and Brazil.

Europe	Decade	Brazil
1950 - Foundation of the "European Coal and Steel community" 1957 - Treaty of Rome: European Economic Community	1950	Decreto 30691/1952 - <i>RIISPOA: Regulation for the Industrial and Sanitary Inspection of Animal Origin Products</i>
	1960	
	1970	Portaria 86/1979 <i>Control of residuals in foodstuffs</i>
Directive 602/1981 - <i>Prohibition of substances with hormonal activity and thyreostatic action</i> Directive 358/1985 - <i>Chemical residues in animals and foods</i> Directive 363/1986 - <i>Maximum levels for pesticide residuals in or on foodstuffs of animal origin</i> Directive 469/1986 - <i>Examination of animals and fresh meat for the presence of residuals</i>	1980	
Directive 15/1989 - <i>On the importation of live animals and fresh meat from certain third countries</i>		Portaria 51/1986 - <i>National Plan for Residues Control (PNCR)</i>
Regulation 315/1993 - <i>Establishment of maximum levels of residues (MLR)</i> Regulation 194/1997 - <i>Establishment of maximum levels of contaminants in foodstuffs (MLC)</i>	1990	Portaria 527/1995 - <i>PNCR application</i>
Regulation 466/2001 - <i>Establishment of MLR and MLC</i> Regulation 1881/2006 - <i>Establishment of MLR and MLC</i>	2000	Instrução Normativa 42/1999 - <i>Sampling plan for PNCR</i> Resolução RDC 253/2003 - <i>PAMvet: National Program for Analysis of Veterinary Drugs Residues in Foodstuff</i> Instrução Normativa 26/2009 - <i>Antimicrobials use for animals and food production</i>

Figure 4. Main regulations on chemical residues on animal origin foods from European Union and Brazil.

Europe	Decade	Brazil
	1930	Decreto Lei 24645/1934 - <i>Animal welfare</i>
	1940	
1950 - Foundation of the “European Coal and Steel community” 1957 - Treaty of Rome: European Economic Community	1950	Decreto 30691/1952 - <i>RIISPOA: Regulation for the Industrial and Sanitary Inspection of Animal Origin Products</i>
	1960	
1979 - European Convention for the protection of animals kept for farming purposes	1970	
	1980	Portaria 451/1987 microbial requirements for foodstuffs
Directive 628/1991 - <i>Protection of animals during transport</i> Directive 119/1993 - <i>Protection of animals during slaughter or killing</i>	1990	Portaria 326/1997 - <i>Hygiene on food production</i> Portaria 268/1997 - <i>Hygiene on food production</i> Portaria 46/1998 - <i>Hazard Analysis and Critical Control Points (HACCP)</i>
2000 - Publication of the <i>White paper on food safety</i> Regulation EC 1760/2000 - <i>General rules for food safety and labeling</i> Regulation EC 178/2002 - <i>Creation of European Food Safety Authority</i> Regulation EC 178/2002 - <i>HACCP</i> Regulation EC 852/2004 - <i>Risk Analysis, Risk Assessment</i> Regulation EC 911/2004 - <i>Traceability</i>	2000	Instrução Normativa 3/2000 - <i>Animal welfare at slaughtering</i>
		Circular 175 e 176/2005 - <i>Instruction for fiscalization and auditing in self controlled industries</i>
		Decreto 5741/2006 - <i>Unified System of Attention to Agricultural and Livestock Sanity (SUASA): HACCP and Risk Analysis</i>
		Instrução Normativa 64/2008 - <i>Organic agriculture and animal welfare</i>

Figure 5. Main regulations on food safety, quality and animal welfare from European Union and Brazil.

The second crisis has lasted since 2007. The cause of trigger was the bursting of the US housing bubble, which had peaked between 2005 and 2006. After the collapse of American house market appeared a rapid increase in price of a number of different commodities of common use, such as copper, nickel and oil. Some experts attribute this boom to the speculative flow of money from the house and lending markets to the commodities markets, influencing the price of them. As these commodities indirectly affect many aspects of economy, it caused an increase of the cost of life, which in turn affected the consumption of “luxury goods”, such as bovine meat. Since 2006 there has been a decrease of exportation to Europe (from more than 414,000 tons in 2006, to 120,000 tons in 2010) and a decrease of the bills (from US\$ 1.4 billion in 2006, to US\$ 663 million in 2010). During this period the price of Brazilian beef increased substantially, from US\$ 3.49 to US\$ 5.51 per kg in the same period. The internal consumption of bovine meat in Brazil showed a similar increase of the price of meat (ABIEC, 2011), but caused by the opposite reason. Brazil has been not much affected from the global crisis and is living a period of intensive economic growth. This positive situation increased the incomes of the citizens, who can spend more money on luxury goods. The breeding of bovines is still inadequate to satisfy the growing demand of Brazilians for beef meat and therefore the prices are rising.

Another point to be stressed about this law updating was the Sanitary and Phytosanitary Agreement (SPS), signed by all countries participant of the World Trade Organization (WTO, 2011). Based on this agreement, all WTO members established that every country has the right to establish sanitary measures to protect the life or health of humans, animals and plants. Considering this, the WTO members commit themselves to follow the principles of Risk Analysis and to harmonize their regulations according to the standards indicated by OIE (World Organization for Animal Health) for what concerns to animal health, and *Codex alimentarius* for what concerns to food hygiene and protection (WTO, 2011). A fundamental point of this agreement is the complete transparency of the committed governments, which can be verified by official notifications. At any time, a government can propose a new law or a modification of an existing one, that could have influences on international trades. When a modification is adopted in a signed member country, this information must be notified to WTO, mainly if the new rule differs from the standards purposed by international organizations. Once notified, WTO informs all others governments to preserve the transparency of the agreement. As a result of this agreement, several proposes of regulation adjustments were recorded at WTO, mainly by already

developed countries, such as European countries, that nowadays play the role of importers (Galli et al., 2004). According to this evidence, it may be stated, international standards on animal health and food safety mainly follow the necessities of developed countries.

Besides the comparison of the themes covered by European and Brazilian legislation, a deeper insight should be performed on the different approach given to food inspection by the two legislations. Brazilian legislation is very rich in rules covering, in deep details, every sector of food production, including a great number of “*Regulamentos técnicos de identidade e qualidade*” (technical rules of identity and quality, RTIQ) describing how specific foods shall be produced, reflecting similar protocols indicated by *Codex Alimentarius*. For the Brazilian law, little freedom is given to producers to develop autonomous, voluntary, food safety standards, giving crucial importance to the activity of competent authorities.

On the other hand, as described before, European food legislation has gone a process of simplification along the years. At the beginning, laws were complex and covered in deep the theme of legislation. At present, as laws on animal health continue covering in deep the subject under discussion, food laws only state basic requirement, giving food producers autonomy and the responsibility to develop private food security protocols and their own good hygiene practices, according to the specificity of their production and personal analysis of risks. The basis of EU food legislation is to fit the hygienic requirement to the size and to the characteristics of the food industries but requires high consciousness and responsibility by food producers.

The former (Brazilian) system, for its high detail is very bureaucratic, requiring a great work to food producers to comply with the entire legislation and a high cost, both for the implementation of such security systems (as examples, facilities building, and workers training) and for their activity. The effort to develop a food security at “European Level” is both a benchmark, for the development of the Brazilian food sector (Jongwanich, 2009) and a barrier for the legalization of the entire food production chain, most especially for small scale producers, who cannot afford the costs related to the implementation of HACCP systems, nor could understand the utility of such requirement (Van Veen, 2005). Flexibility is the keyword that ought be pointed out in the Brazilian situation to keep European high requiring markets opened and to ensure at least a basic food safety standard to all levels of internal markets. In order to provide the flexibility in inspection according to HACCP and self control approaches, as stated by CE regulations, Brazil promulgated

the *Circulares* 175 and 176/2005 (Brasil, 2005b,c). Van Veen (2005) performed an interesting analysis of the dualism existing in developing countries between the requirement of the exportation market and those of the internal one.

However, Brazil cannot be defined still as a developing country. The fastest economical growth of the country and the bettering of social condition of most the population are allowing a better availability of beef (an expensive food commodity) in recent years. Eating beef is a part of Brazilian social culture, but the distribution of richness in the country still is unequal. Perception of food quality and food safety is not yet equalized among the population, nor the availability of inspected food, most especially outside the large cities. Brazilian legal basis of food safety has been historically shaped on the requirements of those, more developed, countries which imported Brazilian foods. Importing countries have always had higher standards of food safety, that cannot be simply translated into another language to be applied in the complex Brazilian reality (Van Veen, 2005; Jongwanich, 2009).

The very quick economic and social development of Brazil has been more rapid than the development of an efficient control system on food safety and, maybe more important, of a social consciousness on it. Such developments are very expensive and require time, considering the wide extension of the country, the fragmentation of food production sector and the complexity of skills needed for this purpose, both among food producers and competent authorities. A further step should be done by Brazilian policies to apply the strict requirements of importing countries to exporting trades and to develop a more simple, more economic in management, legislation to ensure both the access of the entire population of this continent-sized country to safe foods and the leadership in international markets of red meat.

4. REFERENCES

ABIEC - Associação Brasileira de Indústrias Exportadoras de Carne, 2011.
<http://www.abiec.com.br/> (last access: 18/02/2011).

Anonimous, 2010a. Brazil: How to feed the world. 26/08/2010
<http://www.economist.com/node/16889019> (last access: 18/02/2011).

Anonimous, 2010b. The world's Farm: Brazil success in Agriculture. 27/08/2010
<http://www.economist.com/node/16913525> (last access: 18/02/2011).

- Anonimous, 2010c. The Miracle of the Cerrado. 26/08/2010
<http://www.economist.com/node/16886442> (last access: 18/02/2011).
- Baker, H. F., Ridley, R. M. 1996. What went wrong in BSE? From prion disease to public disaster. Br. Res. Bul. 40, 237-244.
- BBC - British Broadcasting Corporation, 2011.
http://news.bbc.co.uk/1/hi/english/static/in_depth/health/2000/bse/default.stm (last access, 24/04/2011).
- Brasil, 1948. Lei 569 de 21 de dezembro: Estabelece medidas de defesa sanitária animal e da outras providencias. Diário Oficial da União de 23/12/1948, seção 1, p.18256.
- Brasil, 1952. Decreto 30691 de 29 de março: Aprova o Novo Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. Diário Oficial da União de 7/7/1952, seção 1, p.10785.
- Brasil, 1965. Decreto 57165 de 3 de novembro: Baixa normas técnicas especiais para a profilaxia de *Brucella* e dá outras providências. Diário Oficial da União de 5 de novembro de 1965.
- Brasil, 1976. Portaria 23 de 20 de janeiro: Aprova as normas para a Profilaxia da Brucelose animal. Diário Oficial da União de 16/02/1976, seção 1, p. 2266.
- Brasil, 1979. Portaria 86 de 26 de janeiro: aprova o programa nacional de controle de residuos em carne. Diário Oficial da União de 7 de fevereiro de 1979, seção 1, p. 1913.
- Brasil, 1986. Portaria 51 de 6 de fevereiro: Dispõe sobre a instituição do Plano Nacional de Controle de Resíduos Biológicos em Produtos de Origem Animal PNCRB. Diário Oficial da União de 07/02/1986, seção 1, p. 2228.
- Brasil, 1991. Lei 8171 de 17 de janeiro: Dispõe sobre a política agrícola. Diário Oficial da União de 08/01/1991, seção 1, p. 1330.
- Brasil, 1993. Instrução Normativa 2 de 8 de setembro: Dispõe sobre a importação de animais vivos e produtos de origem animal de países onde ocorre a éncefalopatia espongiiforme bovina (EEB) (Bovine Spongiform Encephalopathy). Diário Oficial da União de 14/9/1993, seção 1, p. 13646.

