

ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE HAMBÚRGUERES ARTESANAIS COMERCIALIZADOS NA CIDADE DE PIRAQUARA-PR

MICROBIOLOGICAL ANALYSIS OF ARTISAN BURGERS SOLD IN THE CITY OF PIRAQUARA-PR

AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE HAMBÚRGUERES ARTESANAIS

Gabriele da Silva Cordeiro¹

Cristina Peitz de Lima²

Marisa Essenfelder Borges³

RESUMO: As doenças de transmissão hídrica e alimentar são uma grande causa de morbidade e ocorrem por falta de higiene, contaminação cruzada, manuseio e armazenamento inadequados ou descumprimento de padrões estabelecidos pelas legislações vigentes. Podem ser adquiridas através de alimentos contaminados com microrganismos patogênicos. O objetivo deste estudo foi analisar a qualidade microbiológica dos hambúrgueres artesanais comercializados na cidade de Piraquara-PR. Trata-se de um estudo quantitativo em que foram analisadas 4 amostras: 2 congeladas e 2 resfriadas. A temperatura de armazenamento foi verificada no momento da compra e foi utilizado o método de PetrifilmTM para identificação dos microrganismos. A verificação da temperatura mostrou que 2 das amostras estavam em temperatura aceitável e 2 amostras estavam sendo comercializadas fora da temperatura estipulada pela legislação. As amostras estão dentro do limite estipulado pela instrução normativa N°60, de 23 de dezembro de 2019, para *Escherichia coli* e *Staphylococcus coagulase positiva*. Em 3 das amostras houve crescimento de *Salmonella spp*, e em todas houve crescimento de coliformes totais. Esses resultados podem ser um indicativo de deficiência sanitária ao longo da cadeia produtiva até a distribuição do produto. Sendo assim, cabe aos órgãos sanitários aumentarem a fiscalização nos estabelecimentos, reforçando medidas higiênico-sanitárias para oferecer um produto de qualidade para o consumidor.

PALAVRAS-CHAVE: Alimentos; *Escherichia coli*; Técnicas microbiológicas.

ABSTRACT: Waterborne and foodborne diseases are a major cause of morbidity and occur due to lack of hygiene, cross contamination, inadequate handling and storage or non-compliance with standards established by current legislation. They can be acquired through food contaminated with pathogenic microorganisms. The aim of this study was to analyze the microbiological quality of handmade hamburgers sold in the city of Piraquara-PR. This is a quantitative study in which 4 samples were analyzed: 2 frozen and 2 cooled. The storage

¹ Formada em Farmácia pelo Centro Universitário Autônomo do Brasil – UniBrasil

² Professora do Centro Universitário Autônomo do Brasil - UniBrasil

³ Professora do Centro Universitário Autônomo do Brasil - UniBrasil

temperature was verified at the time of purchase, and the Petrifilm™ method was used to identify the microorganisms. The temperature check showed that 2 of the samples were at an acceptable temperature and 2 samples were being marketed outside the temperature stipulated by the legislation. The samples are within the limit stipulated by normative instruction No. 60, of December 23, 2019, for *Escherichia coli* and coagulase positive *Staphylococcus*. In 3 of the samples there was growth of *Salmonella spp*, and in all there was growth of total coliforms. These results can be an indication of sanitary deficiency throughout the production chain until the product is distributed. Therefore, it is up to the sanitary agencies to increase inspection in the establishments, reinforcing hygienic-sanitary measures to offer a quality product to the consumer.

KEYWORDS: Foods; *Escherichia coli*; microbiological techniques.

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos os brasileiros vêm aderindo a um estilo frequente de alimentação fora de casa, por exemplo, nos *Fast-foods* onde é preparada uma alta demanda de alimento em pouco tempo, ou então, comprando alimentos que sejam de fácil preparo e que não demandam de muito tempo para estarem prontos. Segundo dados da associação das empresas brasileiras de refeições coletivas - ABERC (2020), no ano de 2020, foram servidos cerca de 14,7 milhões de refeições/dia (1). Um exemplo de alimento rápido bastante utilizado é o hambúrguer, que é definido pelo Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do hambúrguer do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) como produto cárneo industrializado obtido da carne moída dos animais de açougue, adicionado ou não de tecido adiposo e ingredientes, moldado e submetido a processo tecnológico adequado (2).

