



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA**

**EFEITO DA REDUÇÃO DE TEMPERATURA DE CARÇAÇAS DE FRANGO NA
MULTIPLICAÇÃO DE MICRORGANISMOS**

Michele Tainá Derks Maroso



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA

**EFEITO DA REDUÇÃO DE TEMPERATURA DE CARÇAÇAS DE FRANGO NA
MULTIPLICAÇÃO DE MICRORGANISMOS**

Michele Tainá Derks Maroso

Dissertação de Mestrado apresentado ao Programa de
Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Faculdade
de Veterinária da UFRGS

Orientador: Prof. Dr. Vladimir Pinheiro do
Nascimento

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Andrea Troller Pinto

Porto Alegre, 2008

M354e Maroso, Michele Tainá Derks

Efeito da redução de temperatura de carcaças de frango na multiplicação de microrganismos./ Michele Tainá Derks Maroso. – Porto Alegre: UFRGS, 2008.

69 f.; il. – Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Porto Alegre, RS-BR, 2008. Vladimir Pinheiro do Nascimento, Orient.

1. Carcaça de frango: microrganismos: identificação 2. Salmonella: aves 3. Carcaça de frango: contaminação I. Nascimento, Vladimir Pinheiro do, Orient. II. Pinto, Andrea Troller, Co-orient. III. Título.

CDD 619.4

Catálogo na fonte: Biblioteca da Faculdade de Veterinária da UFRGS

A comissão examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação de Mestrado

**EFEITO DA REDUÇÃO DE TEMPERATURA DE CARCAÇAS DE FRANGO NA
MULTIPLICAÇÃO DE MICRORGANISMOS**

elaborada por

Michele Tainá Derks Maroso

como requisito parcial para obtenção de grau de

Mestre em Ciências Veterinárias

Comissão Examinadora

Prof^a. Dr^a. Luciana Ruschel dos Santos

Prof. Dr. Guiomar Pedro Bergmann

Prof^a. Dr^a. Verônica Schmidt

Porto Alegre, fevereiro de 2008.

Agradecimentos

Em primeiro lugar gostaria de agradecer a Deus que sempre foi à luz dos caminhos trilhados.

Agradeço aqueles professores que fazem a excelência dessa Casa, com seu mérito técnico, competência profissional e dedicação. Àqueles que foram e serão sempre nossos mestres, que nos serviram de base ou de guia; aqueles que são fundamentais.

Com todo o meu amor, respeito e orgulho, agora e sempre, meu muito obrigada aos meus pais e meu irmão que são responsáveis por esta conquista. Ao meu pai, agradeço a sabedoria e paciência. À minha mãe, agradeço a sabedoria e audácia. E ao meu irmão agradeço a presença constante e todos os auxílios prestados.

Ao meu amor, Júnior, por todo amor, apoio, paciência e pela presença segura, competente e estimulante, que me deu forças para superar todos os momentos difíceis que passamos juntos.

À todos os meus amigos que de uma forma ou outra participaram desta jornada. Aos novos amigos que se tornarão velhos amigos, e aos velhos amigos que sempre serão eternos amigos. Valeu a companhia!

A todos os colegas que auxiliaram na idealização e concretização deste projeto, em especial ao Daniel Scheid, Elaine Brentano, Elisandro Centenaro, Leandro Serraglio, Pedro Adilson Bald, professor Vladimir Pinheiro do Nascimento e professora Andrea Troller Pinto. Muito obrigada pela oportunidade de aprender diariamente com vocês!

Enfim, a todos que de uma maneira ou outra compartilharam das conquistas, deslumbramentos, alegrias, excitações e expectativas.

“Vós, investigadores, não deveis confiar em autores que, apenas pelo emprego da imaginação, se fazem intérpretes entre a natureza e o homem, mas somente naqueles que exercitaram seu intelecto com os resultados de experimentos.”

Leonardo da Vinci

Resumo

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o tempo necessário para que carcaças de frango de diferentes pesos (1.200 g e 2.100g), que ao sair do tanque de resfriamento se encontravam com a temperatura acima de 7°C, alcançassem 4°C e traçar o perfil microbiológico destas, realizado através do estudo de presença e multiplicação dos indicadores: microrganismos mesófilos aeróbios, coliformes totais, coliformes termotolerantes, *Escherichia coli*, *Staphylococcus* coagulase positivo, *Clostridium perfringens*, *Salmonella* spp. e *Listeria* spp. a fim de auxiliar as medidas e os limites críticos de um plano APPCC para a indústria de carne de ave.

A pesquisa foi realizada em um matadouro localizado no Estado do Rio Grande do Sul. No total foram coletadas aleatoriamente 100 carcaças de frangos, 50 amostras para cada peso, com temperatura acima de 7°C, na esteira na saída dos tanques de resfriamento. Todas as carcaças foram colocadas em caixa plásticas e encaminhadas à câmara de resfriamento (tempo zero). De hora em hora foi realizada a aferição de temperatura no músculo peitoral profundo de 15 unidades amostrais de cada peso. As carcaças com peso de 1.200 g levaram de 2 a 4 horas para alcançarem a temperatura de 4°C na musculatura profunda e as carcaças com peso médio de 2.100 g, chegaram a temperatura de 4°C entre 5 e 8 horas de resfriamento.

No momento da coleta das amostras e a cada hora, foram coletadas 5 unidades amostrais, de cada grupo, para análise microbiológica, totalizando 25 amostras para carcaças de frango de 1.200 g e 43 amostras para carcaças de frango de 2.100 g.

A contagem de bactérias mesófilas aeróbias não apresentou declínio significativo ($P > 0,05$) ao longo do tempo de resfriamento, tanto em carcaças de 1.200 g quanto nas carcaças com peso de 2.100 g.

A contagem de *Staphylococcus* coagulase positivo manteve-se, durante todo o experimento, para os dois tipos de amostras (1.200 e 2.100 g) dentro do limite estipulado pela legislação, todos os frangos analisados apresentaram resultados menores que 2,0 log₁₀ UFC/g.

Não houve o crescimento de *Clostridium perfringens* em nenhuma das análises realizadas, tanto em carcaças de frango com 1.200 g quanto naquelas com 2.100g.

Para coliformes totais, a queda da temperatura foi significativa no declínio da contagem microbiana somente para carcaças de 2.100g. Já para coliformes termotolerantes e *E. coli* foi

possível identificar declínio na contagem bacteriana ao longo do tempo de resfriamento para carcaças de 1.200g e para carcaças de 2.100g ($P \leq 0,05$).

Foi observada a presença de *Salmonella* spp. e *Listeria* spp. em temperaturas de refrigeração. Para carcaças de 1.200g, foi isolado *Salmonella* spp. em uma amostra que se encontrava na temperatura de 4,6°C e, em uma amostra, para carcaças de 2.100g, que se encontrava na temperatura de 7,2°C.

Listeria spp. apenas foi detectada em carcaças de 2.100g, sendo uma amostra com temperatura de 6,2°C e em 04 amostras com temperatura de 4,6°. Verificou-se correlação inversa entre temperatura da carcaça e presença do microrganismo, isto é, a detecção de *Listeria* spp. ocorreu quando houve a queda da temperatura, isolando-a em temperaturas de refrigeração.

Palavras-chave: carcaças de frango, queda de temperatura, microrganismos indicadores, *Salmonella* spp., *Listeria* spp.

Abstract

The present work aimed to evaluating the time necessary for broiler meat of different weights (1.200g e 2.100g, that after chiller had the temperature over 7°C), to be raised 4°C in temperature and to perform a microbiological profile through the study of the presence of indicators (mesophilic aerobes pathogens, total coliform, thermotolerant coliform, Escherichia coli, Staphylococcus coagulase positive, Clostridium perfringens, Salmonella spp. e Listeria spp.) and their multiplication, in order to help measuring critical limits in a HACCP plan to be applied to a broiler meat industry.

The research was performed in a slaughterhouse located in the State of Rio Grande do Sul, Southern Brazil. One hundred broiler carcasses were collected, being 50 samples of each weight (1.200g e 2.100g), which showed temperatures above 7°C, at the end of the chiller. All carcasses were put in plastic boxes and placed in a freezing chamber (time zero). The temperature was then measured every hour in the profound pectoral muscle of 15 samples of each weight. The carcasses weighting 1.200g took 2 to 4 hours to raise 4°C in the profound musculature while the carcasses weighting 2.100g raised 4°C in 5 to 8 hours of freezing.

The counting of mesophilic microorganisms did not show any significant reduction ($P > 0,05$) during the freezing period, for both carcasses with 1.200g and the ones with 2.100g.

The counting of coagulase positive Staphylococcus maintained, during the whole experiment, within the legislation limits, with all samples showing results below 2,0 log₁₀ UFC/g.

The study did not show any growth of Clostridium perfringens in all the samples collected.

Regarding total coliforms, the temperature reduction was significantly connected to the reduction of bacterial counting in carcasses with 2.100g. On the other hand, in terms of thermotolerant coliform and E. coli, it was possible to detect a reduction of bacterial counting during the freezing time in carcasses of 1.200g as well as 2.100g ($P \leq 0,05$).

The presence of Salmonella spp. and Listeria spp. in refrigeration temperatures were also observed. In carcasses with 1.200g, Salmonella spp. was isolated in one sample in the temperature of 4,6°C and also in carcasses with 2.100g, in one sample that was in the temperature of 7,2°C.

Listeria spp. was only detected in carcasses with 2.100g in one sample with the temperature 6,2°C and in four samples with temperature 4,6°C. A negative correlation between carcass temperature and microorganism presence was detected, that is, the detection of *Listeria spp.* occurred at refrigeration temperatures, when the temperature was reduced.