- Brasil, 1995. Portaria 527 de 15 de agosto: Atribui ao Secretário da defesa agropecuária a responsabilidade de coordenar a execução do PNCRB, as incumbências que cita. Diário Oficial da União de 16/8/1995, seção 2, p. 6048.
- Brasil, 1997a. Portaria 290 de 16 de julho: Proíbe em todo o território nacional o uso de qualquer fonte de proteína de ruminantes na alimentação de ruminantes. Proibição do uso de qualquer fonte de proteína de ruminantes na alimentação de ruminantes. Diário Oficial da União de 17/07/1997, seção 1, p. 151.
- Brasil, 1997b. Portaria 326 de 30 de julho: Regulamento técnico sobre as condições higiênicas sanitárias e de boas práticas de fabricação para estabelecimentos produtores e industrializadores de alimentos. Diário Oficial da União de 1/8/1997.
- Brasil, 1997c. Portaria 368 de 4 de setembro: Regulamento técnico sobre as condições higiênicas sanitárias e de boas práticas de fabricação para estabelecimentos produtores e industrializadores de alimentos. Diário Oficial da União de 08/09/1997 seção 1, p. 19697.
- Brasil, 1997d. Portaria 516 de 9 de dezembro: Declara o Brasil livre da Encefalopatia Espongiforme Bovina de acordo com o que estabelece o artigo 3.2.13.2 do código zoosanitário internacional. Diário Oficial da União De 11/12/1997 Seção 1 p. 29476.
- Brasil, 1997e. Portaria 451 de 19 de setembro: Regulamento técnico. Princípios gerais para o estabelecimento de critérios e padrões microbiológicos de alimentos. Diário Oficial da União de 22 de setembro de 1997, seção 1, p.21005.
- Brasil, 1998. Portaria 46 de 10 de fevereiro: Institui o Sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle - APPCC - a ser implantado, gradativamente, nas indústrias de produtos de origem animal sob o regime do serviço de inspeção federal – SIF, de acordo com o manual genérico de procedimentos. Diário Oficial da União de 16/3/1998 seção 1, p. 24.
- Brasil, 1999. Instrução normativa 42 de 20 de dezembro: Altera o Plano Nacional de Controle de Resíduos em Produtos de Origem Animal - PNCR, e os Programas de Controle de Resíduos em Carne - PCRC, Mel - PCRM, Leite - PCRL, e Pescado - PCRRP. Diário Oficial da União de 22/12/1999 seção 1, p. 213.

- Brasil, 2001a. Instrução normativa 2 de 10 de janeiro: Institui o Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal. Diário Oficial da União de 11/01/2001 seção 1, p. 5.
- Brasil, 2001b. Ofício circular 06 de 6 de setembro: Orienta procedimentos a serem adotados em estabelecimentos de abate, frente a suspeita de febre aftosa, pelo Serviço de Inspeção Federal – SIF. <http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=4719> (last access: 30/06/2011).
- Brasil, 2001c. Resolução-RDC 12 de 2 de janeiro: Regulamento técnico sobre os Padrões microbiológicos para alimentos. Diário Oficial da União de 10/01/2001 seção 1, p 45.
- Brasil, 2002a. Instrução normativa 1 de 9 de janeiro: Institui o Sistema Brasileiro de Identificação e Certificação de Origem bovina e bubalina, (SISBOV). Diário Oficial da União de 10/01/2001 seção 1, p 6.
- Brasil, 2002b. Instrução de Serviço 1 de 7 de março: procedimentos e normas necessários para a operacionalização do sistema de vigilância epidemiológica para a detecção de encefalopatias espongiformes transmissíveis (EET) em ruminantes. <http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=4735> (last access: 29/06/2011).
- Brasil, 2004. Instrução Normativa 8 de 25 de março: Proíbe em todo o território nacional a produção e a comercialização de produtos destinados à alimentação de ruminantes que contenham em sua composição proteínas e gorduras de origem animal. Diário Oficial da União de 26/03/2004 seção 1, p 5.
- Brasil, 2005a. Instrução normativa 40 de 12 de dezembro: Aprova os Métodos Analíticos, Isolamento e Identificação da *Salmonella* na carne bovina, avicultura e produtos derivados de ovos - MLG - 4.03, Metodologia Alternativa de *Salmonella* A-Bax -MLG 4C .01, Isolamento e Identificação de *Listeria monocytogenes* em carne vermelha, carne de ave, ovos e amostras ambientais, MLG 8.04 - Metodologia Alternativa de *Listeria* A-BAX MLG-8 A .01, *Escherichia coli*, MPN AOAC 966.24, Método Petrifilm AOAC 998.08, que passam a constituir Padrões Oficiais para Análise de Microbiologia de Produtos de Origem Animal. Diário Oficial da União de 16/12/2005, seção 1 p. 70.

- Brasil, 2005b. Circular 175 de 16 de maio: Procedimentos de verificação dos programas de aut controle (versão preliminar). <http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=18810> (last access: 30/06/2011).
- Brasil, 2005c. Circular 176 de 16 de maio: Modificação das instruções para a verificação de PPHO, encaminhadas pela circular 201/97 DCI/DIPOA e aplicação dos procedimentos de verificação dos elementos de inspeção previstos na circular 175/2005 CGPE/DIPOA. <http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=18811> (last access: 30/06/2011).
- Brasil, 2006a. Instrução normativa 17 de 13 de julho: Estabelece a Norma Operacional do Serviço de Rastreabilidade da Cadeia Produtiva de Bovinos e Bubalinos (SISBOV) constante no anexo 1 aplicável a todas as fases de produção, transformação, distribuição e dos serviços agropecuários. Diário Oficial da união de 14/7/2006, seção 1 p. 23.
- Brasil, 2006b. Decreto 5741 de 30 de março: Fica aprovado na forma de anexo deste decreto o regulamento dos artigos 27-A, 28-A e 29-A da lei 8.171 de 17 de janeiro de 1991 Diário Oficial da União de 31/03/2006, seção 1 p. 82.
- Brasil, 2007a. Instrução normativa 44 de 2 de outubro: Aprova as diretrizes gerais para a Erradicação e a Prevenção da Febre Aftosa, constante do anexo I e dos anexos II, III e IV desta Instrução Normativa, a serem observados em todo o território nacional com vista à implementação do programa nacional de erradicação e prevenção da febre aftosa (PNEFA) conforme o estabelecido pelo sistema unificado de atenção à sanidade agropecuária. Diário Oficial da União de 03/10/2007, seção 1 p. 2.
- Brasil, 2007b. Instrução normativa 49 de 31 de outubro: Declaração de uso de insumos pecuários fornecidos aos bovinos e bubalinos cadastrados, pertencentes a Estabelecimentos Rurais Aprovados no SISBOV, que participarem de feiras, exposições, leilões e outras aglomerações temporárias de animais. Diário Oficial da União de 23/01/11/2007, seção 1 p. 1.
- Brasil, 2008a. Instrução normativa 15 de 2 de abril: Procedimentos para a atuação em caso de suspeita ou ocorrência de Paraplexia Enzootica dos ovinos (scrapie). Diário Oficial da União de 04/04/2008, seção 1 p. 2.

Brasil, 2008b. Instrução Normativa 34 de 28 de maio: Aprova o regulamento técnico de inspeção higiênico-sanitária e tecnologia de processamento de resíduos de animais e o modelo do documento de transporte de resíduos de animais. Diário Oficial da União de 29 de maio de 2008, seção 1, p. 13.

Brasil, 2008c. Instrução Normativa 49 de 15 de setembro: Estabelece as seguintes categorias de risco para a encefalopatia espongiforme bovina, EEB: categoria I: países com risco insignificante para a EEB; categoria II: países com risco controlado para a EEB; categoria III: países com risco indeterminado ou não classificado para a EEB. Diário Oficial da União de 16/9/2008, seção 1 p. 8.

Brasil, 2009a. Instrução Normativa 26 de 9 de julho: Aprova o regulamento técnico para a fabricação, o controle de qualidade, a comercialização e o emprego de produtos antimicrobianos de uso veterinário. Diário Oficial da União de 10/07/2009, seção 1 p. 14.

Brasil, 2009b. Instrução Normativa 9 de 8 de abril: Institui os procedimentos de Controle da *Listeria monocytogenes* em produtos de origem animal prontos para o consumo na forma de anexo à presente Instrução Normativa. Diário Oficial da União de 09/04/2009, seção 1 p. 9.

Brasil, 2010. Instrução normativa 8, de 29 de abril: Controle de Resíduos e Contaminantes em Carnes (Bovina, Aves, Suína e equina), leite, mel, ovos e pescado para 2010. Diário Oficial da União de 03/05/2010, seção 1 p. 27.

Carson, R. (1962) "The Silent Spring" Houghton Mifflin ed. 2, Park Street Boston Massachusetts.

Codex Alimentarius, 1997. Principles for the establishment and application of microbiologic criteria for foods. CAC/GL 21 - 1997 http://www.codexalimentarius.net/web/index_en.jsp (last access 29/6/2011).

DG-SANCO, 2001. Final report of a mission carried out in Brazil from 22 to 26 October, 2001 in order to evaluate the control in place over foot and mouth disease and to assess action taken in response to mission DG (SANCO)/3341/2001 (DG-SANCO 2001-3462 MR Final).

DG-SANCO, 2004. Final report of a mission carried out in Brazil from 26 April to 6 May, 2004 in order to evaluate animal health controls in particular over foot and mouth

disease, and public health control system including traceability and certification procedures. (DG-SANCO 2004-7185 Final report).

DG-SANCO, 2010. Final report of a mission carried out in Brazil from 02 to 15 March 2010 in order to evaluate the operation of controls over the production of bovine meat intended for export to the European Union as well as certification procedures. (DG-SANCO 2010-8493 Final Report).

European Community (EC), 1997a. Directive 78 of 18 of December, laying down the principles governing the organisation of veterinary checks on products entering the Community from third countries. Official Journal of the European Union, L 24, p.9-30.

European Community (EC), 1997c. Regulation EC 820 of 21 of April, establishing a system for the identification and registration of bovine animals and regarding the labelling of beef and beef products. Official Journal of the European Union, L 117, p. 1-8.

European Community (EC), 1997d. Regulation 194 of 31 of January, setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. Official Journal of the European Union, L 31, 1.2.1997, p. 48.

European Community (EC), 2000a. White Paper on food safety. Brussels, 12 January 2000 COM (1999) 719 final.

European Community (EC), 2000b. Regulation 1760 of 17 of July, establishing a system for the identification and registration of bovine animals and regarding the labelling of beef and beef products and repealing Council Regulation (EC) No 820/97. Official Journal of the European Union, L 204, p. 1-10.

European Community (EC), 2001a. Regulation No 466 of 8 of March, setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. Official Journal of the European Union, L 77, p. 1-13.

European Community (EC), 2001b. Regulation EC 999 of 22 of May, laying down rules for the prevention, control and eradication of certain transmissible spongiform encephalopathies. Official Journal of the European Union, L 147, p. 1-40.

European Community (EC), 2001c. Decision EC 471 of 8 of June, laying down rules for the regular checks on the general hygiene carried out by the operators in establishments according to Directive 64/433/EEC on health conditions for the production and

marketing of fresh meat and Directive 71/118/EEC on health problems affecting the production and placing on the market of fresh poultry meat. Official Journal of the European Union, L 165, p. 48-53.

European Community (EC), 2002. Regulation 178 of 29 of April, on the hygiene of foodstuffs, establishing the European Food Safety Authority and laying down procedures in matters of food safety. Official Journal of the European Union, L 31, p. 1-24.

European Community (EC), 2003. Regulation 1082 of 23 of June, laying down detailed rules for the implementation of Regulation (EC) No 1760/2000 of the European Parliament and of the Council as regards the minimum level of controls to be carried out in the framework of the system for the identification and registration of bovine animals. Official Journal of the European Union, L 156, p. 9-12.

European Community (EC), 2004a. Regulation EC 911 of 29 of April, implementing Regulation (EC) No 1760/2000 of the European Parliament and of the Council as regards eartags, passports and holding registers. Official Journal of the European Union, L 163, 65-70

European Community (EC), 2004b. Regulation 852 of 29 of April, on the hygiene of foodstuff. Official Journal of the European Union, L 139, p. 1-54.

European Community (EC), 2005. Regulation 2073 of 15 of November, on microbiological criteria for foodstuffs. Official Journal of the European Union, L 338, p. 1-26.

European Community (EC), 2006. Regulation 1881 of 19 of December, setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs Official Journal of the European Union, L 364, p. 5-25.

European Community (EC), 2007a. Regulation 722 of 25 of June, amending Annexes II, V, VI, VIII, IX and XI to Regulation (EC) No 999/2001 of the European Parliament and of the Council laying down rules for the prevention, control and eradication of certain transmissible spongiform encephalopathies. Official Journal of the European Union, L 164, p. 7-23.

European Community (EC), 2007b. Regulation 1441 of 5 of December, modifies Reg EC 2005/2073 on microbiological criteria for foodstuffs. Official Journal of the European Union, L 322, p. 12-29.