A indústria de carnes é um dos setores que mais ocupam espaço na área de alimentos que são prontos ou semipreparados. Diante disso, as indústrias devem investir em boas práticas de fabricação (BPF) para garantir que o alimento esteja nos limites microbiológicos adequados estipulados pela Instrução Normativa N°60, de 23 de dezembro de 2019 (3, 4). Além das indústrias, essa qualidade deve ser mantida pelos comerciantes que também manipulam esses alimentos, para que chegue ao consumidor um alimento que não ofereça risco de causar desconfortos gastrointestinais ou até mesmo doenças (4).

A segurança alimentar é um ponto de grande importância, pois além de garantir uma boa alimentação aos consumidores, sem oferecer riscos à saúde, vai definir se o local é adequado para o funcionamento (4). As atividades de inspeção não são realizadas somente nas indústrias produtoras de alimentos, mas também são realizadas nos comércios prestadores de serviços pela Vigilância Sanitária (VISA), que vai determinar se o local é

adequado ou não para funcionamento. Se não estiver dentro dos parâmetros estabelecidos o estabelecimento está sujeito a interdição parcial ou definitiva até que sejam cumpridas as exigências sanitárias ^(4, 5).

As Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar (DTHAs) podem ser caracterizadas quando uma pessoa apresenta sintomas como vômitos, náuseas e diarreia, entre outros, após a ingestão de alimento ou água contaminados com bactérias e suas toxinas, parasitas, fungos ou vírus ⁽⁶⁾. Essas doenças podem ser adquiridas através de alimentos contaminados com microrganismos patogênicos, seja por falta de higiene, contaminação cruzada de utensílios usados no manuseio do alimento, armazenamento inadequado ou descumprimento de padrões estabelecidos pelas legislações vigentes ⁽⁷⁾. O perfil epidemiológico das DTHAs no Brasil é pouco conhecido por falta de dados dispostos pelos estados e municípios. Os dados mais atuais são de 2018, que mostram que foram notificados 12.503 casos entre os anos de 2000 a 2017, sendo as bactérias com 92,2% as maiores responsáveis por causar surtos no Brasil ⁽⁶⁾. Segundo o Manual Integrado de Vigilância, Prevenção e Controle de Doenças Transmitidas por Alimentos, as DTHAs são uma grande causa de morbidade e vem aumentando os casos significativamente, sendo que os principais fatores que podem explicar isso são: o crescimento da população e o processo de urbanização que resultam em um aumento na produção de alimentos com uma deficiência no controle da fiscalização da qualidade desses alimentos oferecidos a população ⁽⁷⁾.

Dentre os microrganismos patogênicos mais comuns podemos destacar a *Staphylococcus coagulase positiva*, a *Escherichia coli* e a *Salmonella spp.* A *Staphylococcus coagulase positiva* é responsável por causar toxinfecção em humanos decorrente da contaminação pelo manipulador ou pela higienização inadequada dos utensílios de manuseio do alimento ⁽⁸⁾. A *Escherichia coli* e a *Salmonella spp.* são responsáveis por causar infecções, podendo ser encontradas na carne bovina crua devido a contaminação no momento do abate, já que estão presentes no intestino desses animais, ou pode ocorrer contaminação pelo manipulador ⁽⁸⁾.

O grupo de coliformes totais é composto por bactérias gram-negativas capazes de fermentar lactose em um período de 48 horas, a 35°C. Entre as espécies mais importantes estão a *Klebsiella*, *Enterobacter* e *Citrobacter* e a *Escherichia coli* que são consideradas indicadores de contaminação fecal e, como são facilmente destruídos pelo calor, são excelentes indicadores de pós processamento de alimentos. Portanto, a presença dessas bactérias no hambúrguer serve para avaliar a qualidade higiênico sanitária do preparo do alimento ⁽⁸⁾.