Key words: broiler carcasses, temperature reduction, indicator microorganisms, *Salmonella spp.*, *Listeria spp.*

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Temperaturas médias, mínimas e máximas aferidas em carcaças de frango com 1.200 g e 2.100 g durante o período de medição de temperaturas até 4°C.....	48
Tabela 2	Contagens mínimas, máximas e médias de microrganismos mesófilos aeróbios (\log_{10} UFC/g) de carcaças de frangos de 1.200 g (A1) e 2.100 g (A2) durante o declínio de temperatura da carcaça até 4°C.....	51
Tabela 3	Contagens mínimas, máximas e médias de coliformes totais (\log_{10} UFC/g) em carcaças de frangos de 1.200 g (A1) e 2.100 g (A2) durante o declínio de temperatura da carcaça até 4°C.....	56
Tabela 4	Contagens mínimas, máximas e médias de coliformes termotolerantes (\log_{10} UFC/g) em carcaças de frangos de 1.200 g (A1) e 2.100 g (A2) durante o declínio de temperatura da carcaça até 4°C.....	56
Tabela 5	Contagens mínimas, máximas e médias de <i>Escherichia coli</i> (\log UFC/g) em carcaças de frangos de 1.200 g (A1) e 2.100 g (A2) durante o declínio de temperatura da carcaça até 4°C.....	57

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	Macro fluxograma do processo identificando os Pontos Críticos de Controle (PCC) Biológicos (B) e Físicos (F).....	18
Figura 2	Micro fluxograma do processo: evisceração.....	19
Figura 3	Tempo necessário para carcaças de frango de 1.200 e 2.100 g, que apresentaram temperaturas superiores a 7°C ao sair no tanque de resfriamento, alcançarem a temperatura de 4°C.....	47
Figura 4	Comportamento de bactérias mesófilas aeróbias em carcaças de frango de 1.200 e 2.100 g, ao longo do tempo, até atingir 4 °C, medido no músculo peitoral profundo.....	50
Figura 5	Média logarítmica da enumeração de <i>Escherichia coli</i> em carcaças de frango de 1.200 e 2.100 g, ao longo do tempo, até atingir 4 °C.....	53
Figura 6	Média logarítmica da enumeração coliformes totais e termotolerantes em carcaças de frango de 1.200 e 2.100 g, ao longo do tempo, até atingir 4 °C..	53

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	14
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	16
2.1	Caracterização Dos Patógenos Avaliados.....	22
2.1.1	Coliformes.....	22
2.1.2	<i>Escherichia coli</i>	23
2.1.3	<i>Salmonella</i> spp.....	24
2.1.4	<i>Staphylococcus</i> Coagulase Positivo.....	28
2.1.5	<i>Clostridium perfringens</i>	30
2.1.6	<i>Listeria</i> spp.....	32
2.2	Sistema APPCC.....	34
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	40
3.1	Material.....	40
3.1.1	Caracterização Da Indústria.....	40
3.1.2	Amostras.....	40
3.1.3	Colheita, Acondicionamento E Transporte Das Amostras.....	40
3.2	Métodos.....	41
3.2.1	Aferição De Temperatura.....	41
3.2.2	Análises Microbiológicas.....	41
3.2.2.1	Preparo das diluições das amostras.....	41
3.2.2.2	Análises Microbiológicas.....	42
3.2.3	Análise Estatística.....	45
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	47
4.1	Temperatura De Saída Do Tanque De Resfriamento E Tempo Para Atingir 4°C.....	47
4.2	Comportamento bacteriano durante a queda de temperatura até 4°C.....	49
4.2.1	Contagem Padrão de Microrganismos Mesófilos Aeróbios.....	49
4.2.2	<i>Staphylococcus</i> coagulase positivo.....	51
4.2.3	Contagem de Coliformes Totais, Coliformes Termotolerantes e <i>Escherichia coli</i>	52
4.2.4	<i>Clostridium perfringens</i>	57

4.2.5	<i>Salmonella</i> spp.....	58
4.2.6	<i>Listeria</i> spp.....	59
5	CONCLUSÕES	61
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	62

1 INTRODUÇÃO

Atualmente, o Brasil é o terceiro maior produtor mundial e o primeiro exportador mundial de carne de aves, tendo uma receita cambial de US\$ 3,203 bilhões (ABEF, 2006). O país utiliza modernas técnicas em toda cadeia produtiva, entre as quais destaca-se o manejo durante a criação, nutrição e controle sanitário. Dispõe, também, de um moderno parque industrial para efetuar o abate e processamento dos produtos avícolas, sendo a maioria dos frigoríficos habilitados para exportar carne de aves e seus derivados para os mais exigentes mercados internacionais.

Entre os aspectos que envolvem a produção e transformação desses produtos, e que merecem cuidados especiais, estão aqueles relativos aos aspectos higiênico-sanitários. Muitos são os agentes microbianos que podem provocar contaminações em carne de aves, causando enfermidades em humanos.

Desde a década de 60, vem sendo utilizada uma ferramenta de qualidade, conceituada como HACCP – Hazard Analysis and Critical Control Points, ou, Análise de Perigo e Pontos Críticos de Controle (APPCC).

Conforme Stevenson (1995) o APPCC é um sistema de segurança alimentar que atua no controle de qualidade de um processo produtivo que age na prevenção de não-conformidades e nos pontos críticos de controle. Conforme o mesmo autor, o sistema APPCC tem por objetivo identificar perigos relacionados com a saúde dos consumidores e que podem ser gerenciados e monitorados nos diversos segmentos de produção através de métodos de controle estatístico de processos.

O sistema APPCC baseia-se em uma série de etapas inter-relacionadas, inerentes ao processamento industrial de alimentos, que inclui todas as operações, desde a produção primária até o consumo do alimento. Tem como base a identificação dos perigos potenciais para a segurança do alimento e as medidas preventivas para controlar as situações que criam os perigos.

Esta nova ferramenta de segurança alimentar passou a ser uma exigência para que os países conseguissem exportar os seus produtos alimentícios. Por isso, a partir de 1998 a indústria de alimentos brasileira, mais especificamente as indústrias de produtos de origem animal tem, no APPCC, seu principal programa de qualidade.

Para conseguirem o máximo de qualidade na produção de alimentos, as indústrias mudam progressivamente seu foco de atenção, que estava baseado na qualidade do produto e que significava somente qualidade no produto final. Atualmente a preocupação volta-se à qualidade no processo, que enfatiza o controle de cada ponto crítico na produção.

Os pontos críticos de controle (PCC) são definidos após análise de risco do fluxograma de cada produto. Um ponto crítico de controle existente em matadouros-frigoríficos é a temperatura das carcaças na saída do resfriamento, já que a partir daí, o produto poder ter três destinos: o consumidor final, estocagem ou processamento.

Sempre que há um desvio no limite estabelecido para o PCC, deve ser realizada uma ação corretiva visando a eliminação, prevenção ou minimização do perigo, para que a população não corra nenhum risco de contaminação por alimentos. Na indústria de aves, uma das possíveis ações corretivas quando as carcaças de frango saem do resfriamento com temperaturas acima dos limites definidos, é a permanência das mesmas em câmaras de resfriamento até atingirem a temperatura ideal.

A verificação de um PCC, bem como a definição de seus limites tem como base o conhecimento técnico-científico ou, quando o mesmo não existe disponível, a indústria deve certificar que a partir do limite estabelecido o alimento é seguro.

O limite para temperatura de carcaças ao sair do resfriamento é de 7°C, temperatura aceita como aquela que cessa a multiplicação da maioria das bactérias responsáveis por enfermidades transmitidas por alimentos – *Escherichia coli*, *Staphylococcus* coagulase positivo, *Salmonella* sp. e *Clostridium perfringens*. Exceção para *Listeria* sp. que continua com seu crescimento em temperaturas de resfriamento. Este limite é, inclusive, definido por lei – Portaria 210 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Brasil, 1998)

O presente trabalho tem como objetivo geral avaliar o tempo necessário para que carcaças de frango de diferentes pesos (1.200 g e 2.100g), que ao sair do tanque de resfriamento se encontravam com a temperatura acima de 7°C, alcançassem 4°C e traçar o perfil microbiológico destas, realizado através do estudo de presença e multiplicação dos indicadores *Escherichia coli*, *Staphylococcus* coagulase positivo, *Salmonella* sp., *Clostridium perfringens* e *Listeria* sp. a fim de auxiliar as medidas e os limites críticos de um plano APPCC para a indústria de carne de ave.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O Brasil é um dos maiores produtores mundiais e líder em exportações de carne de frango. O setor avícola brasileiro cresce, ocasionando avanços na economia, gerando empregos e movimentando bilhões de reais. A boa qualidade dos produtos, o esforço do setor para ampliar os mercados consumidores, a disponibilidade da produção de grãos, além do aumento, a cada ano, da produção brasileira demonstram que o país possui um potencial muito grande para a produção de carne de frango (Schorr, 2002; ABEF, 2006).

Por tais razões, a sanidade da avicultura brasileira merece especial atenção para que o seu padrão de qualidade não seja prejudicado. A intensificação da produção contribui para a produtividade e eficiência da indústria avícola, porém como consequência aumenta o risco de disseminação das doenças infecciosas e a necessidade de um maior controle da qualidade dos produtos (Gama, 2004).

A segurança e a qualidade dos alimentos são questões de grande preocupação em produtos avícolas, pois a carne de aves pode conter diversos patógenos responsáveis pela transmissão de doenças alimentares. As alterações nos padrões de qualidade sanitária dos alimentos significam barreiras não tarifárias que ocasionam prejuízos, aduzindo-se a isto os gastos no diagnóstico de doenças e o desperdício de proteína de origem animal. Atualmente, os esforços do setor avícola em garantir produtos de alta qualidade contribuem para a manutenção do produto nacional em nível aceitável nas negociações internacionais, inclusive por mercados consumidores extremamente exigentes (Delazari, 2003; Quevedo, 2005).

No Brasil, a cadeia produtiva de carne de frango é uma das mais importantes da agropecuária. Nesta cadeia, podem ser incluídos todos os itens do sistema de produção, processamento, mercado atacadista e varejista, ou seja, além das granjas de produção, a genética, a nutrição, a sanidade, os equipamentos, a assistência técnica, os laboratórios de diagnóstico, as cooperativas de crédito, as plantas de abate e processamento, os sistemas de transporte e comercialização, demonstrando que a avicultura de corte de porte empresarial é importante para a geração de renda, emprego e divisas no país (Figueiredo, 2008).

O abate é um conjunto seqüencial de operações no qual algumas etapas são importantíssimas quanto à contaminação microbiana que poderá afetar o produto final. As Figuras 1 e 2 foram preparadas para apresentar o fluxograma das operações de abate com seus

pontos críticos de controle, pontos estes que, se não forem controlados na planta processadora, podem causar um injúria ao consumidor final.