European Economic Community (EEC), 1964a. Directive 432 of 26 of June, on animal health problems affecting intra-Community trade in bovine animals and swine. Official Journal of the European Union, L 120, p. 13.

European Economic Community (EEC), 1964b. Directive 433 of 26 of June, on health problems affecting intra-Community trade in freshmeat. Official Journal of the European Union, L 120, p. 55.

European Economic Community (EEC), 1972a. Directive 461 of 12 of December, on health problems affecting intra-Community trade in fresh meat. Official Journal of the European Union, L 200, p. 42.

European Economic Community (EEC), 1972b. Directive 462 of 12 of December, on health and veterinary inspection problems upon importation of bovine animals and swine and fresh meat from third countries. Official Journal of the European Union, L 302, p. 28-54.

European Economic Community (EEC) 1978. European Convention for the protection of animals kept for farming purposes of 19 June, 1978. Official Journal of the European Economic Community L 323, p. 14-22.

European Economic Community (EEC), 1979. Decision 542 of 21 of December, drawing a list of third countries from which the member states authorize the importation of bovine animals, swine and fresh meat. Official Journal of the European Union, L 146, p. 15-17

European Economic Community (EEC), 1981. Directive 602 of 31 of July, concerning the prohibition of certain substances having a hormonal action and of any substances having a thyrostatic action. Official Journal of the European Union, L 222, p. 32-33.

European Economic Community (EEC), 1982. Directive 894 of 21 of December, on the notification of animal diseases within the Community. Official Journal of the European Union, L 378, p. 378, 58-62.

European Economic Community (EEC), 1985. Directive 358 of 16 of July, supplementing Directive 81/602/EEC concerning the prohibition of certain substances having a

hormonal action and of any substances having a thyrostatic action. Official Journal of the European Union, L 191, p. 46-49.

European Economic Community (EEC), 1986a. Directive 363 of 24 of July, on the fixing of maximum levels for pesticide residues in and on foodstuffs of animal origin. Official Journal of the European Union, L 221, p. 43-47.

European Economic Community (EEC), 1986b. Directive 469 of 16 of September, concerning the examination of animals and fresh meat for the presence of residues. Official Journal of the European Union, L 275, p. 36-45.

European Economic Community (EEC), 1989a. Directive 662 of 11 of December, concerning veterinary checks in intra-Community trade with a view to the completion of the internal market. Official Journal of the European Union, L 151, p. 40.

European Economic Community (EEC), 1989b. Decision 15 of 15 of December, on the importations of live animals and fresh meat from certain third countries. Official Journal of the European Union, L 008, p. 11-12.

European Economic Community (EEC), 1990a. Directive 425 of 26 of June, concerning veterinary and zootechnical checks applicable in intra- Community trade in certain live animals and products with a view to the completion of the internal market. Official Journal of the European Union, L 224, p. 29-41.

European Economic Community (EEC), 1990b. Directive 426 of 26 of June, on animal health conditions governing the movement and import from third countries of equidae. Official Journal of the European Union, L 224, p. 42-54.

European Economic Community (EEC), 1991a. Directive 628 of 19 November, on the protection of animals during transport, amending Dir. 425/1990 EEC and Directive 496/1991 EEC. Official Journal of the European Economic Community L 340, p. 17-27.

European Economic Community (EEC), 1991b. Directive 629 of 19 November, laying down minimum standards for the protection of calves. Official Journal of the European Economic Community L 340, p.28-32.

European Economic Community (EEC), 1993a. Regulation 315 of 8 of February, laying down Community procedures for contaminants in food. Official Journal of the European Union, L 037, p. 1-3.

- European Economic Community (EEC), 1993b. Directive 119 of 22 of December, on the protection of animals at the time of slaughter or killing. Official Journal of the European Union, L 340, p. 21-34.
- European Union, 2011. The EU at a glance: The history of the European Union. available at: http://europa.eu/abc/history/index_en.htm (last access: 09/04/2011).
- Galli, F., Silva, T.G.R., Rodrigues, F.R., Miranda, S.H.G., 2005. A regulamentação sobre o comércio de carne bovina no contexto do Acordo SPS. In: XLIII Congresso da Sociedade Brasileira de Economia e Sociologia Rural, Ribeirão Preto, SP, Brazil.
- Hoelgaard, L., 2010. *Meat- Trends and Trades: an EU perspective*. presented at the 18th IMS World Meat Congress 2010, Buenos Aires, Argentina.
- JBS-Friboi, 2011. <http://www.jbs.com.br/> (last access: 18/02/2011).
- Jongwanich, J., 2009. The impact of food safety standards on processed food exports from developing countries. *Food Policy*, 34, 447-457.
- Leemig, J., Turner, P., 2004. The BSE crisis and the price of red meat. *Appl. Econ.* 36, 1825-1829
- Lloyd, T. A., McCorriston, S., Morgan, C. W., Rayner, A. J., 2006. Food scares, market power and price transmission, the UK BSE crisis. *Eu. Rev. Agr. Econ.* 33, 119-147
- MAPA/SDA/DSA, 2006. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal (PNCEBT)/organizadores, Vera Cecília Ferreira de Figueiredo, José Ricardo Lôbo, Vitor Salvador Picão Gonçalves. - Brasília: MAPA/SDA/DSA.
- Monteiro, S., Pregnaca, G., 2010. Sem Descanso. *América Economia Brasil* 386, 4/2010, 28-31.
- PAHO, 2002. Chapter 2: a Chronology of BSE policy in four countries and in the European Union. <http://www.bvsde.paho.org/bvsacd/cd65/E87919/cap2.pdf> in: Dora, C. 2006. Health hazards and public debate: lessons for risk communication from the BSE/CJD saga. Copenhagen, OMS May 2006, vi 281.
- Pardi, M. C., 1996. Memória da inspeção Sanitária e industrial de Produtos de Origem Animal no Brasil: O serviço de Inspeção Federal - SIF. Conselho Federal de Medicina Veterinária, Depoimento para a História da Medicina Veterinária do Brasil, tomo 1.

Pennings, J. M. E., Wansik, B., Meulenber, M. T. G., 2002. A note on modelling consumers reaction to a crisis: the case of the mad cow disease. *Int. J. Res. In Marketing* 19, 91-100.

Van Veen, T. W. S., 2005. International trade and food safety in developing countries. *Food Policy*, 16, 491-496.

WTO, 2011. World Trade Organization <http://www.wto.org> (last access: 30/6/2011)

**PESQUISA DE MICRORGANISMOS INDICADORES DE HIGIENE, *Listeria* SPP.
E *Listeria monocytogenes* EM CARCAÇAS BOVINAS EM LINHAS DE ABATE**

*Resultados parciais de pesquisa em desenvolvimento sobre perigos microbiológicos
associados a carne bovina, com recursos provenientes do CNPq pelos projetos
505861/2008-9 e 578163/2008-0.*

RESUMO

O Brasil é o maior exportador de carne bovina do mundo, e possui acordos comerciais com mais de 100 países. Para consolidação desse mercado é fundamental a garantia da qualidade da produção, além da segurança microbiológica da carne bovina produzida. Os microrganismos mais frequentemente pesquisados para realização de um controle de qualidade eficiente são os indicadores de higiene, cujos principais grupos são: aeróbios mesófilos (AM), Enterobactérias (EB), coliformes totais (CT) e *Escherichia coli* (EC). Em relação a patógenos, *Listeria monocytogenes* possui grande destaque devido a sua alta associação com produtos cárneos e patogenicidade. Entre Setembro de 2009 e Novembro de 2010, foram analisadas 103 carcaças de bovinos abatidos em 3 abatedouros fiscalizados pelo Serviço de Inspeção Federal no estado de Minas Gerais. Em cada carcaça foram coletadas amostras superficiais pela técnica do esfregaço depois da sangria (ponto A), depois da esfolia (ponto B), depois da evisceração e divisão da carcaça ao meio (ponto C) e antes da entrada na câmara de refrigeração (ponto D). As amostras foram submetidas a análises microbiológicas para enumeração de microrganismos indicadores de higiene (AM, EB, CT e EC, com Petrifilm™), e pesquisa de *Listeria* spp. e *L. monocytogenes* (ISO 11.290-1). Os isolados caracterizados como suspeitos de *Listeria* spp. foram submetidos a um protocolo de PCR multiplex para confirmação do gênero e identificação da espécie *L. monocytogenes*. Para todos os microrganismos indicadores enumerados foram verificadas diferenças significativas ($P < 0,05$) entre as contagens observadas no ponto A e as demais. AM apresentaram diferenças significativas ($P < 0,05$) de contaminação entre o ponto C e os outros pontos de coleta. CT mostraram diferenças significativas de contaminação ($P < 0,05$) entre os pontos B e C. Foram encontradas 28 carcaças positivas para *Listeria* spp. Entre estas, 4 foram positivas por *L. monocytogenes*. Houve uma significativa concentração da contaminação por *Listeria* spp. no ponto A ($P < 0,05$), sem diferenças significativas de contaminação entre os pontos considerando *L. monocytogenes* ($P > 0,05$). A ocorrência observada de *Listeria* spp. e *L. monocytogenes* foi menor que a observada na literatura consultada, assim como as contagens dos microrganismos indicadores de higiene. Esses resultados indicam que os frigoríficos analisados aplicam procedimentos higiênicos adequados nos processos de abate de bovinos e obtenção de carcaças, auxiliando a redução dos níveis de contaminação por microrganismos indicadores de higiene e ocorrência de *Listeria* spp. e *L. monocytogenes*.

Palavras-chave: carne bovina, microrganismos indicadores de higiene, *Listeria monocytogenes*

ABSTRACT

Brazil is the first exporter of bovine meat of the world. Brazilian beef meat is exported to more than 100 countries around the world. To keep these markets opened is fundamental to guarantee, besides the quality, the microbiological safety of meat. The most common indicating bacteria searched are mesophilic aerobes (AM), Enterobacteriaceae (EB), total coliforms (TC) and *Escherichia coli* (EC). One of the greatest risks associated to beef is *Listeria monocytogenes* for its association with meat products and high pathogenicity. In this research we analysed, between September, 2009 and November, 2010, 103 bovine carcasses from 3 slaughterhouses in the State of Minas Gerais (Brazil). On each carcass we collected samples by swabbing in four different stages of the slaughtering process: after bleeding (A), after hind removal (B), after evisceration and carcass splitting (C) and before the entrance in the cold chamber, after final carcass dressing and washing (D). The obtained samples were processed in order to enumerate indicator microorganisms using Petrifilm™ plates and to search the prevalence of *Listeria* spp. and *L. monocytogenes*, according to ISO 11.290-1 process. Presumptive isolates were identified by a multiplex PCR protocol to identify *Listeria* spp. and *L. monocytogenes*. For all indicator microorganisms we found significant differences ($P < 0,05$) between the step A and the subsequent ones. AM also showed significant differences ($P < 0,05$) between the C and the others. CT showed significant differences between B and C ($P < 0,05$). We found 28 carcasses positive for *Listeria* spp. Among these, 4 were positive for *L. monocytogenes*. χ^2 test showed a significant concentration of *Listeria* contamination on the A process point. We did not identify significant differences in the distribution of *L. monocytogenes* due to the low number of positive results. The observed indicator microorganisms concentration and *Listeria* spp. and *L. monocytogenes* occurrence were lower than the found by the most of analysed authors, showing that in the slaughtering processes in the 3 selected abattoirs, the application of good manufacturing practices enables the production of bovine carcasses with low risk of *Listeria* spp. and *L. monocytogenes*.

Keywords: beef, hygiene indicator microorganisms, *Listeria monocytogenes*

1. INTRODUÇÃO

A produção de carne bovina é uma importante atividade econômica no Brasil. Atualmente, o país é o segundo maior produtor mundial, e o primeiro exportador, tendo como principais parceiros econômicos a Rússia e países do Oriente Médio (ABIEC, 2011). A evolução significativa desse mercado teve início no século XX, determinando a necessidade de adequações internacionais de qualidade e segurança. Nesse sentido, programas de controle de qualidade como Boas Práticas de Produção (BPP) e Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) são fundamentais (Jay, 2005). Para aplicação e controle adequados, a pesquisa de microrganismos em diferentes etapas da linha produtiva é uma das principais informações que auxiliam a verificação das condições de produção, além da aplicação de medidas saneadoras para eliminar os problemas identificados (Buchanan, 2000).