Dentro deste contexto, esse trabalho teve como objetivo analisar a qualidade microbiológica de 4 amostras de hambúrgueres artesanais comercializados na cidade de Piraquara-PR, com o intuito de verificar a presença de *Escherichia coli*, *Staphylococcus* coagulase positiva e *Salmonella spp* e relacionar os resultados com a instrução normativa N°60, de 23 de dezembro de 2019. Além de comparar a temperatura de armazenamento com a preconizada pela Portaria CVS 5, de 09 de abril de 2013 da ANVISA ⁽⁵⁾.

2. MÉTODOS

Trata-se de um estudo quantitativo, no qual, foi realizada a contagem das Unidades Formadoras de Colônias (UFC's) em amostras de hambúrgueres artesanais coletadas em diferentes comércios da cidade de Piraquara-PR. Como critérios de inclusão foram avaliados estabelecimentos comerciais que produzem ou vendem hambúrgueres de forma artesanal.

2.1 Caracterização das amostras

Cada amostra foi codificada com as letras A, B, C e D para não expor o local em que foi realizada a coleta. A amostra A foi coletada em uma casa de carnes, a B em uma mercearia, a C em um hipermercado e a amostra D em uma lanchonete. Foram coletadas 2 amostras congeladas (A e B) e duas resfriadas (C e D), cada amostra em sua embalagem original. Durante a aquisição das amostras aferiu-se a temperatura, com o uso de um termômetro digital de infravermelho e as amostras foram transportadas em caixa de isopor sobrefrigeração ⁽⁹⁾. A análise microbiológica foi realizada no laboratório de microbiologia da instituição de ensino Centro Universitário Autônomo do Brasil - UNIBRASIL, onde todos os materiais utilizados para o processamento das amostras no laboratório foram esterilizados e toda a operação realizada em uma câmara de fluxo laminar ⁽⁹⁾.

2.2 Preparo das diluições

No laboratório, cada amostra foi colocada em um liquidificador que serviu para homogeneizar completamente a amostra, podendo assim coletar uma parte do todo para fazer a análise ⁽⁹⁾. O liquidificador foi devidamente desinfetado, com álcool 70%. Após bater no liquidificador por cerca de 1 minuto, foi pesado 25g da amostra em balança de precisão e a

amostra foi colocada em um frasco com 225ml de água peptonada 0,1% estéril com pH 7,2. Essa solução foi homogeneizada manualmente por cerca de 2 minutos, obtendo assim, a diluição de 10^{-1} . A partir desta diluição inicial foram realizadas diluições seriadas, em três tubos. Para a segunda diluição foi adicionado 1ml da solução 10^{-1} em um tubo com 9 ml de água peptonada 0,1% estéril (diluyente), formando a diluição 10^{-2} . Em seguida, foi retirado 1 ml da diluição 10^{-2} e adicionado com 9 ml do diluyente formando a diluição 10^{-3} , e por fim, foi retirado 1 ml da diluição 10^{-3} e adicionado com 9 ml do diluyente formando a diluição 10^{-4} ⁽⁹⁾.

2.3 Análise microbiológica

As análises foram realizadas pela técnica de Petrifilm™, em triplicata, seguindo a descrição do método validado pela *Association of Official Analytical Chemists (AOAC)*, para cada microrganismo avaliado. Para detecção de *Escherichia coli* e coliformes totais foi utilizada a placa contendo nutrientes do meio de cultura Ágar Vermelho Violeta Bile (VRBA), indicador de atividade glicuronidásica, que é um indicador que facilita a enumeração da colônia para *Escherichia coli* que se caracteriza pelas colônias azuis a vermelho-azuladas, associadas ao gás retido. Para coliformes totais as características das colônias são rosas a vermelhas associadas a gás retido ⁽¹⁰⁾. Para detecção de *Staphylococcus* coagulase positiva foi usada a placa com meio de cultura *Baird Parker* (BP) modificado e seletivo apresentando característica das colônias vermelhas violeta ⁽¹¹⁾. E para detecção de *Salmonella spp*, foi usada placa com enriquecimento seletivo, se o resultado for positivo a colônia tem o aspecto de cor azulada ou preto azulado. ⁽¹²⁾. Todas as placas de Petrifilm™, contém um agente geleificante solúvel em água fria ⁽¹⁰⁾.