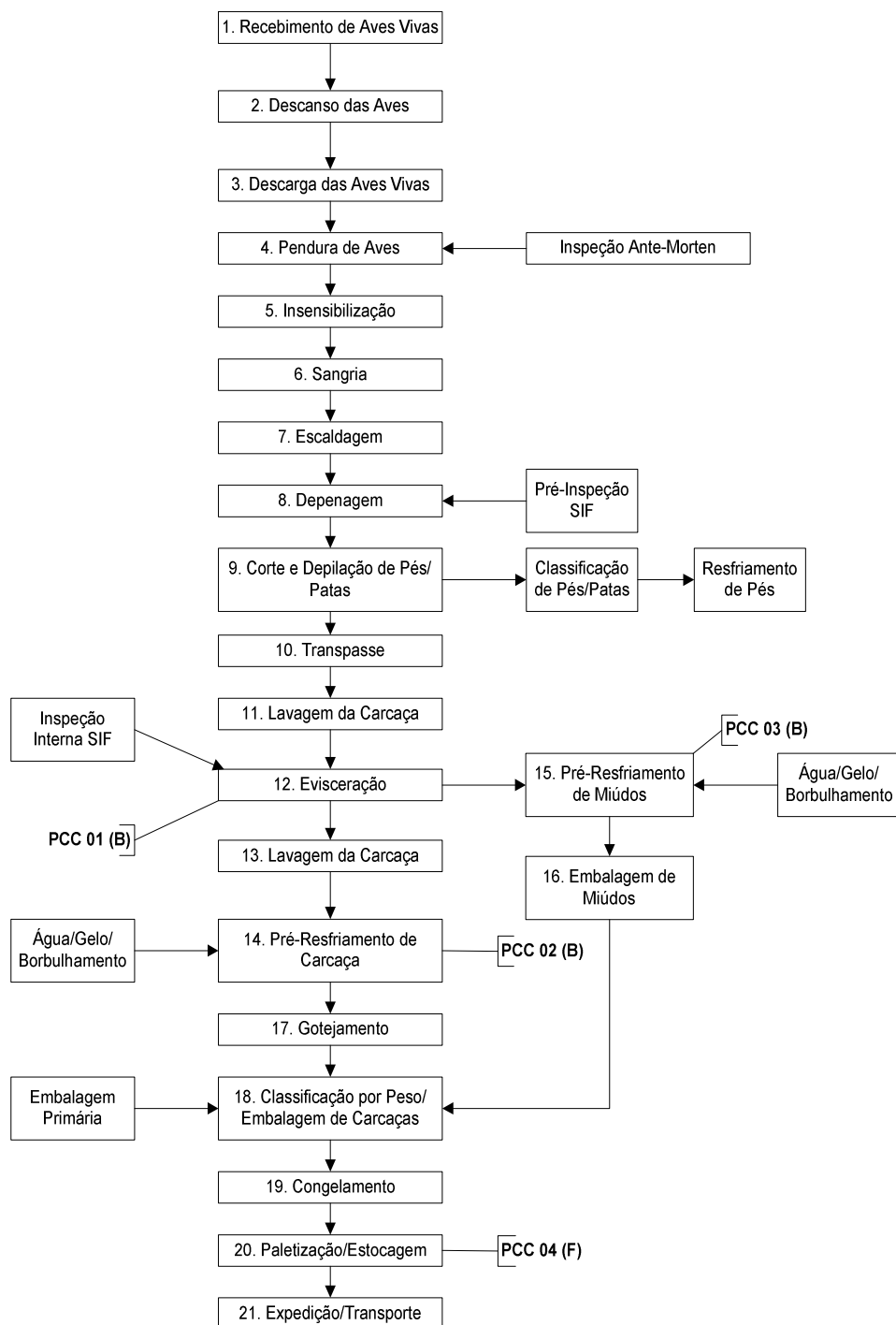


Figura 1. Macro fluxograma do processo identificando os Pontos Críticos de Controle (PCC) Biológicos (B) e Físicos (F).

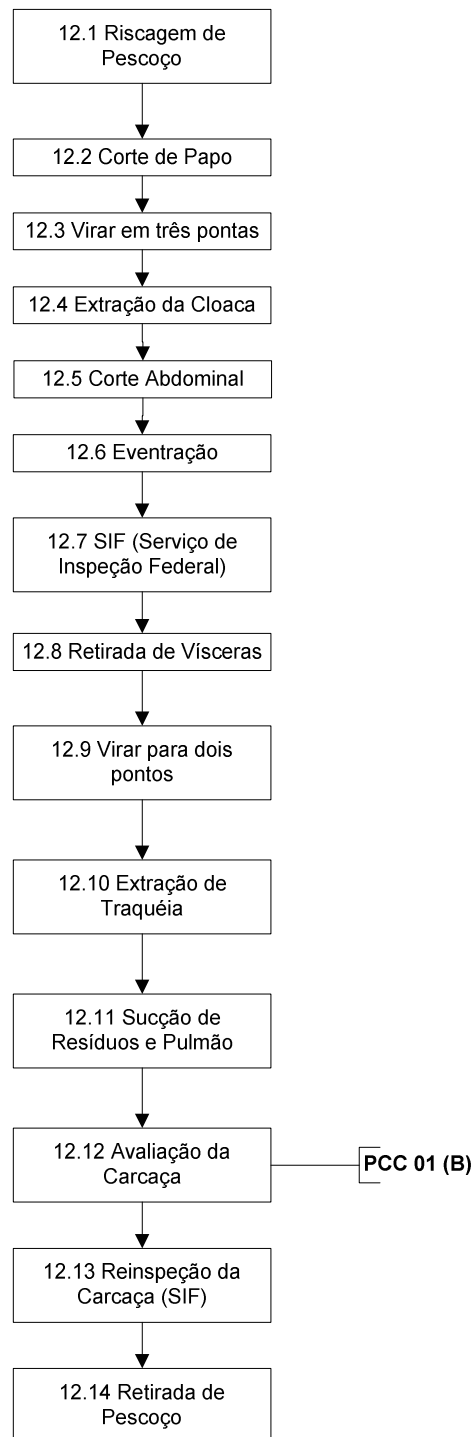


Figura 2. Micro fluxograma do processo: evisceração

As aves encaminhadas ao abate normalmente são a fonte inicial de contaminação, e o número de microrganismos presentes nas aves pode ser influenciado pelas condições higiênicas de abate e processamento. A carne de frango está frequentemente relacionada com a origem de

enfermidades veiculadas por alimentos. A *Salmonella* é o mais significativo patógeno veiculado (Hafez, 2005).

A temperatura é o fator externo que mais afeta o crescimento microbiano. Em geral, quanto mais elevada for a temperatura, maior será a velocidade do crescimento. Os microorganismos contribuem para a deterioração dos alimentos resfriados e congelados, mesmo sob temperatura em que não podem se desenvolver.

O tempo de conservação da carcaça de frango depende da temperatura e das condições microbiológicas da carne. A temperatura da ave viva é de cerca de 41°C. Assim pouco calor é perdido durante o processo de abate. No resfriamento, as carcaças são imersas em tanques contendo água em fluxo contra corrente, com objetivo de lavar e resfriar as carcaças. As operações de resfriamento envolvem o *pré chiller* e *chiller*. Conforme o Centro de Tecnologia da Carne (1995), as carcaças de frango devem ser resfriadas rapidamente para diminuir o crescimento de microorganismos deterioradores e prevenir a multiplicação dos microorganismos patogênicos. A Portaria 210 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Brasil, 1998) estabelece os critérios técnicos da inspeção tecnológica e higiênico-sanitária da carne de aves. Esta estabelece que a vazão de água dos tanques de resfriamento (*chillers*) deve ser monitorada, sendo que se calcula 1 a 2 litros/carcaça. A temperatura da água, outro fator importante, deve ser inferior a 16 °C na entrada e, inferior a 4 °C na saída a fim de que a temperatura das carcaças seja igual ou inferior a 7 °C no final do processo.

Existe uma inquietação do segmento avícola em relação à pressão dos consumidores quanto à qualidade de industrialização dos seus produtos quanto a presença de microrganismos de interesse em saúde pública. As indústrias de produtos cárneos, como frangos inteiros e cortes, desenvolvem medidas de prevenção na criação e dentro dos matadouros. Apesar da diminuição da ocorrência de problemas de toxinfecções alimentares e a despeito das diversas medidas tomadas, não se eliminou totalmente o risco para o consumidor (Duguid e North, 1991).

Os microorganismos necessitam de água, nutrientes e condições apropriadas de temperatura e pH para se multiplicarem. Durante a produção, processamento, embalagem, transporte e consumo, qualquer alimento pode ser exposto à contaminação por substância tóxica ou por microorganismos. Falhas de processamento podem permitir a sobrevivência de tais microorganismos ou toxinas. Um exemplo está na falha do controle de temperatura de resfriamento de carcaças de frango *in natura*.

Segundo Franco e Landgraf (1996), microrganismos indicadores são grupos ou espécies de microrganismos que, quando presentes em um alimento, podem fornecer informações sobre a ocorrência de contaminação de origem fecal, sobre a provável presença de patógenos, sobre a deterioração potencial do alimento, ou indicar condições sanitárias inadequadas durante o processamento, a produção ou o armazenamento.

Os microrganismos e/ou seus produtos metabólicos, em determinadas quantidades, são indicadores da qualidade do alimento e estão diretamente relacionados com o prazo de validade dos mesmos, o que nos permite fazer uma avaliação da qualidade e durabilidade dos alimentos cumprindo os seguintes critérios: devem estar presentes e ser detectados em todos os alimentos cuja qualidade ou falta da mesma deve-se avaliar; sua multiplicação e seu número devem ter uma relação direta negativa com a qualidade do alimento; devem ser detectados e contados facilmente e diferenciados dos outros microrganismos; seu crescimento não deve ser obstaculizado por outros componentes da microbiota do alimento; terem associação constante com o patógeno que deve indicar; não existirem em alimentos que estão isentos do patógeno, exceto em quantidade mínimas (Jay, 2005).

Os perigos microbiológicos podem surgir e isso comumente acontece por erros nas técnicas de manipulação e processamento. A detecção destes erros, suas correções imediatas e a prevenção futura são o maior objetivo de qualquer sistema de controle microbiológico (Giova, 1997).

A pesquisa de coliformes a 45 °C nos alimentos fornece, com maior segurança que a de coliformes totais, informações sobre as condições higiênicas do produto e melhor indicação eventual da presença de enteropatógenos. Em alimentos, a presença de um número considerável de coliformes indica um produto de baixa qualidade, equipamentos/utensílios sujos ou manipulação sem cuidados de higiene. Outros indicadores como os *Staphylococcus* spp., em número elevado no alimento, são uma indicação de perigo potencial à saúde pública devido à enterotoxina estafilocócica, bem como à sanificação questionável, principalmente quando o processo de produção envolve manipulação do alimento; e os *Clostridium* spp., que são formadores de esporos, podem permanecer nos alimentos quando a maioria dos microrganismos entéricos for destruída. Além disso, o *Clostridium perfringens* e o *C. botulinum* são importantes patógenos causadores de toxinfecções de origem alimentar (Franco e Landgraf, 1996; Oliveira *et al.*, 2003).

2.1 Caracterização Dos Patógenos Avaliados

2.1.1 Coliformes

Coliformes são um grupo de microrganismos Gram negativos, aeróbios e facultativamente anaeróbios, não formadores de esporos, com capacidade de fermentar a lactose com produção de ácido e gás a 32 – 37 °C em 24 - 48 horas, em meio sólido ou líquido. São amplamente distribuídos na natureza, encontrados em grande quantidade no trato intestinal de animais e na água (Smillie, 1953; Thomas, 1955; Ombui *et al.*, 1994 apud Santos, 2003). Pertencem a este grupo os gêneros *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter* e *Klebsiella*. Conforme Hajdenwurcel (1998), números elevados de coliformes totais indicam contaminação pós-processamento, limpezas e sanificações deficientes, tratamentos térmicos ineficientes ou multiplicação durante o processamento ou estocagem.