Os microrganismos usualmente pesquisados para realização desse monitoramento são os indicadores de higiene, e em um nível mais específico de controle, patógenos. Na produção de carne bovina, os níveis de contaminação por diferentes microrganismos indicadores de higiene permitem identificar possíveis problemas na matéria-prima, condições gerais de higiene nos estabelecimentos, falhas no processamento, e até mesmo práticas higiênicas inadequadas de manipuladores (Gill et al., 1996, Zweifel et al., 2005, Barros et al., 2007). Entre os indicadores mais usualmente pesquisados na linha de produção de carne bovina podem ser citados os aeróbios mesófilos, enterobactérias, coliformes totais e *Escherichia coli*. Considerando os objetivos de segurança alimentar, alguns patógenos obrigatoriamente devem ser pesquisados, por serem pouco associados aos indicadores de higiene, além de exigência dos mercados consumidores. Vários são os patógenos associados a produtos cárneos, sendo possível listar os seguintes: *E. coli* O157:H7, *Salmonella* spp., *Aeromonas hydrophila*, *Bacillus cereus*, *Campylobacter* spp., *Clostridium botulinum* e *C. perfringens*, *Staphylococcus aureus*, *Yersinia enterocolitica* e *Listeria monocytogenes* (Fernandes, 2009; Akkaya et al., 2008; Rhoades et al., 2009; Jay, 2005; Zavanella, Cantoni, 2005).

Estudos epidemiológicos que visam identificar a origem desses microrganismos na linha de abate e processamento das carnes bovinas são especialmente importantes para a identificação dos principais pontos de contaminação, caracterizando-os como pontos críticos (de controle) ou não, e o desenvolvimento posterior de planos de APPCC e análises do risco (Buchanan, 2000). A aplicação dessas ferramentas na cadeia produtiva de carne

bovina é fundamental para garantia da qualidade e segurança microbiológica desse produto, e garantia de mercados consumidores parceiros do Brasil.

Nesse sentido, um amplo estudo envolvendo esses aspectos está sendo desenvolvido no Brasil com a participação de diversas universidades e grupos de pesquisa, visando a obtenção de dados científicos consistentes sobre a contaminação microbiana na linha de abate de bovinos em diferentes regiões do país. Os dados apresentados nesse capítulo da presente dissertação são referentes a resultados obtidos no período de um ano desse estudo, e teve como objetivo a caracterização da contaminação microbiológica em carcaças bovinas em linhas de abate por microrganismos indicadores de higiene, *Listeria* spp. e *Listeria monocytogenes*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Seleção de abatedouros

Considerando a disponibilidade para coleta de amostras e a proximidade ao município de Viçosa, MG, frigoríficos do estado de Minas Gerais que processam carne bovina foram consultados e analisados para serem incluídos no estudo. Ainda, foi considerado o volume de abate e o serviço de inspeção responsável pela fiscalização das atividades industriais. Após análise detalhada, três frigoríficos foram selecionados:

Frigorífico 1: Localizado em Betim, na periferia de Belo Horizonte (Figura 1). Nesse estabelecimento ocorre o abate de suínos e bovinos em diferentes linhas de abate. Diariamente são abatidos de 130 a 150 bovinos, e as atividades são realizadas por aproximadamente 50 funcionários. A sala de abate é caracterizada por um espaço compacto, onde não há divisão física entre as áreas limpas e sujas. O trilho de processamento, completamente automatizado, realiza um percurso em forma de “S”, não ocorrendo contato direto entre carcaças em diferentes etapas do processamento (Figura 2).

Frigorífico 2: Localizado em Muriaé, na região da Zona da Mata Mineira (Figura 1). Nesse estabelecimento ocorrem abates alternados de bovinos e suínos, utilizando as mesmas instalações. O abate não é diário, mas quando realizado são abatidos de 90 a 100 animais, sendo todas as atividades desenvolvidas por aproximadamente 25 funcionários. A sala de abate é caracterizada por um espaço compacto, onde não há divisão física entre as áreas limpas e sujas. O trilho de processamento, com movimentação manual das carcaças, realiza

um percurso em linha reta, não ocorrendo contato direto entre carcaças em diferentes etapas do processamento, mas com contato entre carcaças sucessivas durante a movimentação (Figura 2).

Frigorífico 3: Localizado em Belo Horizonte (Figura 1). Nesse estabelecimento ocorre o abate exclusivo de bovinos. Diariamente são abatidos 150 a 180 animais, e as atividades são desenvolvidas por aproximadamente 50 funcionários. A sala de abate é caracterizada por um espaço amplo, onde não há divisão física entre as áreas limpas e sujas. O trilho de processamento realiza um percurso em “S”, ocorrendo contato direto entre carcaças em diferentes etapas do processamento, principalmente na última fase do processo. A movimentação das carcaças é automatizada até o processo de evisceração, a partir de onde passa a ser manual (Figura 2).

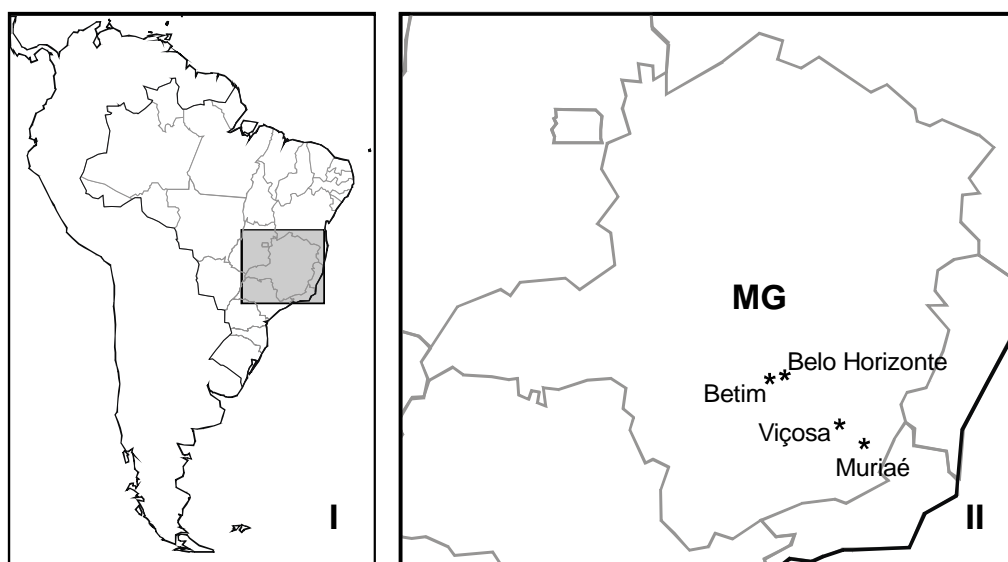


Figura 1. I) Localização geográfica do estado de Minas Gerais no Brasil e América do Sul, na área destacada em cinza; II) Localização no Estado de Minas Gerais (MG) dos municípios de Viçosa, Betim (onde está localizado frigorífico 1), Muriaé (frigorífico 2), e Belo Horizonte (frigorífico 3).

Entre o período de setembro de 2009 e novembro de 2010 os frigoríficos selecionados foram visitados para coleta de amostras superficiais de carcaças bovinas em diferentes etapas do abate. Um total de 103 carcaças bovinas foram coletadas até o momento, sendo 53 no frigorífico 1, 30 no frigorífico 2, e 20 no frigorífico 3. A meta final do estudo é analisar 180 carcaças bovinas, distribuídas proporcionalmente nos três estabelecimentos selecionados.

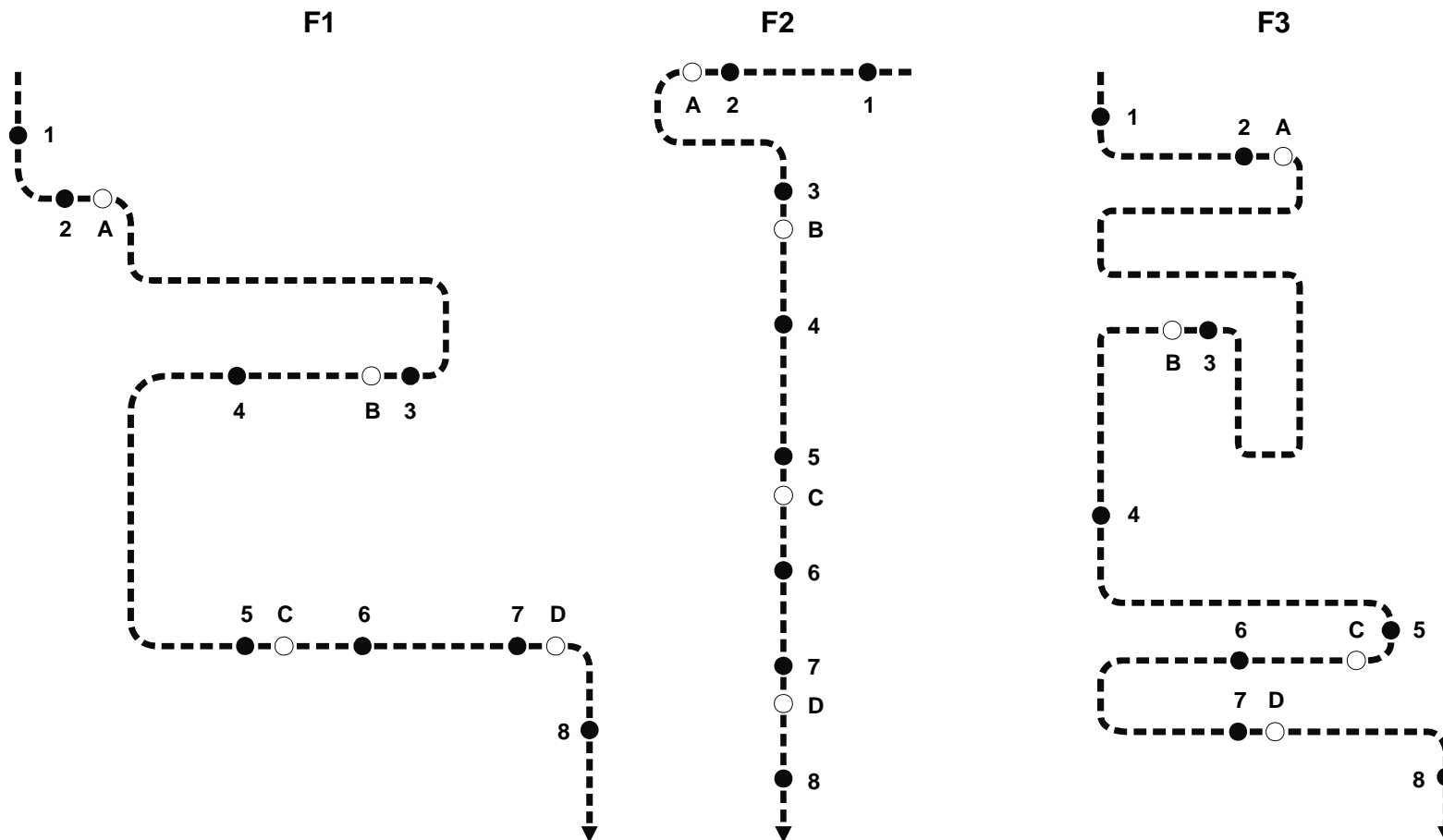


Figura 2. Esquemas das linhas de abate de bovinos nos três frigoríficos selecionados (F1, F2 e F3). Os pontos pretos numerados indicam as localizações das principais etapas do abate de bovinos (1: insensibilização, 2: sangria, 3: esfola, 4: evisceração, 5: divisão da carcaça, 6: toalete, 7: lavagem, e 8: resfriamento), e os pontos brancos indicam os locais selecionados para coleta de amostras superficiais de carcaças bovinas (A: após sangria, B: após esfola, C: após evisceração e separação de carcaças, e D: após lavagem).

2.2. Coleta de amostras superficiais de carcaças bovinas

Em cada frigorífico e visita, carcaças bovinas que não apresentassem alterações macroscópicas e que fossem usualmente aproveitadas para processamento de carne eram selecionadas para obtenção de amostras superficiais nas seguintes etapas do abate: A) na calha de sangria, B) após esfola, C) após evisceração e separação das carcaças, e D) após lavagem final (Figura 2). Em cada uma dessas etapas, amostras superficiais foram obtidas pela técnica do esfregaço com esponjas estéreis (3M Microbiology, St. Paul, MN, EUA), previamente umedecidas com 10 mL de solução salina (0,85%) peptonada (1%) (SSP) (Oxoid Ltd., Basingstoke, Inglaterra). Em cada etapa a área amostrada foi de 400 cm² distribuídos em 4 pontos distintos da carcaça (4 áreas de 100 cm², de 10 × 10 cm, delimitados por moldes plásticos previamente esterilizados, conforme EC, 2001 e EC, 2007), localizados somente na região externa (etapas A e B), ou nas regiões interna e externa das duas meias carcaças (etapas C e D) (Figura 3). As amostras superficiais sempre foram obtidas da região cranial da carcaça, considerando a sua usual posição na linha de abate e condição de posicionamento durante a coleta.