Em uma superfície plana, foi levantado cuidadosamente o filme superior da placa e com uma pipeta volumétrica perpendicularmente foi acrescentado 1 ml da diluição 10^{-3} e em outra placa foi acrescentado 1 ml da diluição 10^{-4} , em seguida o filme superior foi fechado para evitar a formação de bolha. Aguardou-se até que o gel se solidificasse. Após, foi incubado por 24h a 35°C ⁽¹⁰⁾.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No momento da coleta foi realizada a medição da temperatura dos hambúrgueres com ajuda de um termômetro digital de infravermelho para verificar se a temperatura de armazenamento está de acordo com a legislação, sendo um ponto de grande importância por

estar diretamente relacionado a qualidade microbiológica e da qualidade do alimento fornecido ao consumidor ⁽¹³⁾. Os valores estão representados na Tabela 1.

Tabela 1 - Resultados da medição da temperatura das amostras de hambúrgueres artesanais.

Amostra	Temperatura
A	-6,9° C
B	-11,9° C
C	6,2° C
D	17,4° C

Fonte: Autoria própria.

As amostras A e B foram coletadas congeladas e apresentaram temperaturas de acordo com as preconizadas pela Agência Nacional de vigilância Sanitária que podem variar entre 0°C à -25°C ⁽⁶⁾ ⁽¹³⁾. Temperaturas entre -18°C à - 25°C garantem maior conservação do alimento inibindo o crescimento de microrganismos e diminuindo ações enzimáticas, evitando assim a deterioração e contaminação microbiológica dos alimentos, portanto, as amostras estão dentro da temperatura adequada, mas podem não apresentar maior durabilidade e conservação, pois nem toda água presente no hambúrguer apresenta-se em forma de gelo ⁽¹³⁾.

As amostras C e D foram coletadas resfriadas e ambas estavam fora dos parâmetros de temperatura preconizados pelo MAPA (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO), que estabelece temperatura de armazenamento de carne moída resfriada entre 0°C à 4°C⁽⁵⁾. A amostra D, no momento da coleta, estava em temperatura ambiente o que pode favorecer o crescimento de microrganismos e pode aumentar a velocidade de deterioração do alimento. Se o mesmo não for processado termicamente da maneira correta pode causar desconfortos como vômitos, diarreia, náuseas ou até mesmo doenças transmitidas por alimentos contaminados ⁽⁷⁾.

Em um estudo realizado por Conceição e Gonçalves (2009), foi aplicado um questionário a 100 pessoas com idade entre 24 a 84 anos e uma das perguntas do questionário era se o entrevistado costumava olhar, no momento da compra, a temperatura da carne no balcão.

Cerca de 10% dos entrevistados disseram se preocupar com a temperatura de armazenamento do produto cárneo, o que se torna um dado preocupante, visto que segundo os

autores é um dos itens mais importantes a serem observados para garantir um produto de qualidade⁽¹⁴⁾.

Para as análises microbiológicas, foi utilizado o padrão para *Escherichia coli*, *Staphylococcus* coagulase positiva e *Salmonella spp* estabelecido pela instrução normativa nº60 de 23 de dezembro de 2019 que se aplica de maneira complementar a resolução da diretoria colegiada - RDC nº 331, de 23 de dezembro de 2019, que estabelece listas de padrões microbiológicos para alimentos prontos para oferta ao consumidor⁽³⁾⁽¹⁵⁾. O resultado das unidades formadoras de colônias foi realizado fazendo-se uma média aritmética das placas e multiplicando os valores pelas diluições⁽⁹⁾. Ausência de crescimento de colônias foi caracterizado com um traço (-). Segue abaixo a Tabela 2 representando os resultados obtidos para *Staphylococcus* coagulase positiva, *Salmonella spp*, *Escherichia coli* e coliformes totais.

Tabela 2 - Resultado das análises microbiológicas para *Escherichia coli*, *Staphylococcus* coagulasepositiva, *Salmonella spp* e coliformes totais.