Dentro do grupo coliformes totais, o subgrupo coliformes termotolerantes é aquele composto das bactérias com forma de bastonetes, Gram negativas, não esporuladas, anaeróbias facultativas, capazes de fermentar a lactose com produção de ácido lático e gás, em 24 horas a 44,5 – 45,5 °C. Um teste para coliformes a 45 °C é essencialmente um teste para *Escherichia coli* típicas, embora algumas espécies de *Citrobacter* spp., *Klebsiella* spp. e *Enterobacter* spp. se adequem a esta definição (Silva *et al.*, 1997; Jay, 2005). Dentre as bactérias de *habitat* originalmente fecal, a *E. coli* é a mais conhecida e a mais facilmente diferenciada dos gêneros não entéricos. Embora também possa ser introduzida nos alimentos a partir de fontes não fecais é o melhor indicador de contaminação fecal conhecido até o momento, principalmente, pela sua relação com a presença de outros enteropatógenos, como a *Salmonella* spp. (Jay, 2005).

A presença desses microrganismos indica processamento inadequado da matéria-prima e/ou de recontaminação por material fecal (Board, 1988).

Segundo Florentino *et al.* (1997), a presença de coliformes fecais é considerada como indicadora de contaminação por fezes e da possibilidade da presença de bactérias patogênicas. Nas operações de abate de aves, o maior perigo é a contaminação das carcaças com microrganismos de origem fecal.

Charlebois *et al.* (1991) ressaltaram que o simples contato do tecido muscular subcutâneo com o material fecal pode acarretar uma contaminação por coliformes fecais da ordem de 10^6 bactérias/cm², sendo o suficiente para provocar uma contaminação cruzada em 10 carcaças sucessivas.

Lopes *et al.* (2007) encontraram médias logarítmicas de coliformes totais em 60 carcaças de frango que saíram do *chiller* entre 1,85 NMP/g a 3,69 NMP/g e para coliformes termotolerantes as médias logarítmicas variaram de 1,73 a 3,69 NMP/g.

2.1.2 *Escherichia coli*

Escherichia coli é membro da família *Enterobacteriaceae* que incluem os bastonetes curtos aeróbios e anaeróbios facultativos, Gram-negativos, catalase positiva e oxidase negativa sendo que esta espécie fermenta lactose a 45 °C. *E. coli* faz parte da flora normal do intestino de animais, de homens; portanto, a sua presença nos alimentos constitui um indicador de contaminação fecal (Leitão, 1988; Peresi *et al.*, 2001).

E. coli, como a maioria das enterobactérias, é um microrganismo mesófilo típico capaz de se desenvolver entre 7 e 46 °C, sendo 37 °C sua temperatura ótima para crescimento e produção de enterotoxinas, embora algumas cepas possam multiplicar-se a temperaturas de refrigeração (em torno de 4 °C). São destruídas a 60 °C em poucos segundos, mas algumas cepas resistem por vários meses a temperaturas de refrigeração e até mesmo de congelamento (Germano e Germano, 2001).

Esta bactéria produz enterotoxinas e/ ou outros fatores de virulência, incluindo fatores invasivos e de colonização que causam doenças diarréicas. Algumas cepas de *E. coli*, têm habilidade de causar distúrbio gastrointestinal, urinário e/ou ao sistema nervoso central. Cepas diarréicas de *E. coli* podem ser divididas em diferentes categorias patogênicas (Kornacki e Johnson, 2001).

Com base nos fatores de virulência, nas manifestações clínicas e na epidemiologia deste microrganismo, as linhagens de *E. coli* consideradas patogênicas são agrupadas em cinco classes: EPEC (*E. coli* enteropatogênica), EIEC (*E. coli* enteroinvasiva), ETEC (*E. coli* enterotoxigênica), EHEC (*E. coli* entero-hemorrágica) e EaggEC (*E. coli* enteroagregativa) (Varnan e Evans, 1996; Franco e Landgraf, 1996; Buchanan e Doyle, 1997; Trabulsi e Toledo, 1998).

A bactéria é encontrada na água, no solo, nas plantas e nos alimentos, principalmente nos produtos de origem animal e nos manipulados. A sobrevivência deste microrganismo em baixas temperaturas depende do substrato (ICMSF, 1998).

E. coli é habitante normal e constante do trato digestivo das aves. Esta bactéria pode contaminar as carcaças durante o abate e ser encontrada em amostras no ponto de venda, em

produtos embalados. Ela pode funcionar como indicadora do uso de drogas em aves, pela facilidade com que adquire resistência e pela sua permanência contínua nos animais (Zaganini, 2004).

Jiménez *et al.* (2003) avaliaram carcaças de frango que apresentaram contaminação fecal visível e carcaças sem contaminação fecal visível em matadouro de aves da Argentina. Os pontos de coleta foram: após a evisceração, após o chuveiro que antecede o resfriamento e após o resfriamento. Para coliformes fecais encontraram 3,89 log UFC/mL após a evisceração e 2,68 log UFC/mL após o resfriamento e para contagem de *E. coli* encontraram variações de 3,54 a 2,28 log UFC/ml após a evisceração e após o resfriamento, respectivamente. O resfriamento por imersão reduziu o nível de contaminação consideravelmente em todas as amostras, este processo foi mais eficiente em carcaças que apresentaram contaminação fecal visível.

Segundo Grau (1974), a pele geralmente é considerada a fonte de origem da maioria das contaminações microbiológicas das carcaças. Bell (1997) demonstrou que os locais das carcaças que tiveram contato direto com contaminação fecal contida na pele, apresentaram *E. coli* em quantidade superior a 10^2 UFC/cm².

2.1.3 *Salmonella* spp.

As salmonelas são bacilos Gram-negativos pertencentes à família *Enterobacteriaceae*, compreendendo aproximadamente 2400 sorotipos. Possuem forma de bastonetes curtos, sendo predominantemente móveis, através de flagelos peritríquios (exceção feita à *S. Pullorum* e à *S. Gallinarum* que são imóveis), intracelulares facultativas, anaeróbias facultativas, não esporulados, que fermentam glicose, mas não lactose e sacarose, geralmente produzindo ácido, gás e H₂S. São oxidase negativa, catalase e lisina descaboxilase positivas, sendo que não hidrolisam a uréia (FDA, 1998; D`Aoust, 2000; Holt *et al.*, 2000; Kaufmann *et al.*, 2001).

A temperatura ideal para multiplicação de *Salmonella* é de 35-37°C, sendo a mínima de 5°C e a máxima 47°C. Vários estudos indicam, no entanto, que valores máximo e mínimo dependem do sorotipo (Franco e Landgraf, 1996).

O pH ótimo para multiplicação das salmonelas fica próximo de 7,0, sendo que valores superiores a 9,0 e inferiores à 4,0 são considerados bacteriostáticos. Dependendo da natureza do ácido utilizado para a acidificação, o pH mínimo pode subir para 5,5. As salmonelas não toleram

concentrações de NaCl superiores a 9%. Sais de nitrito têm poder inibitório e seu efeito é acentuado pelo pH ácido (Varnan e Evans, 1996).

O principal reservatório natural das salmonelas é o trato intestinal do homem e animais, sendo de ocorrência mais freqüente em aves. As fontes ambientais deste microrganismo incluem a água, o solo, os insetos, as superfícies de cozinhas e indústrias, as fezes animais e as carnes, aves e frutos do mar crus. Além destes, outros alimentos associados à *Salmonella* são ovos, leite e seus derivados, coco, molhos, saladas, misturas para bolo, sobremesas recheadas com creme, gelatina em pó, manteiga de amendoim e chocolate (Leitão, 1988; FDA, 1998; Holt *et al.*, 2000.).

A classificação das espécies pertencentes ao gênero *Salmonella* tem variado nos últimos anos, embora microbiologistas e epidemiologistas considerem os quase 2600 sorovares de *Salmonella* spp. como se cada um fosse uma espécie. Le Minor e Popoff (1987) agruparam todas as salmonelas em apenas duas espécies, *S. enterica* e *S. bongori*, onde sorovares foram divididos em cinco subespécies ou grupos, muito dos quais classificados como *S. enterica*. Os maiores grupos correspondem às seguintes subespécies: grupo II (*S. enterica* subsp. *salamae*); grupo IIIa (*S. enterica* subsp. *arizonae*); grupo IIIb (*S. enterica* subsp. *diarizonae*); grupo IV (*S. enterica* subsp. *houtenae*); e grupo VI (*S. enterica* subsp. *indica*). Os organismos pertencentes ao grupo V foram elevados a espécie como *S. bongori* (Brenner, 1984; Trabulsi e Toledo, 1998; Jay, 2005).

É de grande importância epidemiológica, a divisão do gênero *Salmonella* em tipos sorológicos, os quais são distribuídos no esquema de identificação prática denominado de esquema de Kauffmann & White. Este esquema tem por base a composição antigênica das salmonelas com relação a similaridade no conteúdo de um ou mais antígenos, que se distinguem em: antígenos somáticos (O), antígenos capsulares (K) e antígenos flagelares (H). Outros meios bastante empregados são a fagotipagem, biotipagem, tipagem de bacteriocinas e genotipagem que, empregados em conjunto, contribuem de maneira significativa com os estudos epidemiológicos (Varnan e Evans, 1996; Trabulsi e Toledo, 1998).

Ainda com propósitos epidemiológicos, *Salmonella* spp. pode ser distribuída em três grupos: as que infectam somente o homem, que incluem a *S. Typhi*, *S. Paratyphi A*, *S. Paratyphi B* e *S. Paratyphi C* e são os agentes da febre tifóide e paratifóide, as mais graves de todas as doenças causadas por *Salmonella* spp.; os sorovares adaptados aos hospedeiros, que compreendem a *S. Gallinarum* (aves), a *S. Dublin* (bovinos), *S. Abortus-equi* (cavalos), *S. Abortus-ovis* (ovinos) e *S. Cholerasuis* (suínos), alguns dos quais são patógenos humanos e

costumam ser adquiridos por meio de alimentos; e os sorovares não adaptados, são os sorovares patogênicos aos homens e animais, incluindo muitos sorovares causadores de infecções alimentares (Varnan e Evans, 1996; Franco e Landgraf, 1996; Barreto e Vieira, 2002; Jay, 2005).