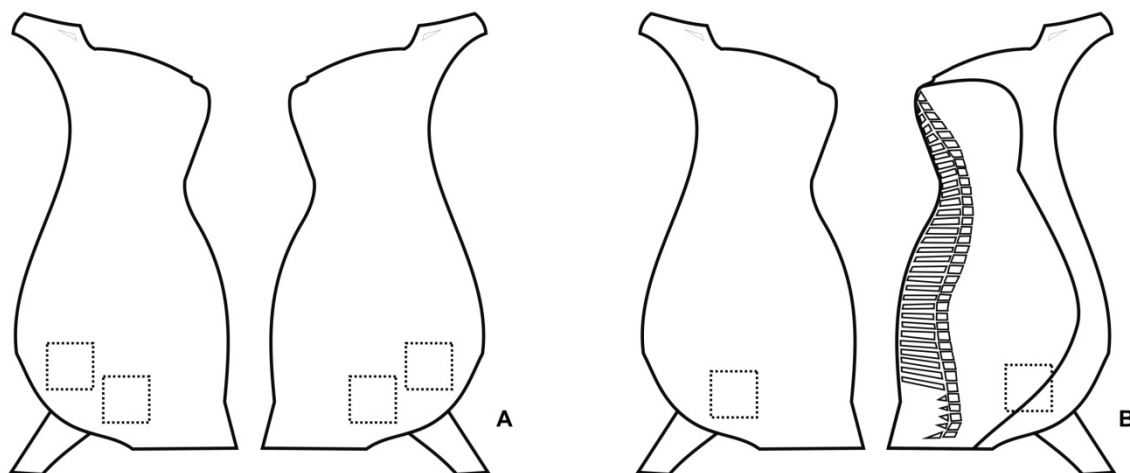


Figura 3. Localização dos pontos de coleta de amostras superficiais em carcaças bovinas (quadrados com linhas pontilhadas) na calha de sangria e após esfola (A, representando a carcaça inteira, de ambos os lados), e após evisceração/separação das carcaças e lavagem (B, representando uma meia carcaça, no lado externo e interno).

Após coleta de amostras superficiais dos quatro pontos em cada etapa do abate e de cada carcaça, todas as esponjas obtidas foram acondicionadas em um saco plástico estéril (18-OZ Whirl-Pak Speci-Sponge Environmental Sampling bag Nasco Ltd., Fort

Atkinson, WI, EUA) e mantidos sob refrigeração até a execução de análises microbiológicas.

2.3. Processamento das amostras coletadas

Em condições assépticas, cada conjunto de amostras superficiais coletadas por carcaça bovina em cada uma das etapas do abate foi adicionado de 160 mL de SSP (Oxoid) (completando o volume de 200 mL) e submetido a homogeneização automática e refrigerada a 4 °C por 60 s (Stomacher 400 circulator, Seward LTD, Easting Close, Sussex, UK). Ao final deste processo, cada mL do homogenato obtido representou uma área de 2 cm² de carcaça. A partir desse homogenato inicial, alíquotas foram utilizadas para pesquisa de *Listeria* spp. e *Listeria monocytogenes*, e para realização de diluição seriada em escala decimal utilizando como diluente SSP (Oxoid), para enumeração de microrganismos indicadores de higiene.

Para enumeração de microrganismos indicadores de higiene, duas diluições de cada amostra foram selecionadas considerando o provável nível de contaminação e semeadas em placas Petrifilm™ (3M Microbiology, St. Paul, MN, EUA). Petrifilm™ Aerobic Count foi utilizado para enumeração de aeróbios mesófilos, Petrifilm™ Enterobacteriaceae para enterobactérias, e Petrifilm™ *Escherichia coli* para coliformes totais e *E. coli*. Todas as placas foram incubadas a 35°C por 24-48h, quando as colônias típicas formadas foram enumeradas (em Petrifilm™ Aerobic Count, todas as colônias vermelhas; em Petrifilm™ Enterobacteriaceae, todas as colônias vermelhas ou amarelas, associadas a gás; em Petrifilm™ *Escherichia coli*, todas as colônias vermelhas ou azuis associadas a gás foram enumeradas como coliformes totais, e todas as colônias azuis associadas a gás foram enumeradas como *E. coli*). Considerando a diluição utilizada para enumeração das colônias formadas, os resultados finais foram ajustados e expressos em unidades formadoras de colônias por cm² (UFC/cm²).

O isolamento de *Listeria* spp. e *L. monocytogenes* foi realizado conforme a metodologia preconizada pelo International Standardization Organization (ISO 11.290-1/Amd 1) (ISO, 1996, 2004). Alíquotas de 40 mL dos homogenatos obtidos foram transferidos para tubos e centrifugados por 15 min a 1000 × g, e a 5 °C. Após descarte do sobrenadante, o sedimento foi diluído em 10 mL de caldo Half Fraser (Oxoid), e incubado a 30 °C por 24h. Em seguida, alíquotas de 0,1 mL das culturas obtidas foram transferidas para tubos contendo caldo Fraser (Oxoid) com incubação a 35 °C por 24h. Após incubação,

as culturas obtidas foram estriadas em placas contendo ágar Oxford (Oxoid) e ALOA (Oxoid), e incubadas a 35 °C por 48h. Quando presentes, colônias com morfologia típica de *Listeria* spp. (no Oxford, colônias pequenas, escuras, rodeadas por halo escuro, e no ALOA colônias pequenas, azuladas) ou *L. monocytogenes* (no ALOA, colônias pequenas, azuladas, rodeadas por halo opaco) foram selecionadas e transferidas para caldo tripticase de soja (TSB, Oxoid), com incubação a 35 °C por 24h. As culturas obtidas foram transferidas para microtubos de 1,5 mL e submetidas a análises moleculares para identificação de gênero e espécie.

As alíquotas das culturas suspeitas foram centrifugadas a 14000 × g por 2 min. Após esta etapa, o sobrenadante foi descartado e o DNA do pellet de células de cada cultura extraído de acordo com protocolo do kit de extração “DNA Purification Kit Wizard Genomic” (código A11125, Promega Corp., Madison, USA), conforme as instruções do fabricante (Promega, 2010). Após extração, os DNAs totais foram misturados com corante GelRed 20 × (Biotium Inc., Hayward, USA) na proporção 3:1, submetidos a eletroforese em gel de agarose 1% em TBE 0,5X, e visualizados sob luz ultravioleta em transiluminador. Após a confirmação da presença de material genético, este foi submetido a reação em cadeia pela polimerase (PCR) para a confirmação de espécie.

O DNA extraído foi submetido a um protocolo de PCR multiplex conforme descrito por Border et al. (1990) para a identificação de *Listeria* spp. e *L. monocytogenes*. As cepas *L. monocytogenes* ATCC 7.644 e *L. innocua* ATC 33.090 foram utilizadas como controles positivos da reação. As seqüências de oligonucleotídeos utilizados são descritas na Tabela 1. Cada reação de PCR foi composta com um total de 26 µL constituídos por: 12,5 µL de Kit para PCR “Go Taq Green Master Mix 2x” (Promega Corp.); 1 µL de cada primer na concentração de 0,1 mg/mL (Border et al., 1990); 2 µL de DNA extraído e 6,5 µL de água milli-Q esterilizada. As condições de reação foram as seguintes: desnaturação inicial por 4 min a 95 °C; 30 ciclos de 1 min a 95 °C, anelamento por 10 s a 50 °C, e extensão por 1 min a 72 °C; extensão final por 8 minutos a 72 °C. Em seguida, os tubos contendo os produtos amplificados foram mantidos a 4 °C até a análise dos resultados. Todos os produtos de PCR foram corados com GelRed 20 × (Biotium Inc.) na proporção 5:1, submetidos a eletroforese em gel de agarose 1% em TBE 0,5 ×, e visualizados sob luz ultravioleta em transiluminador, onde foi verificada a presença dos fragmentos amplificados.

Tabela 1. Sequências dos oligonucleotídeos utilizados para a realização da reação em cadeia pela polimerase para identificação do gênero *Listeria* e da espécie *L. monocytogenes* em isolados suspeitos obtidos de carcaças bovinas em diferentes etapas do abate (Border et al., 1990).

Primers	Seqüência (5'-3')
U1	CAGCMGCCGCGGTAATWC
U2	CCGTCAATTCMTTTRAGTTT
LI1	CTCCATAAAGGTGACCCT
LM1	CCTAAGACGCCAATCGAA
LM2	AAGCGCTTGCAACTGCTC

A interpretação dos resultados foi realizada pela visualização de três bandas com diferentes pesos moleculares: uma de 408 pb derivada da amplificação pelos primers U1 e U2 (confirmando a natureza microbiana da cultura testada); uma de 938 pb derivada da amplificação pelos primers LI1 e U1 (*Listeria* spp.); e uma de 702 pb derivada da amplificação pelos primers LM1 e LM2 (*L. monocytogenes*).

2.4. Análise estatística dos dados

Os resultados de contagens de microrganismos indicadores de higiene foram convertidos em \log_{10} e analisados quanto a distribuição normal e homogeneidade pelo teste Shapiro-Wilk ($P < 0,05$). Em seguida, os valores dos diferentes microrganismos indicadores de higiene foram comparados estatisticamente para verificação de diferenças significativas entre os diferentes pontos da linha de abate de bovinos, utilizando o teste Kruskal-Wallis e o teste bilateral de Dunn ($P < 0,05$). Os valores de aeróbios mesófilos e enterobactérias foram comparados com os parâmetros considerados aceitáveis ou não conforme as Decisões EC 471 (EC, 2001) e 1441 (EC, 2007) e por valores equivalentes propostos por McEvoy et al. (2004) Zweifel et al. (2005) (Tabela 2). Em cada ponto de coleta foram determinadas as frequências de amostras com contagens de mesófilos e enterobactérias acima desses valores de referência, e comparadas pelo teste de χ^2 ($P < 0,05$). As frequências de amostras positivas para *Listeria* spp. e *L. monocytogenes* também foram comparadas considerando os diferentes pontos de coleta utilizando o teste de χ^2 ($P < 0,05$). Todas as análises estatísticas foram realizadas o módulo XLSTAT 2001.1.2 (AdinSoft™, New York, NY, EUA) de Office Excel 2007 (Microsoft™, Redmond, WA,

EUA).

Tabela 2: Parâmetros microbiológicos de referência para avaliação da qualidade de carcaças bovinas e adequação dos processos higiênicos de abate e processamento (valores em log UFC/cm²)

Microrganismo indicador	Procedimento de coleta	Níveis de contaminação			Referência
		Aceitável	Marginal	Inaceitável	
Aeróbios mesófilos	Excisão ou Swab	<3,5	3,5-5,0	>5,0	UE, 2007
	Swab	<2,8	2,8-4,3	>4,3	McEvoy et al. 2004
	Swab	<3,0	3,0-4,0	>4,0	Zwiefel et al. 2005
Enterobactérias	Excisão ou Swab	<1,5	1,5-2,5	>2,5	UE, 2007
	Swab	<0,8	0,8-1,8	>1,8	McEvoy et al. 2004
	Swab	<1,0	1,0-2,0	>2,0	Zwiefel et al. 2005

3. RESULTADOS

Considerando os resultados de contagens de microrganismos indicadores de higiene obtidos das carcaças bovinas analisadas em diferentes etapas da linha de abate, os principais parâmetros estatísticos obtidos são apresentados na Tabela 3. Os dados obtidos não apresentaram uma distribuição normal ($P < 0,05$), o que determinou a utilização de testes não paramétricos para verificação de diferenças significativas entre os valores obtidos em cada etapa do abate. Na Tabela 4 são apresentadas as diferenças significativas entre as contaminações pelos diferentes microrganismos indicadores pesquisados nas diferentes etapas da linha de abate de bovinos analisadas pelo teste de Kruskal-Wallis. Para todos os microrganismos indicadores de higiene analisados foram verificadas diferenças significativas ($P < 0,05$) entre os valores obtidos na etapa A (contaminação da pele, após a sangria) e as sucessivas etapas de abate analisadas. Ainda, para aeróbios mesófilos foram observadas diferenças significativas ($P < 0,05$) entre a etapa C (após evisceração) e as demais etapas analisadas, e em relação a coliformes totais, entre as etapas B (após esfolagem) e C (após evisceração).