Amostra	<i>Staphylococcus</i> coagulase positiva (UFC/g)	<i>Salmonella spp</i> (UFC/g)	<i>Escherichia coli</i> (UFC/g)	Coliformes totais (UFC/g)
A	<1,04x10 ²	Presença/ 25g	-	1,8x10 ³
B	<1,04x10 ²	Presença/25g	<1,02x10 ²	4,8x10 ⁵
C	-	Ausência/25g	-	1,1x10 ⁴
D	<1,04x10 ²	Presença/25g	-	2,9x10 ⁴
Limite da legislação	<1,04x10²	Ausência em 25g	<1,02x10²	Não determinado

Fonte: Autoria própria e instrução normativa nº60 de 23 de dezembro de 2019.

A *Escherichia coli* é considerada um indicador de contaminação fecal por estar presente na flora intestinal de humanos e de animais de sangue quente. A contaminação pode ocorrer no momento do abate, na moagem ou pelo manipulador⁽⁸⁾. Em 75% (3) das amostras não houve crescimento de colônias e somente em 25% (1) houve crescimento. Resultado parecido foi encontrado em um estudo feito por Lemunie e Weber (2018)⁽¹⁶⁾, em que foi realizada uma análise microbiológica de 10 hambúrgueres de carne bovina comercializados na cidade de Cascavel (PR), coletados em diferentes pontos, sendo cinco da periferia e cinco do centro, e somente 10% apresentaram contaminação por *E. coli*⁽¹⁵⁾. Comparando os resultados com o trabalho citado, houve baixa ou nenhuma contaminação por esse microrganismo em algumas

amostras, o que se torna um dado positivo que atesta que, segundo esse critério, os hambúrgueres são seguros para venda ao consumidor⁽¹⁵⁾.

Os dados para *Staphylococcus* coagulase positiva apresentaram crescimento de colônias em 75% (3) das amostras mas nenhum resultado está acima de $1,04 \times 10^2$ UFC/g que é o valor máximo estipulado pela legislação. Somente na amostra C não houve crescimento do microrganismo. Em estudo realizado por Gomes *et al.* (2017) foi analisada a carne bovina moída, que é o principal ingrediente para hambúrguer, onde houve crescimento de *Staphylococcus* mas somente uma amostra se encontrava próximo do limite máximo exigido pela legislação⁽¹⁷⁾. Embora o estudo se encontre em conformidade com a legislação, esse grupo de bactérias é um dos responsáveis por causar surtos de toxinfecções em humanos, em baixas doses, sendo mais comuns serem encontradas na pele, mucosas oronasais e superfícies

(8).

A higienização das mãos é conhecida como prevenção primária e com a pandemia do Covid-19 a informação sobre higienização, principalmente, das mãos, aumentou consideravelmente, o que poderia ser um fator para explicar a ausência ou o pouco crescimento de colônias para as análises de *Escherichia coli* e *Staphylococcus* coagulase positiva, visto que, uma das maiores fontes de contaminação de alimentos são as mãos do manipulador⁽¹⁸⁾.

Em 100% (4) das amostras foi observado o crescimento de coliformes totais, conforme representado na Tabela 2. A Instrução Normativa N°60, de 23 de dezembro de 2019, não estabelece limites de tolerância para coliformes totais⁽³⁾. Em análise microbiológica de hambúrgueres comercializados em embalagens primárias e secundárias, Menezes e Alexandrino (2014), encontraram crescimento de coliformes totais em 100% das amostras⁽¹⁹⁾. Número preocupante também encontrado por Rodrigues Hangui *et al.* (2015), em Anápolis, Goiás, onde foi encontrada contaminação em 100% das amostras de carne bovina moída⁽²⁰⁾. Esse grupo de bactérias pode indicar condições deficientes de higienização que pode ser prejudicial à saúde do consumidor, caso o alimento não seja preparado em temperatura adequada para destruição dessas bactérias.