O mecanismo de patogenicidade se desenvolve pela penetração e passagem da *Salmonella* do lúmen intestinal para o interior do epitélio que reveste a parede intestinal, onde ocorre inflamação. O tempo de incubação é de 6-48 horas, seguido pelo início dos sintomas agudos, como náusea, vômito, cólica abdominal, diarreia, febre e dor de cabeça. Algumas conseqüências crônicas, como sintomas de artrite, podem persistir por 3 a 4 semanas após o início dos sintomas agudos (ICMSF, 1998).

A dose de infecção pode ser de poucas células (15-20), dependendo da idade, saúde do hospedeiro e do sorovar envolvido. Todas as pessoas são suscetíveis à infecção causada por *Salmonella*, porém os sintomas podem ser severos em crianças, idosos e imunodeprimidos (Kaufmann, *et al.*, 2001).

Surtos por salmonelas são freqüentes devido ao cozimento inadequado ou recontaminação das aves depois do cozimento. Aves cruas podem servir como fonte de salmonela para contaminação cruzada para aves cozidas e outros alimentos já prontos preparados na mesma cozinha (ICMSF, 2000).

Outro fato importante em relação à contaminação de alimentos, é que apesar da *Salmonella* spp. ser considerada um microrganismo de ampla disseminação, e ser capaz de difundir-se com facilidade pelos alimentos a partir de um foco de contaminação, seja contaminação cruzada, equipamentos ou utensílios não higienizados, manipulador ou animal doente ou portador assintomático, plantas de processamento em condições de higiene deficientes, entre outras causas, estes microrganismos são encontrados em pequenas quantidades nos alimentos, pois não são bons competidores além de serem fortemente inibidos pela microbiota láctica, bem como pelas demais bactérias deteriorantes ou patogênicas presente nos alimentos (Pinto, 2000).

A indústria avícola brasileira tem adotado vários critérios para o controle de salmonelas que incluem ações no pré-abate e no matadouro. As ações prévias ao abate objetivam o controle de salmonelas nos plantéis de frangos, pois tem como intuito a redução do número de frangos portadores de salmonela na entrada do matadouro (Silva, 2005). As aves portadoras assintomáticas de salmonelas são, freqüentemente, a fonte inicial de contaminação no abate, onde

os equipamentos e o manuseio inadequado das carcaças permitem a disseminação de microrganismos entre as carcaças (Leitão, 2001).

Normalmente, o percentual de frangos portadores de salmonelas que chegam aos matadouros é baixo. Porém, mesmo um pequeno número de aves infectadas pode contaminar toda a linha de abate devido às falhas tecnológicas durante o processamento que levam à contaminação cruzada. As carcaças contaminadas representam um risco para a saúde pública, pois o seu consumo ou de alimentos preparados com carne de frango contaminada pode transferir salmonelas para a cadeia alimentar humana (Nascimento *et al.*, 1996).

O resfriamento não inviabiliza a presença de salmonelas, enquanto que no congelamento pode ocorrer a redução ou a ausência de bactérias viáveis (Santos *et al.*, 2000).

Na Bélgica, de janeiro de 1997 até maio de 1998, de 772 amostras de carcaças de frango e produtos de aves à venda no mercado varejista local analisadas, 36,5% estavam contaminados com *Salmonella* spp. (Uyttendaele *et al.*, 1999).

Soultos *et al.* (2003) realizaram na Irlanda a pesquisa de *Salmonella* spp. em 205 pacotes contendo retalhos de frango nos supermercados. *Salmonella* spp. esteve presente em 3 amostras (1,5%), indicando que as medidas adotadas para reduzir a incidência de *Salmonella* em frangos tiveram sucesso. Nos anos 80, a *Salmonella* Enteritidis era o principal patógeno transmitido por alimentos no Reino Unido quando foram introduzidas medidas rígidas de controle.

Lillard (1990) relatou que uma pesquisa realizada pelo Serviço de Inspeção dos Estados Unidos (*Food Safety and Inspection Service*) mostrou que 5% das aves que chegavam ao abatedouro estavam contaminadas por *Salmonella* spp. e, após a etapa final de processamento, a contaminação aumentou para 36% nas carcaças de frango. O mesmo autor relata que carcaças que chegam ao ponto de evisceração podem carregar salmonelas na pele. Esta contaminação pode ser adquirida em diferentes fases da produção e processamento destas carnes, por exemplo, nos locais de criação, durante o transporte das aves ao matadouro ou durante os procedimentos de abate como escaldagem e depenagem dos frangos (Cason *et al.*, 1999).

Dickel (2004) analisou 40 carcaças coletadas antes e depois da passagem pelo *chiller* em um abatedouro de tecnologia semi-automatizada, com abate diário de 20 mil aves, e em um com tecnologia totalmente automatizada e abate diário de 380 mil aves no Rio Grande do Sul. O autor não encontrou *Salmonella* spp. no primeiro abatedouro, mas no segundo verificou uma elevada frequência de salmonela (70 % antes do *chiller* e 20% depois do *chiller*). Pode-se inferir que as

altas velocidades nas linhas de abate, equipamentos desregulados, desuniformidade no tamanho das aves, temperaturas inadequadas no *pré chiller* e *chiller* e cloração deficiente, possibilitaram a contaminação cruzada com enterobactérias.

2.1.4 *Staphylococcus* coagulase positivo

Os estafilococos existem no ar, na poeira, no esgoto, na água, no leite e nos alimentos ou equipamentos de processamento de alimentos, nas superfícies expostas ao ambiente, nos seres humanos e nos animais. Os humanos são os principais reservatórios para os estafilococos, incluindo *Staphylococcus aureus*, envolvido em doenças. Apesar de pertencer à flora normal das mucosas e pele, *S. aureus* é um dos mais importantes patógenos para humanos. Coloniza principalmente as mucosas nasais e oral (garganta), podendo estar presente em outros locais como períneo, pele e cabelo de 50% ou mais dos indivíduos saudáveis. Indivíduos portadores são os principais disseminadores desse microrganismo. Também é encontrado em ferimentos, furúnculos, espinhas infectadas e abscessos. A disseminação de *S. aureus* entre humanos e dos humanos para os alimentos pode ocorrer por contato direto ou indiretamente, através de fragmentos de pele ou por secreções do trato respiratório. Além da contaminação através dos manipuladores de alimentos, portadores de *S. aureus*, essa bactéria pode ser introduzida no alimento a partir de equipamentos e utensílios usados no processamento de alimentos, como moedores de carne, facas, tábuas de corte e serras (Forsythe, 2002).

Os animais também constituem uma outra importante fonte de *S. aureus*, pois são freqüentemente colonizados por esses microrganismos. Isso se torna um importante problema de saúde pública já que resulta na contaminação dos alimentos (Elementos, 2000).

Os agentes responsáveis pela intoxicação estafilocócica através de alimentos são uma série de toxinas que levam o nome de enterotoxinas por causa dos seus efeitos no trato intestinal. A intoxicação estafilocócica é provocada pela ingestão de alimentos contendo enterotoxina pré-formada, não havendo participação direta das células vegetativas. As toxinas são resistentes a enzimas proteolíticas como pepsina e tripsina, isto torna possível que elas passem através do trato digestivo para o sítio de ação. As enterotoxinas são relativamente estáveis ao calor, não sendo destruídas quando expostas a 100°C por 30 minutos (Cliver, 1990).

Estafilococos não crescem bem na presença de outros microrganismos, isto é, não são bons competidores. Em alimentos crus, não é esperado o crescimento apreciável de estafilococos

devido à presença de outros contaminantes. O que se torna um problema é a multiplicação em meios com elevada concentração de NaCl e a sobrevivência em baixa atividade de água, pois é o momento em que outros microrganismos, com os quais o *S. aureus* não consegue competir, passam a ser inibidos (Hirsh e Zee, 1999).

A faixa de pH para a produção de enterotoxina é muito próxima àquela que o estafilococo crescerá, pH 5,2-9,0. Os estafilococos não se desenvolvem muito bem nas faixas extremas de pH e, em consequência, é pequena a produção de enterotoxina nestas condições. A faixa ótima de pH é 6,5-7,5 (Hirsh e Zee, 1999).

Os alimentos normalmente relacionados às intoxicações causados por *S. aureus* são carnes e produtos de carne, frangos e produtos de ovos, saladas como as de atum, galinha, batata e macarrão, produtos de panificação como cremes, tortas de creme e bombas de chocolate, sanduíches e leite ou produtos lácteos. Os alimentos que requerem manipulação considerável durante a preparação e que são mantidos a temperatura ligeiramente elevada após a preparação são aqueles freqüentemente envolvidos em intoxicações alimentares causadas por estafilococos (Cliver, 1990).

Desmarchelier *et al.* (1999) demonstraram em abatedouros de bovinos que 6,5% das carcaças amostradas antes da evisceração estavam contaminadas com *Staphylococcus* coagulase-positivos e 40% depois da evisceração, sendo a região do peito e flanco as mais acometidas. Após 72 horas na câmara de resfriamento, a incidência de contaminação das carcaças aumentou para 83%. Os autores verificaram que a contaminação por aqueles microrganismos nas carcaças certamente se inicia durante a esfolagem e se prolonga por todo o abate e que o processo de evisceração foi o local de maior introdução de contaminantes. Concluíram também que as mãos dos funcionários juntamente com os utensílios e equipamentos utilizados pelos mesmos contribuíram consideravelmente para a contaminação das carcaças bovinas mesmo quando sob refrigeração.

Freitas *et al.* (2004) pesquisaram a presença de *S. aureus* em 30 carcaças de frango *in natura* e 31 carcaças de frango resfriadas adquiridos em mercados públicos e supermercados respectivamente e obtiveram uma média logarítmica de 4,1 UFC/g para carcaças *in natura* e 3,4 para carcaças de frango resfriadas. A mesma autora cita que Abd Ei-Monem e Saad (1999) verificaram contagens logarítmicas de *S. aureus* variando entre 2,26 e 4,13 UFC/cm² em 110 carcaças de frango analisadas em várias etapas do processamento em abatedouro no Egito.

2.1.5 *Clostridium perfringens*

Um dos agentes comumente envolvido em intoxicação alimentar é o *Clostridium perfringens*, que são bastonetes Gram positivos, esporulados, anaeróbios, porém podem multiplicar-se na presença de 5% de oxigênio, apresentam cápsula, não toleram baixa A_w , apresentam crescimento ótimo em pH 5,5 a 8,0 e temperatura 37 a 45°C e produzem gás como dióxido de carbono e hidrogênio. Podem produzir cinco tipos de toxinas (A, B,C,D e E), sendo a maioria dos casos descritos de sintomas de toxinfecção alimentar provocado por cepas tipo A (Tortora *et al.*, 2005).