Tabela 3. Parâmetros estatísticos de contagens de microrganismos indicadores de higiene obtidos de amostras superficiais de carcaças bovinas coletadas em diferentes etapas do abate (A: após sangria; B: após esfolagem; C: após evisceração; e D: após lavagem).

Etapa de abate	Parâmetros estatísticos	Microrganismos indicadores de higiene (\log_{10} UFC/cm ²)*			
		AM	EB	CT	EC
A	Média	4,881	4,02	3,712	3,64
	Moda	3,602	2,699	2,69	3,69
	Mediana	2,699	1,60	1,69	0,69
	Desvio Padrão	1,05	1,19	1,236	1,23
	Variância	1,11	1,43	1,52	1,52
B	Média	2,84	1,99	1,75	1,72
	Moda	1,69	0,69	0,69	0,69
	Mediana	1,39	0,69	0,69	0,69
	Desvio Padrão	0,75	1,02	0,97	0,84
	Variância	0,56	1,04	0,95	0,71
C	Média	3,91	2,48	2,30	2,09
	Moda	2,30	0,69	1,00	0,69
	Mediana	1,17	0,69	0,69	0,69
	Desvio Padrão	1,43	1,36	1,27	1,19
	Variância	2,04	1,87	1,61	1,43
D	Média	3,30	2,06	2,04	1,97
	Moda	2,30	0,69	1,00	0,69
	Mediana	1,30	0,69	0,69	0,69
	Desvio Padrão	1,14	1,13	1,20	1,04
	Variância	1,31	1,28	1,45	1,09

* AM: aeróbios mesófilos; EB: enterobactérias; CT: coliformes totais; EC: *Escherichia coli*

Tabela 4. Medianas (Q25 - Q75) de contagens de microrganismos indicadores de higiene obtidas de amostras superficiais de carcaças bovinas coletadas em diferentes etapas do abate (A: após sangria; B: após esfola; C: após evisceração; e D: após lavagem), e parâmetros estatísticos obtidos por Kruskal-Wallis (K) e níveis de significância (P).

Etapa do abate	Microrganismos indicadores de higiene (\log_{10} UFC/cm ²)*			
	AM	EB	CT	EC
A	2,69 (4,18-5,19) ^c	1,60 (3,18-4,24) ^b	1,69 (2,70-4,24) ^c	0,69 (2,70-4,18) ^b
B	1,39 (2,21-3,39) ^a	0,69 (1,18-3,00) ^a	0,69 (1,00-2,71) ^a	0,69 (1,18-2,70) ^a
C	1,17 (2,88-5,48) ^b	0,69 (1,40-3,53) ^a	0,69 (1,30-3,47) ^b	0,69 (1,21-3,51) ^a
D	1,30 (2,51-3,70) ^a	0,69 (1,21-3,70) ^a	0,69 (1,04-2,69) ^{a,b}	0,69 (1,15-3,90) ^a
K	111,02	91,43	74,31	70,45
P	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001

* AM: aeróbios mesófilos; EB: enterobactérias; CT: coliformes totais; EC: *Escherichia coli*. Valores numa mesma coluna com letras minúsculas distintas indicam diferenças significativas identificadas pelo teste bilateral por Dunn.

Considerando as frequências de amostras que apresentaram contaminações por microrganismos indicadores de higiene acima de valores de referência (Tabelas 5 a 8), foram observadas diferenças significativas em todas as etapas de abate quando comparadas a etapa A ($P < 0,05$). Para todos os microrganismos indicadores de higiene analisados, foi verificado uma redução das frequências de amostras com contagens elevadas entre as etapas A e B, aumento entre B e C, e nova redução entre C e D, indicando que a pele dos animais e os processos de evisceração e serragem das carcaças são pontos de contaminação importantes na linha de abate de bovinos. Especificamente para aeróbios mesófilos (Tabela 5), foram observadas diferenças significativas para as amostras com contagens entre 4 e 5 log e entre 5 e 6 log UFC/cm² também entre as etapas B e C e D ($P < 0,05$).

Na Tabela 9 são apresentadas as frequências de amostras de carcaças bovinas com contagens de aeróbios mesófilos e enterobactérias acima de parâmetros de qualidade previamente estabelecidos (Tabela 2). Como observado anteriormente (Tabelas 4 a 8), pode ser verificada uma redução relevante na frequência de amostras com contagens acima de valores críticos e inaceitáveis entre as etapas A e B, aumento entre B e C, e nova redução entre C e D.

Tabela 5. Frequências de amostras superficiais de carcaças bovinas obtidas em diferentes etapas da linha de abate (A: após sangria; B: após esfolagem; C: após evisceração; e D: após lavagem) com contagens acima de diferentes níveis de contaminação por aeróbios mesófilos, e parâmetros estatísticos obtidos por Chi-quadrado (χ^2) e níveis de significância (P).

Etapa do abate	Níveis de contaminação (log UFC/cm ²)						
	< 1	1 a 2	2 a 3	3 a 4	4 a 5	5 a 6	> 6
A	7 ^a	0 ^a	2 ^a	16	36 ^a	27 ^a	15 ^a
B	33 ^b	10 ^b	31 ^b	24	5 ^b	0 ^b	0 ^{b,c}
C	45 ^b	4 ^{a,b}	14 ^c	18	5 ^b	12 ^{a,d}	5 ^{a,c}
D	32 ^b	4 ^{a,b}	33 ^b	18	7 ^b	8 ^{c,d}	1 ^{b,c}
χ^2	36,5	11,9	40,3	2,3	60,0	36,9	28,2
P	< 0,001	0,008	< 0,001	0,508	< 0,001	< 0,001	< 0,001

Valores numa mesma coluna com letras minúsculas distintas indicam diferenças significativas identificadas pelo procedimento de Marascuilo.

Tabela 6. Frequências de amostras superficiais de carcaças bovinas obtidas em diferentes etapas da linha de abate (A: após sangria; B: após esfolagem; C: após evisceração; e D: após lavagem) com contagens acima de diferentes níveis de contaminação por enterobactérias, e parâmetros estatísticos obtidos por Chi-quadrado (χ^2) e níveis de significância (P).

Etapa do abate	Níveis de contaminação (log UFC/cm ²)						
	< 1	1 a 2	2 a 3	3 a 4	4 a 5	5 a 6	> 6
A	22 ^a	1 ^a	15	31 ^a	17 ^a	12 ^a	5 ^a
B	60 ^b	18 ^b	14	9 ^b	2 ^{b,c}	0 ^{b,c}	0 ^a
C	50 ^b	24 ^b	13	9 ^b	8 ^{a,c}	3 ^{a,c}	0 ^a
D	42 ^b	28 ^b	22	6 ^b	4 ^{b,c}	1 ^{b,c}	0 ^a
χ^2	29,6	28,9	3,7	33,8	18,5	23,4	15,2
P	< 0,001	< 0,001	0,296	< 0,001	0,000	< 0,001	0,002

Valores numa mesma coluna com letras minúsculas distintas indicam diferenças significativas identificadas pelo procedimento de Marascuilo.

Tabela 7. Frequências de amostras superficiais de carcaças bovinas obtidas em diferentes etapas da linha de abate (A: após sangria; B: após esfola; C: após evisceração; e D: após lavagem) com contagens acima de diferentes níveis de contaminação por coliformes totais, e parâmetros estatísticos obtidos por Chi-quadrado (χ^2) e níveis de significância (P).

Etapa do abate	Níveis de contaminação (log UFC/cm ²)						
	< 1	1 a 2	2 a 3	3 a 4	4 a 5	5 a 6	> 6
A	30 ^a	3 ^a	20	25 ^a	12 ^a	10 ^a	3 ^a
B	68 ^b	20 ^b	9	5 ^b	1 ^b	0 ^b	0 ^a
C	50 ^b	25 ^b	12	10 ^b	5 ^{a,b}	1 ^b	0 ^a
D	53 ^b	29 ^b	12	2 ^b	6 ^{a,b}	1 ^b	0 ^a
χ^2	28,5	25,1	5,8	33,2	10,9	22,7	9,1
P	< 0,001	< 0,001	0,123	< 0,001	0,012	< 0,001	0,028

Valores numa mesma coluna com letras minúsculas distintas indicam diferenças significativas identificadas pelo procedimento de Marascuilo.

Tabela 8. Frequências de amostras superficiais de carcaças bovinas obtidas em diferentes etapas da linha de abate (A: após sangria; B: após esfola; C: após evisceração; e D: após lavagem) com contagens acima de diferentes níveis de contaminação por *Escherichia coli*, e parâmetros estatísticos obtidos por Chi-quadrado (χ^2) e níveis de significância (P).

Etapa do abate	Níveis de contaminação (log UFC/cm ²)						
	< 1	1 a 2	2 a 3	3 a 4	4 a 5	5 a 6	> 6
A	35 ^a	2 ^a	19	25 ^a	11 ^a	8 ^a	3 ^a
B	67 ^b	22 ^b	9	5 ^b	0 ^b	0 ^{b,c}	0 ^a
C	61 ^b	23 ^b	8	7 ^b	3 ^{a,b}	1 ^{a,c}	0 ^a
D	73 ^b	15 ^b	10	3 ^b	2 ^{a,b}	0 ^{b,c}	0 ^a
χ^2	33,3	21,3	7,5	34,1	18,2	20,3	9,1
P	< 0,001	< 0,001	0,057	< 0,001	0,000	0,000	0,028

Valores numa mesma coluna com letras minúsculas distintas indicam diferenças significativas identificadas pelo procedimento de Marascuilo.

Tabela 9. Número de amostras superficiais de carcaças bovinas obtidas em diferentes etapas do abate (A: após sangria; B: após esfolagem; C: após evisceração; e D: após lavagem) com contagens de aeróbios mesófilos e enterobactérias acima de valores críticos e inaceitáveis definidos por referências específicas.

Microorganismo	Referência	Classificação	Etapa do abate			
			A	B	C	D
Aeróbios mesófilos	EC, 2001, 2007	Aceitável	14	84	70	79
		Crítico	47	19	16	15
		Inaceitável	42	0	17	9
	McEvoy et al., 2004	Aceitável	9	65	57	61
		Crítico	25	38	27	27
		Inaceitável	69	0	19	15
	Zweifel et al., 2005	Aceitável	9	74	63	69
		Crítico	16	24	18	18
		Inaceitável	78	5	22	16
Enterobactérias	EC, 2001, 2007	Aceitável	22	73	62	57
		Crítico	4	18	15	29
		Inaceitável	77	12	26	17
	McEvoy et al., 2004	Aceitável	22	60	46	42
		Crítico	1	17	21	25
		Inaceitável	80	26	36	36
	Zweifel et al., 2005	Aceitável	22	60	46	42
		Crítico	0	18	24	28
		Inaceitável	81	25	33	33

Em relação à pesquisa de *Listeria* spp. e *L. monocytogenes*, um total de 165 isolados foram considerados suspeitos e submetidos a técnica de PCR multiplex para confirmação. Desse total, 49 isolados foram identificados como *Listeria* spp., dos quais sete foram identificados como *L. monocytogenes* (Tabela 10, Figura 4). Considerando a origem desses isolados, 28 carcaças bovinas apresentaram resultados positivo para *Listeria* spp., e 4 para *L. monocytogenes*, distribuídas em diferentes etapas da linha de abate (Tabela 11). Considerando as frequências de resultados positivos para *Listeria* spp. na linha de abate, foram verificadas diferenças significativas entre a etapa A e as seguintes ($\chi^2 = 38,09$; $P < 0,05$), indicando sua relevância como ponto de contaminação por microrganismos desse

gênero. Em relação a *L. monocytogenes*, não foram verificadas diferenças significativas entre as diferentes etapas de abate avaliadas ($\chi^2 = 6,059$; $P = 0,109$), embora tenha sido isolado em maior frequência na etapa A.