Os resultados para *Salmonella spp* mostraram que 75% (3) das amostras apresentaram presença desse microrganismo, sendo que a legislação estipula ausência em 25g. Lemunie e Weber (2018)⁽¹⁶⁾, não encontraram contaminação de *Salmonella spp* em suas amostras, já Fortuna *et al.* (2013), encontraram que, das 80 amostras de hambúrgueres analisadas, 22 (27,5%) estavam contaminadas por *Salmonella spp*⁽²¹⁾. Segundo o Ministério da Saúde, entre

os anos de 2000 a 2017, a *Salmonella* foi a bactéria que mais causou surtos de doenças transmitidas por alimentos contaminados no Brasil ⁽⁶⁾. Esse microrganismo pode ser encontrado nos intestinos de animais e humanos, e um dos meios mais comuns de transmissão está na contaminação da carne que pode acontecer no momento do abate ou pelo manipulador ⁽²²⁾. Não se pode afirmar que a presença de *Salmonella* nas amostras ocorreu pelo manipulador, mas é importante que as práticas higiênicas sejam feitas da maneira correta para evitar contaminação do alimento.

A partir desse trabalho pôde-se concluir que, de acordo com os valores de temperatura observados, as amostras refrigeradas (C e D) não estavam em conformidade com a legislação, apresentando temperatura de armazenamento inadequada, que pode acarretar proliferação de microrganismo e deterioração da carne, podendo causar desconfortos gastrointestinais para o consumidor.

Para as análises microbiológicas conclui-se que os hambúrgueres artesanais estão dentro dos parâmetros estipulados pela Instrução Normativa N°60, de 23 de dezembro de 2019 para *Escherichia coli* e *Staphylococcus coagulase positiva*. No entanto, houve crescimento considerável de coliformes totais nas amostras, porém, a legislação não apresenta parâmetros de referências para esse grupo de microrganismos. Os resultados apontam crescimento de *Salmonella spp* em 75% (3) das amostras. Esses resultados podem ser um indicativo de deficiência sanitária ao longo da cadeia produtiva até a distribuição do produto.

Sendo assim, as 3 amostras não poderiam ser comercializadas por não atender ausência de *Salmonella spp*. Cabe aos órgãos sanitários aumentarem a fiscalização nos estabelecimentos, reforçando medidas higiênico-sanitárias, e os comerciantes reforçarem as boas práticas de manipulação para diminuir a contaminação do alimento, fazendo com que fiquem padronizados com a legislação com valores aceitáveis para oferecer um produto de qualidade para o consumidor.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABERC, Associação Brasileiras das Empresas de Refeições Coletivas. Mercado real, 2020. Disponível em: <https://www.aberc.com.br/mercadoreal.asp?IDMenu=21>. Acesso em: 05 de maio de 2021.
2. Brasil, Instrução Normativa N° 20, De 31 De Julho De 2000. Aprova os “Regulamentos

- Técnicos de Identidade e Qualidade de Almôndega, de Apresuntado, de Fiambre, de Hambúrguer, de Kibe, de Presunto Cozido e de Presunto”. MAPA –Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em: <http://www.cidasc.sc.gov.br/inspecao/files/2020/09/IN-MAPA-n%C2%BA-20-de-31-de-julho-de-2000.pdf>. Acesso em: 11 de junho de 2021.p12.
3. Brasil, Instrução Normativa N°60, de 23 de dezembro de 2019. “Estabelece as listas de padrões microbiológicos para alimentos.” ANVISA - Agencia Nacional de Vigilância Sanitária. Disponível em: www.anvisa.com.br. Acesso em: 10 de maio 2021.
 4. Marins BR, Tancredi RCP, Gemal AL. Segurança alimentar no contexto da vigilância sanitária: reflexões e práticas. Rio de Janeiro(RJ): EPSJV, 2014.
 5. Brasil. 2003. Ministério da Agricultura, Pecuária e abastecimento. Instrução Normativa N° 83, de 21 de novembro de 2003. Aprova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Carnes Bovina em Conserva (Corned Beef) e Carne Moída. Brasília, DF.
 6. Ministério da Saúde (BR). Surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos no Brasil. Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis, Coordenação Geral de Doenças Transmissíveis, 2018. Disponível em:<https://portal.arquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2018/janeiro/17/Apresentacao-Surtos-DTA-2018.pdf>.
 7. Ministério da Saúde (BR). Manual Integrado de Vigilância, Prevenção e Controle de Doenças Transmitidas por Alimentos. 2010, 1 ed. Brasília (DF). Acesso em:< https://bvsm.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_integrado_vigilancia_doencas_alimentos.pdf > 10 de maio 2021.
 8. Forsythe SJ. Microbiologia da Segurança dos Alimentos. 2 ed. Porto Alegre: Artmed editora; 2013.
 9. Silva N da, Junqueira VCA, Silveira NFA.; Taniwaki MH, Gomes RAR, Okazaki MM. Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água. 5 ed. São Paulo: Blucher, 2017.
 10. 3M Petrifilm™, Guia de interpretação de Contagem para *E.coli* e coliformes. Disponível em: <https://docplayer.com.br/19496666-3m-tm-petrefilm-tm-placa-para-contagem-de-e-coli-e-coliformes-placa-para-contagem-de-coliformes-guia-de-interpretacao.html> Acesso: 15 de maio 2021
 11. 3M Petrifilm™, Placa petrifilm™ staph express para contagem expressa de *staphylococcus aureus*. Disponível em: <https://multimedia.3m.com/mws/media/5868600/guia-placa-petristaphexpress.pdf?&fn=PetrifilmStaphExpressSTX.pdf> Acesso em: 15 de maio 2021.
 12. 3M Food Safety, 3MTM Petrifilm™ Salmonella Express System – Guia de interpretação. Disponível em: <http://czs.cl/wp/pdf/guiasdeinterpretacion/Guia-de-Interpretacion-Salmonella-Low-resolution.pdf>. Acesso em: 15 de maio de 2021.