Inicialmente, foi isolado de material de necropsia de casos de indivíduos que apresentavam bolhas de gás nos vasos sanguíneos, freqüente nos períodos de guerra. A detecção e isolamento de *C. perfringens* só foi possível a partir de 1959, quando grupos de pesquisa começaram a se dedicar ao estudo dos anaeróbios e de meios adequados para o isolamento da bactéria. Somente a partir desta data é que grandes surtos de etiologia desconhecida começaram a ter como agente etiológico *C. perfringens* (Serrano *apud* Shinohara, 2003).

O *C. perfringens* é um importante agente patogênico causador de intoxicação alimentar, enterites em humanos e enterotoxemia em animais domésticos. Este microrganismo produz em torno de 15 toxinas e divide-se em cinco tipos toxigênicos, denominados A, B, C, D e E, que se diferenciam com base na produção de toxinas. Cepas pertencentes aos *C. perfringens* tipo A e algumas cepas dos tipos C e D causam intoxicação de origem alimentar. As cepas de *C. perfringens* tipo A estão relacionadas com enfermidades transmitidas por alimentos e têm sido associadas à casos de diarreia infantil, inclusive síndrome da morte súbita infantil e diarreia em recém nascido, embora esta relação não esteja bem definida. Além de possuir relação com inúmeras doenças extraintestinais no homem e animais, inclusive a gangrena gasosa (mionecrose clostridial), hemólise intravascular e septicemia, o *C. perfringens* é também comumente isolado de abscessos abdominais, peritonites, celulites, abscessos pré-retais, colangites, lesões cutâneas e subcutâneas entre outras infecções tissulares (Varnan e Evans, 1996; Trabulsi e Toledo, 1998; Stagnitta *et al.*, 2002).

Outras espécies de *C. perfringens* são agentes causadores de enfermidades de seres humanos e animais. O *C. perfringens* tipo C é o agente da enterite necrótica (“pigbel”), que é uma doença de origem alimentar que atinge ao homem, enquanto os tipos B e C causam enterite necrótica e enterotoxemia em animais de criação (Varnan e Evans, 1996).

O *C. perfringens* tem como *habitat* normal o solo e o trato intestinal do homem e de outros animais de sangue quente, existindo variações na distribuição de acordo com o tipo de microrganismo. O tipo A faz parte habitualmente da microbiota intestinal de homens e animais, tendo sido freqüentemente isolado das fezes de ambos; os tipos B, C, D e E parecem ser parasitas obrigatórios, são isolados dos animais, mas ocasionalmente podem ser isolados do homem. Esta associação com o trato intestinal faz com que este microrganismo esteja freqüentemente presente nos cursos d'água. Como resultado da poluição ambiental, pode estar presente em sedimentos marinhos e sua presença em água potável pode ser usada como indicação de poluição fecal remota (Siqueira, 1995; Varnan e Evans, 1996).

Em portadores humanos, o *C. perfringens* tipo A é um membro comum da flora intestinal, onde cerca de 80 a 100% da população sadia excreta este microrganismo. O microrganismo também pode fazer parte da flora normal oral e vaginal de algumas pessoas, podendo estar presente na urina. Desta forma, os manipuladores de alimentos podem ser carreadores da infecção (Varnan e Evans, 1996).

Os alimentos geralmente envolvidos são os derivados cárneos ou de aves cozidos contendo um grande número de células viáveis. As linhagens do tipo A são as mais encontradas como causadoras de intoxicação alimentar, assim como as clássicas linhagens da gangrena gasosa. Ao contrário destas, as linhagens enterotoxigênicas são geralmente termorresistentes. Algumas linhagens do tipo C produzem enterotoxinas e podem causar intoxicação alimentar, sendo a enfermidade mais grave denominada enterite necrótica (Labbe, 2001; Jay, 2005).

De acordo com Frazier e Westhoff (1993), em relação aos aspectos epidemiológicos, as seguintes condições são necessárias para a presença de um surto de intoxicação por *C. perfringens*: (1) que o alimento esteja contaminado com este microrganismo; (2) que trate-se de um alimento cozido e que nele haja condições necessárias para a multiplicação bacteriana; (3) que tal alimento não tenha sido refrigerado convenientemente, permitindo a partir de uma temperatura ideal de crescimento para o microrganismo em questão, que este multiplique-se abundantemente; (4) que o alimento seja consumido sem um novo aquecimento, de forma que um grande número de células bacterianas sejam ingeridas e (5) que estas células esporulem e elaborem enterotoxinas. Sendo importante ressaltar que tais condições são um retrato real das situações descritas nas ocorrências de surtos de intoxicação alimentar causada por *C. perfringens*.

2.1.6 *Listeria* spp.

Outro microrganismo de importância em saúde pública e amplamente distribuído na natureza é a *Listeria monocytogenes*. Este microrganismo tem sido identificado como um sério problema relacionado aos alimentos (Tauxe, 1997).

É um bacilo gram-positivo, não formador de esporos, anaeróbio facultativo que tem crescimento à temperatura entre $-0,4\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $50\text{ }^{\circ}\text{C}$. É catalase positiva e oxidase negativa, e expressa uma β -hemolisina (esta hemolisina atua sinergicamente com a β -hemolisina do *Staphylococcus aureus* em eritrócitos de ovelhas – efeito conhecido como Fator CAMP). Apresenta flagelos peritríquios cuja motilidade característica ocorre apenas quando o crescimento se dá em temperaturas entre $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Farber e Peterkin, 1991).

Segundo Weis e Sellinger (1975) *apud* Farber e Peterkin (1991), o microrganismo está difundido no meio ambiente e é normalmente encontrado em vegetais, óleos, solo e águas de superfície. Também tem sido encontrado em silagem, esgoto, resíduos de abatedouros, pisos, drenos, leite, fezes de animais e do homem. A *L. monocytogenes* tem sido isolada de bovinos, ovinos, caprinos, frangos, porém não se limita a animais de pecuária sendo isolada de muitas espécies de mamíferos e pássaros, além de peixes, crustáceos e insetos.

Seu pH de crescimento está na faixa de 4,5 a 7,0 e pouco ou nenhum crescimento ocorre em pH 4,0 ou menor. As melhores faixas de inibição do crescimento por redução de pH estão entre 5,0 e 5,7 a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$, e de 4,3 a 5,2 a $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Parish e Higgins, 1989 *apud* Farber e Peterkin, 1991).

A listeriose está associada primariamente com alimentos prontos para consumo, despertando grande preocupação dos órgãos de saúde pública dos países desenvolvidos. Os alimentos frescos e processados prontos para consumo normalmente são mantidos à temperatura de refrigeração, o que não impede e, pior, pode favorecer a multiplicação de *L. monocytogenes* (Almeida *et al.*, 1999). Schofield (1999) *apud* D'Angelis *et al.* (2004) sugere que a mudança nos hábitos alimentares da população, como o consumo de alimentos importados, novos alimentos e ingestão de alimentos pouco cozidos, assim como o surgimento de novas tecnologias de processamento de alimentos (embalagens, refrigeração) seriam as principais causas do aparecimento de novos patógenos alimentares de características psicrotóxicas, como a *L. monocytogenes*.

Segundo Almeida *et al.* (1999), no Brasil é possível encontrar diversas publicações sobre a ocorrência de *Listeria* no ambiente e em alimentos, tais como: vegetais, esgoto, solo, carne, leite e derivados, incluindo leite cru e pasteurizado, queijos e camarão.

Blackman & Frank (1996) verificaram que a *L. monocytogenes* tem capacidade para se estabelecer e formar biofilmes nos diferentes tipos de superfícies que compõem as plantas de processamento.

Além da contaminação de alimentos processados industrialmente, a *L. monocytogenes* é capaz de formar biofilmes em diferentes tipos de materiais, como o aço inoxidável, vidro, polipropileno e borracha. Esta bactéria também foi encontrada nas proximidades e no próprio ambiente marinho como consequência de fontes naturais, como aves marinhas, efluentes públicos, comerciais e agrícolas (Almeida *et al.*, 1999). Unnerstad *et al.* (1996) *apud* Branco *et al.* (2003) afirmam que a *L. monocytogenes* pode sobreviver em indústrias de alimentos por cerca de sete anos e que os biofilmes formados por ela funcionam como reservas de nutrientes e ainda agem como protetores do microrganismo contra os agentes sanitizantes. Silva *et al.* (2004) comentam que esta bactéria apresenta alta capacidade de colonização de superfícies e formação de biofilmes, aumentando a possibilidade de contaminações cruzadas e ambientais nas plantas de processamento.

É interessante ressaltar que o isolamento de outras espécies de *Listeria* diferentes da *L. monocytogenes* (única patogênica para humanos), demonstra que o ambiente está propício para o desenvolvimento desta, já que todas as espécies de *Listeria* apresentam padrão de crescimento e comportamento similar em relação ao seu cultivo. Assim, a presença de *Listeria* spp. pode indicar uma maior probabilidade de ocorrência de *L. monocytogenes* no local, havendo grande risco para a segurança alimentar (Silva *et al.*, 2004).

Sua principal característica está na capacidade de multiplicar-se relativamente rápido em temperatura de refrigeração (Eley, 1992). Segundo Silva (2001), *Listeria monocytogenes* está presente em 64% dos alimentos refrigerados.

De acordo com Norrung e Buncic (2007) dados relatando a ocorrência de *L. monocytogenes* são escassos porque o monitoramento deste patógeno é focado primeiramente em alimentos prontos para comer, incluindo carnes. Geralmente, o ambiente de processamento é a fonte de contaminação destes produtos e eles devem conter um alto número de *L. monocytogenes*.

Na Bélgica, de janeiro de 1997 à maio de 1998, 772 amostras de carcaças de frango e produtos de aves à venda no mercado varejista local foram analisadas para indicar a presença de contaminação de *Listeria monocytogenes* e o percentual de contaminação foi de 38,2% (Uyttendaele *et al.*, 1999).

Soultos *et al.* (2003) realizaram, na Irlanda, a pesquisa de *Listeria* spp. em 80 pacotes contendo retalhos de frango nos supermercados. *Listeria* spp. esteve presente em 38 amostras (48%), sendo 14 (18%) identificadas como *L. monocytogenes*. Foi considerado que os retalhos de frango comercializados na Irlanda podem ser uma fonte potencial de *L. monocytogenes* e devem ser tomadas medidas de segurança alimentar apropriadas para evitar a consequente infecção de humanos.

O patógeno causa doença em pessoas com a imunidade diminuída, como pacientes de AIDS, leucemia ou outras doenças neoplásicas, transplantados, portadores de insuficiência cardíaca, diabetes, mulheres grávidas, neonatos, bebês e idosos, entre outros (Almeida *et al.*, 1999; Tortora *et al.*, 2005). Indivíduos adultos saudáveis não desenvolvem a doença, mas existem relatos de que possam apresentar sintomas gastrintestinais, ao contrário dos quadros encontrados nas pessoas suscetíveis, que incluem sintomas similares aos da gripe, como febre e mal-estar geral, podendo evoluir para meningoencefalite, septicemia, aborto e meningite (Silva *et al.*, 1997; Branco *et al.*, 2003). A listeriose em seres humanos pode ser diagnosticada através do isolamento do agente a partir do sangue, do fluido cefalorraquidiano, placenta e feto. A dose infectiva ainda é desconhecida, podendo variar de acordo com a cepa bacteriana e a suscetibilidade da vítima (Forsythe, 2002).