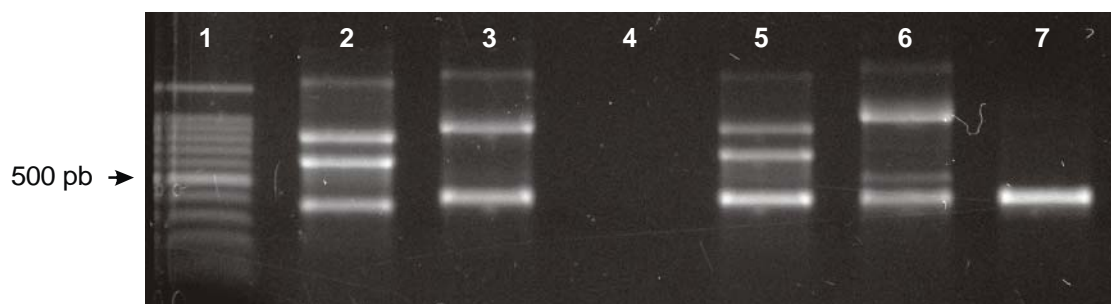


Figura 4. Gel de eletroforese dos produtos de PCR multiplex para identificação de *Listeria* spp. e *Listeria monocytogenes*. 1: marcador de peso molecular de 100 pb (indicação de 500 pb), 2: controle positivo de *L. monocytogenes*, 3: controle positivo de *Listeria* spp. (*L. innocua*), 4: controle negativo, 5 a 7: isolados testados.

Tabela 10. Frequências de isolados identificados como *Listeria* spp. e *L. monocytogenes* obtidos de amostras superficiais de carcaças bovinas coletadas em diferentes etapas da linha de abate (A: após sangria; B: após esfola; C: após evisceração; e D: após lavagem).

Coleta	Frigorífico	Etapa do abate				<i>Listeria</i> spp.	<i>L. monocytogenes</i>
		A	B	C	D		
3	1	1	-	-	-	1	1
4	1	1	-	-	-	1	1
7	1	2	-	-	-	2	1
8	2	1	-	-	-	1	0
11	1	-	-	3	-	3	0
12	1	-	-	-	1	1	1
13	3	2	1	-	-	3	0
14	1	4	-	1	1	6	0
16	1	9	-	-	1	10	0
Total		20	1	4	3	28	4

Tabela 11. Frequências de amostras superficiais de carcaças bovinas coletadas em diferentes etapas do abate (A: após sangria; B: após esfolagem; C: após evisceração; e D: após lavagem) com resultados positivos para *Listeria* spp. e *L. monocytogenes*.

Microorganismo	Etapa do abate				Total
	A	B	C	D	
<i>Listeria</i> spp.	20 (19,41%)	1 (0,97%)	4 (3,88%)	3 (2,91%)	28 (28,15%)
<i>L. monocytogenes</i>	3 (2,91%)	0	0	1 (0,97%)	4 (3,88%)

4. DISCUSSÃO

As variações observadas entre os níveis de contaminação por microrganismos indicadores de higiene em carcaças bovinas ao longo da linha de abate foram semelhantes as observadas por Gill et al. (1996), McEvoy et al. (2004) e Blagojevic et al. (2011). Entre o início e o final do processo de abate, os níveis de contaminação tendem a reduzir. Uma análise mais detalhada do processo de abate indica que também podem ocorrer aumentos nos níveis de contaminação por microrganismos indicadores de higiene, principalmente após a etapa de evisceração e serragem. McEvoy et al. (2004) descrevem o aumento da contaminação por coliformes totais e *E. coli* após essa etapa de evisceração, e Gill et al. (1996) por aeróbios mesófilos. Considerando os resultados obtidos (Tabelas 3 e 4) podem ser observadas diferenças significativas entre as contagens de coliformes totais e aeróbios mesófilos nas carcaças após as etapas de evisceração e serragem, quando comparadas a etapa de esfolagem, assim como nas frequências de amostras com contagens de aeróbios mesófilos acima 4 e 5 log (Tabela 5).

O aumento da contaminação por aeróbios mesófilos (Tabelas 4 e 5) e coliformes totais (Tabelas 4 e 7) observados no ponto C pode ser devido a contaminação da carcaça com o conteúdo intestinal durante essa etapa, embora não tenha sido observado aumento significativo dos níveis de contaminação por *E. coli*. Ainda, deve ser considerada a possibilidade de distribuição desses microrganismos durante a divisão da carcaça, uma vez que durante essa etapa a serra utilizada é constantemente molhada com água fria para evitar a dispersão de fragmentos ósseos nas carnes e esfriar o motor do utensílio. Mesmo que em dois dos três frigoríficos analisados houvesse a possibilidade de contaminação cruzada entre as várias etapas do abate pela configuração do percurso do trilho de processamento (Figura 2, Prendergast et al., 2004), essa forma de contaminação provavelmente não ocorreu entre a esfolagem e a divisão das carcaças bovinas para ser estes

dois processos realizados em postos distantes entre si. Independentemente das causas, o aumento da contaminação microbiana após a evisceração e a divisão da carcaça evidencia que estes são pontos críticos do processo de abate dos bovinos e que devem ser conduzidos cuidadosamente para manter a higiene do processo. No processo de APPCC dos frigoríficos estes processos deveriam ser incluídos, avaliando a contaminação das carcaças com restos de conteúdo intestinal após a etapa de evisceração.

Os níveis de contaminação por aeróbios mesófilos (Tabela 4) nas na pele dos animais analisada na etapa A foram menores do que os observados por Blagojevic et al. (2004) e Antic et al. (2010) em estudos similares e maiores de quanto encontrado por McEvoy et al. (2004) (Tabela 3 na revisão bibliográfica). Os valores de enterobactérias (Tabela 4) foram menores dos obtidos por Antic et al. (2010), e maiores daqueles observados por Blagojevic et al. (2004) e McEvoy et al. (2004) (Tabela 3 na revisão bibliográfica). Em relação à etapa B, as contagens observadas de aeróbios mesófilos (Tabela 4) foram menores do que as obtidas por Gill et al. (1996) e por McEvoy et al. (2004) no peito. Na mesma etapa, as contagens de *E. coli* (Tabela 4) foram maiores que as observadas por Gill et al. (2006) e por McEvoy et al. (2004) (Tabela 3 na revisão bibliográfica), assim como as contagens de enterobactérias e coliformes totais (Tabela 4). Após a evisceração e divisão da carcaça (C), as contagens de aeróbios mesófilos observadas (Tabela 4) foram maiores às observadas por Gill et al. (1996) e por McEvoy et al. (1994), porém enterobactérias, coliformes totais e *E. coli* foram menores que as observadas por McEvoy et al. (2004) (Tabela 3 na revisão bibliográfica). Finalmente, considerando a etapa final do abate (após lavagem, etapa D), os valores de aeróbios mesófilos observados (Tabela 4) foram menores do que os obtidos por Blagojevic et al. (2004), McEvoy et al. (2004) e Barros et al. (2007), e maiores aos observados por Gill et al. (1996) (Tabela 3 na revisão bibliográfica). Os valores de enterobactérias (Tabela 4) foram semelhantes aos encontrados por Blagojevic et al. (2004) e Martinez et al. (2009), maiores dos encontrados por Zweifel et al. (2005), e menores aos encontrados por McEvoy et al. (2004) (Tabela 3 na revisão bibliográfica).

Em geral, os valores de contaminação por microrganismos indicadores de higiene obtidos foram semelhantes a aqueles observados nos estudos descritos e detalhados nas Tabelas 2 e 3 da Revisão Bibliográfica. Esses dados sugerem que as condições higiênicas de produção nos frigoríficos analisados permitem contaminações microbiológicas similares, e relativamente baixa contaminação dos animais na recepção dos frigoríficos para o abate (geralmente criados a pasto e, conseqüentemente, com poucas sujidades e

contaminação) (Jordan et al., 1999). Resultados similares são também observados quando as frequências de amostras com contaminações superiores a diferentes níveis de contaminação são analisadas, comparados a valores de referência previamente estabelecidos (Tabelas 5 a 9) (EC, 2001; McEvoy et al., 2004; Zweifel et al., 2005; EC, 2007). Apesar de serem observadas durante as etapas intermediárias do abate altas frequências de amostras com contaminações “críticas” por aeróbios mesófilos e enterobactérias, ao final do abate essas frequências são reduzidas. Embora ocorra uma redução relevante do número de carcaças classificadas com contaminação crítica e inaceitável, a ocorrência de carcaças nessas condições indica a necessidade de aprimoramento nas condições higiênicas de abate nos frigoríficos analisados (Tabela 9).

Não foi possível a comparação entre os três frigoríficos analisados quanto à contaminação microbiológica durante o processo de abate, uma vez que ao final da presente pesquisa não foi possível a padronização do número de amostras coletadas entre os mesmos. Entretanto, considerando as particularidades da linha de abate de cada frigorífico e conseqüentemente diferentes fontes de contaminação microbiológica, é sugerido que possam ocorrer diferenças. Apesar de possuir menor porte, o frigorífico 2 possui uma linha de abate que minimiza a contaminação microbiológica, devido ao seu percurso retilíneo e menor velocidade de processamento, enquanto os frigoríficos 1 e 3 possuem trilhos para transporte das carcaças em percurso sinuoso, determinando inevitavelmente contato direto entre as carcaças, e conseqüente contaminação. Essa análise comparativa entre os três frigoríficos será realizada posteriormente, com a finalização da coleta de amostras superficiais de carcaças.

Baseado nos resultados obtidos, ficou evidente a importância da análise detalhada de indicadores de higiene durante o processo de abate. Entretanto, a utilização de diferentes parâmetros microbiológicos pode determinar interpretações múltiplas na avaliação das condições de higiene dos processos industriais, e dificultar a aplicação de alguma medida corretiva dentro um programa de qualidade. Analisando os dados apresentados na Tabela 9, é possível verificar que considerando os níveis de contaminação por enterobactérias um maior número de carcaças seria considerado inaceitável, do que considerando os níveis de contaminação por aeróbios mesófilos. Isso evidencia ainda que esses dois parâmetros microbiológicos de higiene do processo de abate não são equivalentes, e que o ideal seria considerar apenas um deles num programa de qualidade, considerando os objetivos de qualidade e segurança pretendidos. A comparação dos resultados das análises realizadas com o teste de Kruskal-Wallis, o bilateral de Dunn e o

teste de χ^2 (Tabelas 4 a 8) também mostram que a enumeração de aeróbios mesófilos permite evidenciar a contaminação microbiológica que ocorre após as etapas de evisceração e divisão das carcaças.

A maioria dos estudos sobre a prevalência de *Listeria* spp. e *L. monocytogenes* na linha de abate de bovinos identifica esses microrganismos em apenas uma etapa do processo: na recepção dos animais (como pesquisa nas fezes ou na pele), ou no final da linha de processamento, antes da entrada na câmara fria (como ilustrado na Tabela 4 da Revisão Bibliográfica). Poucos trabalhos buscam sistematicamente esses microrganismos em diferentes etapas do processamento, como estudo realizado por Rhoades et al. (2009), Rivera-Betancourt et al. (2004) e Guerini et al. (2007). Especificamente os dois últimos realizaram estudos visando a identificação de *Listeria* spp. antes e depois da evisceração. A frequência de *L. monocytogenes* encontrada (Tabela 11) na pele foi menor do que o observado em estudos similares (Rivera-Betancourt et al., 2004; Guerini et al., 2007 e Rhoades et al., 2009). Antes da evisceração *L. monocytogenes* não foi isolado em nenhuma amostra, embora esse patógeno tenha sido isolado nessas etapas por Rivera-Betancourt et al. (2004) e Guerini et al. (2007).

Listeria spp. e *L. monocytogenes* não foram isolados após as etapas de toailete e lavagem de carcaças bovinas em diversos estudos (de Mesquita et al., 1995; Madden et al., 2001; Rivera-Betancourt et al., 2004; Takahashi et al., 2007; Rhoades et al. 2009). Entretanto, foi observado que algumas carcaças apresentaram esses microrganismos após essas etapas (D), como verificado por Vanderlinde et al. (1998). Por outro lado, vários outros estudos identificaram altas frequências de resultados positivos para *Listeria* spp. e *L. monocytogenes* em carcaças bovinas, superiores aos observados no presente estudo (Loncarevic et al., 1994; McNamara, 1995; Kerr et al., 1996; Fenlon et al., 1996; Anon., 1996; Jericho et al., 1997; Vanderlinde et al., 1998; Madden et al. 2001; Guerini et al., 2007; Barros et al., 2007 e Rhoades et al., 2009).