13. Mello FR de, Martins PCR, Silva AB da, Pinto FST, **Gibbert L**. Tecnologia de Alimentos para Gastronomia. 2 ed. SAGAH; 2018.
14. Conceição FVE da, Gonçalves ECBA. Qualidade físico-química de mortadelas e carnes moídas e conhecimento dos consumidores na conservação destes produtos. Cien Tecnol Aliment. 2009; 29(2):283-90. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/cta/v29n2/07.pdf>
15. Brasil, Resolução RDC n° 331, de dezembro de 2019. Aprova o regulamento “Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos”. Órgão emissor: ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Disponível em: www.anvisa.com.br. Acesso em: 10 de Maio 2021.
16. Lemunie AQ, Weber LD. Análise microbiológica de hambúrgueres de carne bovina comercializados em sanduicheiras tipo trailer em Cascavel/PR. Anais do Congresso Nacional de Medicina Veterinária FAG 2018.
17. Gomes A de FA et al. Avaliação microbiológica de carnes moídas bovinas em diferentes estabelecimentos comerciais/ Microbiological evaluation of bovine ground meat in different commercial establishments. Cad. Cienc. Agrar. 2017;9(3):95-100. Disponível em: <https://periodicos.ufmg.br/index.php/ccaufmg/article/view/2982>
18. Ministério da Saúde (BR). Segurança do Paciente em Serviços de Saúde: Higienização das Mãos. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 2009. Disponível em: https://www.anvisa.gov.br/servicosaude/manuais/paciente_hig_maos.pdf.
19. Menezes AC, Alexandrino AM. Análise microbiológica de hambúrgueres comercializados em embalagens primárias e secundárias. SaBios: Rev. Saúde e Biol. 2014;9(3):94-100. Disponível em: <https://revista2.grupointegrado.br/revista/index.php/sabios/article/view/1615>
20. Hangui SAR, Pereira AF, Dourado ATS, Martins JD, Vargem DS, Silva JR da. Análise microbiológica da carne bovina moída comercializada na cidade de Anápolis- GO. Rev. Eletr. Farm 2015; 12(2): 30-38.
21. Fortuna JL, Nascimento ER, Franco RM. Correlação entre contagem de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas e isolamento de *Salmonella spp.* em hambúrgueres crus. Revista Brasileira de Ciência Veterinária 2013; 20(1):59-63. Disponível em: <https://revistas.ufg.br/REF/article/view/34969>
22. Germano PML, Germano MIS. Higiene e Vigilância Sanitária de Alimentos.5 ed. São Paulo: Editora Manole; 2015. p. 350-354.