2.2 Sistema APPCC

Desde a década de 80, as empresas processadoras de alimentos têm redirecionado seus modelos de gestão da qualidade de modo a torná-los mais preventivos e menos corretivos. A constatação da incapacidade de garantir a inocuidade dos alimentos pelos métodos tradicionais de Inspeção e Controle de Qualidade bem como a necessidade cada vez maior de se racionalizar os recursos através da otimização dos processos, reduzindo-se as perdas e re-trabalhos, tem demonstrado a necessidade de se alterar o modelo de trabalho das empresas. A crescente

globalização dos mercados está exigindo das companhias a adoção de sistemas de controle reconhecidos internacionalmente (Alfredo, 2006).

Juran (1997) afirma que a qualidade, no início do século XX, já era uma preocupação das pequenas fábricas. Segundo o autor, o proprietário da época, além de ser o artesão mestre, determinava como o trabalho deveria ser feito, fazia o planejamento da qualidade, treinava os operários e verificava os resultados. Atualmente, esta preocupação é muito maior pelas próprias condições do mercado. Assim, produzir bens e serviços de alta qualidade é crucial não apenas para um crescimento econômico contínuo, mas também para a segurança nacional, o bem estar e o padrão de vida de cada família (Hunt, 1994).

Esta concepção aplica-se a todos os setores industriais, evidenciando-se ainda mais na área de alimentação, onde pela própria natureza dos objetivos propostos, preocupa-se com a qualidade de vida do indivíduo. A não qualidade tem efeitos irreparáveis, onde o erro pode gerar danos à saúde e sofrimento para as pessoas (Colombo, 1999).

A maioria dos programas de controle de qualidade usados na produção de alimentos até os anos 80 empregava uma combinação de métodos tradicionais de inspeção por amostragem, investigação e testes do produto final. Por caracterizarem um controle passivo, não permitiam a adoção imediata de medidas corretivas durante o processo (Abdallah, 1997; Almeida, 2001).

Atualmente, esta abordagem tradicional de controle de qualidade tem sido substituída pela garantia de qualidade. Dentro deste novo enfoque há um controle dinâmico em pontos considerados críticos, identificando perigos (biológicos, físicos ou químicos), podendo-se intervir no resultado final a ser obtido numa linha de produção, bem como atuar preventivamente, buscando-se assegurar a inocuidade e qualidade dos alimentos (Mendes, 1998; Almeida, 2001).

A Organização Mundial de Saúde estima que as enfermidades causadas por alimentos contaminados constituem um dos problemas sanitários mais difundidos no mundo de hoje. Portanto, oferecer um alimento seguro, do ponto de vista de saúde pública, no qual constituintes ou contaminantes que causem perigo à saúde estão ausentes ou abaixo do limite de risco, passa a ser a meta da maioria das empresas da área de alimentos (Destro, 1996 *apud* Franco e Landgraf, 1996).

O sistema Análise de Perigos e Pontes Críticas de Controle (APPCC) relaciona-se completamente à produção de alimentos seguros e é uma abordagem preventiva e sistemática

direcionada a perigos biológicos, químicos e físicos, através de antecipação e prevenção, em vez de inspeção e testes em produtos finais (FAO, 1998).

O termo - alimento seguro - é um conceito que está crescendo na conjuntura global, não somente pela sua importância para a saúde pública, mas também pelo seu importante papel no comércio internacional (Barendsz, 1998).

Este sistema foi utilizado pela primeira vez, nos anos 60, pela Pillsburg Company, junto com a NASA (*National Aeronautics and Space Administration*) e o U.S. Army Laboratories, com o objetivo de criar um programa de qualidade que, utilizando algumas técnicas, garantisse o fornecimento de alimentos seguros para os astronautas da NASA (Bennet e Steed, 1999). A legislação em segurança do alimento é geralmente entendida como um conjunto de procedimentos, diretrizes e regulamentos elaborados pelas autoridades, direcionados para a proteção da saúde pública. O APPCC foi uma ferramenta desenvolvida originalmente pelo setor privado para garantir a segurança do produto e atualmente está sendo introduzida na legislação de vários países (Jouve, 1998).

A 'não qualidade' tem efeitos irreparáveis, onde o erro pode gerar danos à saúde e sofrimento para as pessoas (Colombo, 1999). Portanto, a implementação do sistema APPCC reduz a necessidade de inspeção e teste de produto final, aumenta a confiança do consumidor e resulta num produto comercialmente mais viável. Facilita o cumprimento de exigências legais e permite o uso mais eficiente de recursos, acarretando redução nos custos da indústria de alimentos e uma resposta mais imediata para as questões de segurança de alimentos. Ocorre o aumento da responsabilidade e o grau de controle da indústria de alimentos e um sistema APPCC implementado de modo adequado, estimula maior envolvimento dos manipuladores de alimentos e garante a segurança do alimento, além de motivar os funcionários (FAO, 1998).

O sistema APPCC pode ser aplicado em todas as etapas de processamento e desenvolvimento de alimentos, desde os primeiros estágios da produção até o consumo. Os princípios APPCC são aplicáveis a toda e qualquer atividade relacionada a alimentos. Um plano APPCC, entretanto, é específico para o produto e o processo, o que explica sua restrição a algumas etapas, como transformação e/ou processos industriais. Todas as pessoas que participam do setor produtivo de alimentos devem estar envolvidas na implementação do sistema e dos princípios APPCC e, se necessária, na elaboração do plano APPCC (Guia, 2000).

O comércio internacional de alimentos é regulamentado pela Organização Mundial do Comércio (OMC), que garante que todas as relações econômicas envolvendo alimentos sejam controladas por normas, diretrizes e recomendações da Comissão do *Codex Alimentarius*, da Organização Internacional de Epizootias (OIE) e da Convenção Internacional de Proteção Fitossanitária (Santiago, 1998).

Os padrões, diretrizes e outras recomendações do *Codex* tornaram-se a base identificada para a produção de alimentos seguros e proteção do consumidor no comércio internacional de alimentos. Assim, as Diretrizes para a Aplicação do Sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) do *Codex Alimentarius* tornou-se o ponto de referência para as exigências internacionais de segurança de alimentos (FAO, 1998).

No Sistema APPCC, perigo significa condições ou contaminações que podem causar doença ou danos à saúde do consumidor. Esta definição não se aplica a outras condições indesejáveis ou a presença de outros tipos de contaminantes como insetos, cabelo, decomposição, fraude econômica, violação das exigências de qualidade.

Entre os diversos fatores que contribuem para a ocorrência de um perigo podemos citar a dose infectante. Esta refere-se ao número de microrganismos necessários para causar a doença mas, para a maioria das bactérias, a questão sobre a dose infectante mínima não pode ser respondida facilmente. Em primeiro lugar, deve-se ter em mente que entre os consumidores existem grupo especiais de risco – crianças, idosos, mulheres grávidas e pessoas imunodeprimidas - que podem adoecer quando expostas a um número menor de microrganismos patogênicos do que o necessário para causar doença em um adulto sadio. Além disso, há vários fatores fisiológicos que influenciam a dose infectante mínima, como grau de acidez gástrica, conteúdo gástrico, microbiota intestinal e, não menos importante, o estado imunológico da pessoa. Este estado, por sua vez, é influenciado pela imunidade de infecções prévias, pelo estado nutricional e pelo estresse (Untermann, 1999).

Os perigos devem ser de tal natureza que sua eliminação ou redução a níveis aceitáveis seja essencial para a produção de alimentos seguros.

Entre os três tipos de perigos (biológico, químico ou físico), o perigo microbiológico é o que representa maior risco a segurança dos alimentos (IDEXX, 1998).

As bactérias patogênicas causam a maioria dos surtos e casos de doenças transmitidas por alimentos. É normal encontrar um certo nível desses microrganismos nos alimentos crus. O

armazenamento ou a manipulação inadequados desses alimentos crus contribui para um número significativamente maior desses microrganismos antes do cozimento, aumentando a risco de se haver um alimento perigoso, caso haja falha no processo ou se esse alimento for consumido cru. Mesmo os alimentos cozidos fornecem um meio farto para crescimento rápido de microrganismos se não forem manipulados e armazenados adequadamente (FAO, 1998).

O risco é uma função da probabilidade de um efeito adverso e da magnitude deste efeito, resultante de um perigo em um alimento (FAO, 1998). O risco é a probabilidade de um perigo ocorrer em um processo e afetar a segurança do alimento, o que supõe uma análise estatística. Ainda, segundo a FAO (1998), a avaliação do risco potencial de um perigo deve considerar a frequência com que ele ocorre nos consumidores e a gravidade dos sintomas.

A estimativa do risco é, em geral, qualitativa, obtida pela combinação de experiências, dados epidemiológicos locais ou regionais e informação bibliográfica específica. Os dados epidemiológicos são uma ferramenta importante para avaliação de riscos por demonstrarem os produtos potencialmente perigosos à saúde do consumidor. Por exemplo, a relação entre os casos de botulismo e o consumo de vegetais e pescado em conserva é alto; o mesmo se dá para o consumo de produtos a base de ovo e infecções humanas por *Salmonella* Enteritidis (Guia, 2000).

Ponto Crítico de Controle é o local ou situação onde estão presentes os perigos com risco à saúde e que devem ser controlados. Também significa ponto, etapa ou procedimento no qual uma medida de controle ou preventiva pode ser aplicada e um perigo pode ser eliminado, prevenido ou reduzido a níveis aceitáveis (Destro, 1996 *apud* Franco e Landgraf, 1996).

Para cada ponto crítico de controle especificado deve-se estabelecer os limites críticos, que são definidos como critérios que separam o que é aceitável do que não é. Um limite crítico representa os limites usados para julgar se uma operação está fabricando produtos seguros. Os limites críticos devem atender as exigências estabelecidas por regulamentos oficiais e/ou padrões da empresa e/ou dados científicos. Em alguns casos, as autoridades oficiais de controle de alimentos fornecem informações para o estabelecimento dos limites críticos, de acordo com perigos conhecidos em alimentos e resultados de análise de risco (por exemplo, às exigências de tempo/temperatura para processos térmicos como pasteurização, cozimento, número máximo e tamanho de contaminantes físicos, resíduos químicos) (Katsuyama, 1995).