A presença de *Listeria* spp. na pele dos animais, maior quando comparada às demais etapas do abate (Tabela 11), indica que a esfolagem pode ser considerada um ponto crítico para contaminação desses microrganismos nas carcaças. A baixa frequência de *Listeria* spp. observada na pele (que coincide com a baixa contaminação por *E. coli* e CT) pode ser reflexo das boas condições higiênicas dos animais, com baixa contaminação aparente na pele (Jordan et al., 1999). A limpeza dos animais antes do abate associada a correta aplicação das práticas de higiene durante o processamento, reduz a possível contaminação das carcaças em diferentes etapas do abate.

Considerando a distribuição de resultados positivos para *Listeria* spp. nas diferentes etapas do abate, é interessante evidenciar que somente uma carcaça analisada apresentou contaminação por microrganismos desse gênero em mais de uma etapa. Em todos os outros casos, a presença de *Listeria* spp. só ocorreu em uma etapa do processo, frequentemente o ponto A. A baixa frequência de *L. monocytogenes* observada não permitiu uma análise estatística adequada para verificação de diferenças entre as etapas do abate. Entretanto, considerando que suas características são similares às demais espécies do gênero *Listeria* (Buchanan, 2000), a pele dos animais pode ser considerada como um ponto crítico de contaminação também por *L. monocytogenes* na linha de abate. A ocorrência de apenas um animal contaminado por *Listeria* spp. em diferentes etapas do processo indica que os frigoríficos analisados adotam procedimentos higiênicos adequados para o controle desses microrganismos.

5. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos mostraram que as carcaças bovinas analisadas possuem, ao longo do processamento, contaminação por microrganismos indicadores de higiene usualmente menores do que os observados em estudos similares, indicando condições higiênicas adequadas no abate. Apesar de baixas contaminações, várias carcaças apresentaram contagens de indicadores acima dos níveis considerados adequados pela Decisão CE 471/2001 (EC, 2001), indicando a necessidade de melhorias pontuais no processo de abate. Nesse contexto, a etapa A foi considerada o principal ponto de contaminação microbiológica para as carcaças bovinas inclusive para *Listeria* spp..

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABIEC: Associação Brasileira de Indústrias Produtoras de Carne:
<http://www.abiec.com.br/> acesso em: 18/02/2011
- Adam, K., Braulisauer, F., 2010. The application of food safety interventions in primary production of beef and lamb: a review. *Int. J. Food Microbiol.* 141, S43-S52.
- Akkaya, L., Alisarli, M., Cetynkaya, Z., Kara, R., Telli, R., 2008. Occurrence of *Escherichia coli* O157:H7 O 157, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp. In beef slaughterhouse environment, equipment and workers. *J. Musc. Food.* 19, 261-274.

- Anônimo, 1996. United States Department of Agriculture, Food Safety and Inspection Service. nationwide beef microbiological baseline data collection program: cows and bulls. 33p
- Antic, D., Blagojevic, B., Ducic, M., Nastasijevic, I., Mitrovic, R., Buncic, S., 2010. Distribution of microflora on cattle hides and its transmission to meat via direct contact. Food Contr. 21, 1025-1029.
- Barros, M. De A. F., Nero, L. A., Monteiro, A. A., Beloti, V., 2007. Identification of main contamination points by hygiene indicator microorganisms in beef processing plants. Ciência e Tec. Alim. Campinas. 27, 856-862.
- Blagojevic, B., Antic, D., Ducic, M., Buncic, S. 2011. Ratio between carcass and skin microflora as an abattoir process hygiene indicator. Food Control 22, 186-190.
- Border, P. M., Howard, J. J., Plastow, G. S., Siggers, K. W., 1990. Detection of *Listeria* species and *Listeria monocytogenes* using polymerase chain reaction Lett. Appl. Microbiol 11, 158-162.
- Buchanan, R. L., 2000. Aquisition of microbiological data to enhance food safety. J. Food Prot. 63, 832-838.
- de Mesquita, A. J., Timo Iara, S., Nunes, I. A., 1995. Bactéria do gênero *Listeria* em carne e água residual de lavagem de carcaça de um matadouro-frigorífico e em carne moída comercializada na cidade de Goiânia-GO. An. Esc. Agr. Vet. 25, 37-45.
- European Community (EC), 2001. Decision EC 471 of 8/6/2001 laying down rules for the regular checks on the general hygiene carried out by the operators in establishments according to Directive 64/433/EEC on health conditions for the production and marketing of fresh meat and Directive 71/118/EEC on health problems affecting the production and placing on the market of fresh poultry meat. Official Journal of the European Union, L165, 48-53
- European Community (EC), 2007. Regulation 1441 of 5/12/2007 modifies Reg EC 2005/2073 on microbiological criteria for foodstuff Official Journal of the European Union, L 322, 12-29
- Fenlon, D. R., Wilson, J., Donachie, W., 1996. The incidence and levels of *Listeria monocytogenes* contamination of food sources at primary production and initial processing. J. Appl. Bact. 81, 641-650.

- Fernandes, R., 2009. Microbiology handbook: Meat Products ed. Leatherhead Food International.
- Gill, C. O, McGinnis, J. C., Badoni, M., 1996. Use of total or *Escherichia coli* count to assess the hygienic characteristics of a beef carcass dressing process Int. J. Food Microbiol.31, 181-196.
- Guerini, M. N., Brichta Harhay, D. M., Shackelford, S.D., Arthur, T. M., Bosilevac, J. M., Kalchayanand, N., Wheeler, T. L., Koohmaraie, M., 2007. *Listeria* prevalence and *Listeria monocytogenes* serovar diversity at cull cow and bull processing plants in the Unites States. J. Food Prot. 70, 2578-2582.
- ISO 2004. ISO 11290-1:1996/Amd.1:2004 (E): Microbiology of food and animal feeding stuff- Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria moncytogenes* Part 1: Detection method Amendment 1: Modification of the isolation media and the hemolysis test, and inclusion of precision data.
- Jay, J. M. 2005. Microbiologia de alimentos. ARTMED Editora São Paulo.
- Jericho, K. J. W. F., Kozub, G. C., Gannon, V. P. J., Golsteyn T. E. J., King, R. K., Bigham, R. L., Tanaka, E. E., Dixon-MacDougall, J. M., Nishiyama, B. J., Kirbyson, H., Bradley, J. A., 1997. Verification of the level of microbiological control for the slaughter and cooling processes of beef carcass production at a high-line-speed abattoir. J. Food Prot. 60, 1509-1514.
- Jordan, D., McEwen, S. A., Lammerding, A. M., McNab, W. B., Wilson, J. B., 1999. A simulation model for studying the role of pre-slaughter factors on the exposure of beef carcasses to human microbial hazards. Prev. Vet. Med. 41, 37-54.
- Karr, K. J., Boyle, E. A. E., Kastner, C. L., Marsden, J. L., Phebus, R. K., Prasai, R. K., Pruett, W. P., Zepada, C. M. G., 1996. Standardized microbiological sampling and testing procedures for the beef industry. J. Food Prot. 59, 778-780.
- Loncarevic, S., Milanovic, A., Caklovica, F., Tham, W., Danielsson-Tham, M.L., 1994. Occurrence of *Listeria* species in an abattoir for cattle and pigs in Bosnia and Hercegovina. Acta Vet. Scand. 35, 11-15.
- Madden, R. H., Espie, W. E., Moran, L., McBride, J., Scates, P., 2001. Occurrence of *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* e *Campylobacter* spp. on beef carcasses in Northern Ireland. Meat Sci. 58, 343-346

- Madden, R. H., Murray, K. A., Gilmour, A., 2006. Carriage of four bacterial pathogens by beef cattle in Northern Ireland at time of slaughter. *Lett. Appl. Microbiol.* 44, 115-119.
- Mc Evoy, J. M., Sheridan, J. J., Blair, I. S., McDowell, D. A., 2004. Microbial contamination on beef in relation to hygienic assessment based on criteria used in EU Decision 2001/471/EC. *Int. J. Food Microbiol.* 92, 217-225
- McNamara, A. M., 1995. Establishment of baseline data of the microbiota in meats. *J. Food Saf.* 15, 113-119.
- Prendergast, D. M., Daly, D. A., Sheridan, J. J., McDowell, D. A., Blair, I. S., 2004. The effect of abattoir design on aerial contamination levels and the relationship between aerial and carcass contamination levels in two Irish beef abattoirs. *Food Microbiol.* 21, 589-596.
- Rhoades, J. R., Duffy, G., Koutsomanis, K., 2009. Prevalence and concentration of verocytotoxigenic *Escherichia coli*, *Salmonella enterica* e *Listeria monocytogenes* in the beef production chain: a review. *Food Microbiol.* 26, 357-376.
- Rivera-Betancourt, M., Shackelford, S. D., Arthur T. M., Westmoreland, K. E., Bellinger, G., Rossman, M., Reagan, J. O., Koohmaraie, M., 2004. Prevalence of *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* in two geographically distant commercial beef processing plants in the United States. *J. Food Prot.* 67, 295-302.
- Takahashi, T., Ochiai, Y., Matsudate, H., Hasegawa, K., Segawa, T., Fukuda, M., Hondo, R., Ueda, F., 2007. Isolation of *Listeria monocytogenes* from the skin of slaughtered beef cattle. *J. Vet. Med. Sci.* 69, 1077-10799.
- Vanderlinde, P. B., Shay, B., Murray, J., 1998. Microbiological quality of Australian beef carcass meat and frozen bulk packed beef. *J. Food Prot.* 61, 437-443.
- Zavanella, M., Cantoni, C., 2005. *Microrganismi negli ecosistemi alimentari*. em: Rondanelli, E. G., Fabbi, M., Marone, P., (Eds.), 2005. *Trattato sulle infezioni e tossinfezioni alimentari*. Selecta Medica Milano
- Zweifel, C., Baltzer, R., Stephan, R. 2005. Microbiological contamination of cattle and pig carcasses at five abattoirs determined by swab sampling in accordance with EU decision 2001/471/EC. *Meat Sci.* 69, 559-566.

CONCLUSÕES FINAIS

Considerando os resultados obtidos, o presente estudo permite as seguintes conclusões:

- 1) A legislação europeia sobre normas de produção de carne bovina foram importantes referências para a legislação brasileira, principalmente até a década de 1990, quando os países europeus eram os principais parceiros comerciais do Brasil;
- 2) Considerando a internacionalização do comércio de carne bovina Brasileira, e a necessidade de padronização de parâmetros e normas de qualidade e segurança determinadas pela Organização Mundial do Comércio (OMC), as normas relativas a produção de carne bovina passaram a se desenvolver nesse contexto em todos os países signatários da OMC;
- 3) As novas descobertas científicas, acordos comerciais, emergência de novas enfermidades, e aumento da percepção de perigos associados a carne bovina têm estimulado o aprimoramento das normas internacionais de produção de carne bovina, conferindo a esse produto um status de segurança e valorizando a produção brasileira no mercado internacional;
- 4) A pele dos animais representa o principal ponto de contaminação microbiológica, por microrganismos indicadores de higiene, *Listeria* spp. e *L. monocytogenes*, nos três frigoríficos analisados no estudo;
- 5) A etapa após a evisceração e serragem da carcaça representa um ponto de contaminação importante por aeróbios mesófilos e coliformes totais, comparado com a etapa após a esfolagem;
- 6) As etapas de processamento de carne bovina, nos frigoríficos analisados, são eficientes para redução dos níveis de contaminação por microrganismos indicadores na linha de abate;
- 7) Nas carcaças finais, as contagens observadas de microrganismos indicadores de higiene foram relativamente baixas, indicando boas condições higiênicas de processamento;
- 8) Nas carcaças finais, as frequências de *Listeria* spp. e *L. monocytogenes* foram relativamente baixas, indicando baixa contaminação por esses microrganismos já nos animais antes do abate e boas condições higiênicas no processamento das carcaças.

PERSPECTIVAS DO ESTUDO

Considerando os resultados obtidos, o presente estudo será continuado com as seguintes atividades previstas:

- 1) Aumento do número de amostras superficiais de carcaças bovinas, utensílios, equipamentos, mãos de funcionários e cortes cárneos, visando um total de 180 carcaças;
- 2) Análises microbiológicas das amostras coletadas (microrganismos indicadores de higiene, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp., e *Escherichia coli* enterotoxigênicas);
- 3) Estudos moleculares com os isolados microbianos derivados das pesquisas de microrganismos patogênicos: identificação por PCR, identificação de fatores de patogenicidade, perfil genético por restrição enzimática do DNA;
- 4) Análise geral dos dados para verificação das rotas epidemiológicas de contaminação da carne bovina pelos patógenos identificados.