As Diretrizes para a Aplicação do Sistema APPCC definem desvio como "falha em atender um limite crítico". Devem existir procedimentos para identificar, isolar e avaliar os produtos quando se excede os limites críticos.

Como a principal razão para implementar o APPCC é evitar problemas, deve-se tomar as ações corretivas para evitar o desvio de um PCC ou que um produto perigoso seja consumido. A ação corretiva deve ser tomada logo após qualquer desvio, para garantir a segurança do produto e evitar nova ocorrência do desvio (SENAI/DN, 2000).

Segundo Hajdenwurcel (1998), existem três processos envolvidos na verificação:

1. processo técnico ou científico: verifica se os limites críticos nos PCCs são satisfatórios, ou seja, são adequados ao controle dos perigos possíveis de ocorrer.
2. processo de comprovação: assegura que o sistema APPCC está funcionando efetivamente.
3. processo de revalidação: revalidações periódicas documentadas, independentes de auditorias ou outros procedimentos de verificação devem ser realizados para assegurar a relação custo x benefício e eficácia do sistema APPCC.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Material

3.1.1 Caracterização da Indústria

A pesquisa foi realizada em estabelecimento caracterizado como matadouro de aves e coelhos (Brasil, 1962) no Estado do Rio Grande do Sul. Possui instalações para o abate, manipulação, preparo e conservação de carne de aves e é inspecionada pelo Serviço de Inspeção Federal. Seu volume de abate é de 355.000 frangos por dia e seus produtos destinados aos mercados nacional e internacional.

3.1.2 Amostras para Aferição de Temperatura

Foram amostradas um total de 100 carcaças de frango, classificadas em dois grupos, de acordo com seu peso, 50 carcaças com peso de 1.200 g (grupo A1) e 50 carcaças de 2.100 g (grupo A2), colhidas aleatoriamente na esteira na saída do tanque de resfriamento e que apresentaram temperatura superior a 7°C medida no músculo peitoral profundo (supracoracóideo) com termômetro digital tipo espeto.

3.1.3 Colheita, Acondicionamento e Transporte das Amostras para Análise

Após a seleção por temperatura (tempo zero), todas as carcaças coletadas foram armazenadas em caixas plásticas vazadas e encaminhadas para a câmara de resfriamento. Estas caixas foram dispostas sobre *pallets*, empilhadas, sendo a pilha superior composta pelas caixas que se encontravam por cima – mais próximas dos circuladores de ar, a pilha do meio composta pelas caixas que se encontrava entre as caixas da pilha superior e da pilha inferior e a pilha inferior é composta pelas caixas que se encontravam sobre os *pallets*, rente ao chão. A temperatura da câmara era controlada por termoregistrador.

Em intervalos de 60 minutos, cinco unidades amostrais de cada grupo foram encaminhados sob refrigeração ao laboratório de microbiologia para análise microbiológica.

3.2 Métodos

3.2.1 Aferição de Temperatura

A medida da temperatura das carcaças foi realizada na intimidade do músculo peitoral profundo para amostras do grupo A1 e grupo A2, na saída do tanque de resfriamento e a cada 60 minutos, até que as mesmas alcançassem 4°C. A aferição de temperatura foi realizada em 15 unidades amostrais de cada um dos dois tipos/pesos de frango, colhidas aleatoriamente a cada tempo, sendo a aferição realizada em 05 amostras da pilha superior, 05 amostras da pilha do meio e 05 amostras da pilha inferior. Avaliou-se: tempo necessário para que as carcaças de frango alcançassem a temperatura de 4°C.

3.2.2 Análises Microbiológicas

No momento da coleta das amostras e a cada hora, foram coletadas 5 unidades amostrais, de cada grupo, para análise microbiológica. As amostras foram encaminhadas ao laboratório de microbiologia em embalagens plásticas estéreis, lacradas, identificadas e armazenadas em caixas de isopor com gelo.

As análises microbiológicas foram realizadas pelo laboratório da empresa seguindo metodologia usada como rotina e a avaliação da qualidade microbiológica foi realizada seguindo os padrões microbiológicos da Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 12 da ANVISA de 02 de janeiro de 2001.

3.2.2.1 Preparo das diluições das amostras

Foram cortadas frações de cada uma das carcaças e pesados 25 g de cada, estas porções foram colocadas em sacos plásticos estéreis para homogeneizador de pistões tipo *stomacher*. Adicionou-se 225 mL de água peptonada tamponada e homogeneizou-se a amostra, constituindo-se esta na diluição inicial (10^{-1}).

3.2.2.2 Análises Microbiológicas

A. Contagem padrão de microrganismos mesófilos aeróbios (APHA, 2001)

Uma alíquota de 1 mL da diluição inicial (10^{-1}) até a diluição 10^{-5} foi depositada em placas de Petri esterilizadas, na qual o ágar padrão de contagem (PCA), fundido e resfriado a temperatura em torno de 45°C foi vertido sobre a alíquota (15-20 mL) e homogeneizado com movimentos suaves. As diluições foram realizadas em duplicata.

Após homogeneização e solidificação do ágar em temperatura ambiente, as placas foram incubadas, invertidas, a 37°C por 48 horas para a contagem de mesófilos.

As contagens foram realizadas em contador de colônias, segundo a técnica padrão, preferencialmente em placas que apresentavam de 25 a 250 colônias. O número de colônias contadas na placa multiplicado pelo fator de diluição correspondente forneceu o número de microrganismos mesófilos por mL da solução de inicial.

B. Determinação de unidades formadoras de colônia (UFC) de coliformes totais (APHA, 2001)

Teste presuntivo

A partir das diluições 10^{-1} a 10^{-3} foram inoculados com 1 mL, respectivamente, três placas de ágar cristal violeta vermelho neutro bile (VRBA). Após a inoculação, foi adicionada uma sobrecamada, as placas permaneceram incubadas a 35°C por 24 a 48 horas e, após, foi realizada a contagem de colônias características.

Teste confirmativo

As colônias suspeitas no teste presuntivo, foram transferidas, com alça de níquel-cromo de 3 mm de diâmetro para tubos correspondentes contendo caldo lactose-verde brilhante-bile a 2% e tubo de Durham invertido. A incubação se deu a 35°C por 24 a 48 horas, sendo considerados com resultado positivo os tubos que revelaram a presença de crescimento bacteriano com produção de gás.

De acordo com o número de tubos positivos e emprego da tabela de Hoskins determinou-se o NMP de coliformes totais em UFC/g da amostra.

C. Determinação do UFC de coliformes termotolerantes e *Escherichia coli* (APHA, 2001)

A partir das colônias suspeitas no teste confirmativo para coliformes totais, foram inoculados, com uma alçada, tubos correspondentes contendo caldo *Escherichia coli* (EC) e tubo de Durham invertido. A incubação foi realizada em banho-maria a $45 \pm 0,2^\circ\text{C}$ por 24 a 48 horas e considerados positivos os tubos com crescimento bacteriano e gás. O resultado foi obtido comparando-se os números de tubos com resultado positivo com os dados da tabela de Hoskins.

Escherichia coli

A partir dos tubos com caldo EC que apresentaram resultados positivos para coliformes fecais, foram semeadas placas de ágar eosina-azul de metileno (EMB) permanecendo incubadas a 35°C por 24 horas. Após a incubação, foi observado o crescimento de colônias características (de cor negra, chata, seca e com brilho metálico).

D. Contagem de *Staphylococcus* coagulase positivo (APHA, 2001)

A partir das diluições 10^{-1} a 10^{-3} foram retirados 0,2 mL e depositados em placas com ágar Baird-Parker, em duplicata e, a seguir, empregando-se um bastão de vidro esterilizado, em forma de “L”, procedeu-se a distribuição do inóculo por toda a superfície do meio. Em seguida, as placas foram incubadas a 35°C por 24 a 48 horas.

Após a incubação foram contadas, preferencialmente, nas placas contendo 20 a 200 colônias, separadamente, as colônias negras, brilhantes, com zona de precipitação ao redor e circundadas ou não por halo claro e as que se apresentaram somente negras e brilhantes.

As cepas características do gênero *Staphylococcus* foram submetidas à prova da coagulase livre. Para a execução desta prova, as cepas foram semeadas em tubos contendo caldo de infusão de cérebro e coração (BHI) e incubadas a 35°C por 24 horas. Em seqüência acrescentaram-se, em tubos de ensaio (10 x 70 mm), 0,5 ml desta cultura e 0,5 mL de plasma citrato de coelho diluído a 1:5 em solução de cloreto de sódio a 0,85% esterilizada. Após agitação, os tubos foram incubados em banho-maria a 37°C e as leituras realizadas após 1, 2, 3, 4 e 24 horas. O resultado positivo seria indicado quando ocorresse coagulação do plasma.

O resultado final da contagem de *Staphylococcus* coagulase positivos UFC/g seria obtido com base no resultado desta prova, proporcionalmente ao número de colônias contadas na placa, multiplicando por cinco e pelo fator de diluição.

E. Contagem de *Clostridium perfringens* (Brasil, 2003)

A partir de diluição inicial, foi semeado uma alíquota de 1 mL em placas estéreis e adicionado cerca de 15 mL de ágar triptose sulfito cicloserina base (TSC) em temperatura de 45°C. Após a solidificação, foi adicionada mais uma camada de ágar de 10 mL e incubado em jarra de anaerobiose a 36°C por 24 horas. Após a incubação, foram contadas as placas que continham de 20 a 200 colônias negras típicas.

Paralelamente, algumas colônias negras foram repicadas para caldo de carne cozida e foi transferido 1 mL desta solução para um tubo contendo meio leite com ferro, tampados de maneira a manter o meio em anaerobiose. Os tubos foram incubados em banho-maria a 46°C por 6h, onde seria verificada a formação de um coágulo bem definido com grande formação de gás (“fermentação tempestuosa”) em amostras positivas para *Clostridium perfringens*.

F. Isolamento de bactérias do gênero *Salmonella* (Brasil, 2003)

Pré-enriquecimento

Para tal, os sacos plásticos estéreis contendo a diluição inicial (25g da amostra e 225 mL de água peptonada) foram incubados a 37°C por 18 horas, após o que foi realizado o enriquecimento seletivo.

Enriquecimento seletivo

Nesta fase, alíquotas de 0,1 mL e 1mL da cultura de pré-enriquecimento foram inoculadas, respectivamente, em 10 mL de caldo selenito cistina e em 10 mL de caldo Rappaport-Vassiliadis. Em seguida, os caldos seletivos foram incubados a 41°C por 24 horas.

Plaqueamento seletivo

Com auxílio de alça de níquel-cromo, cada cultura em caldo de enriquecimento foi semeada, pela técnica de esgotamento, em ágar verde-brilhante, adicionado de uma solução de novobiocina e ágar XLT4, seguido de incubação a 37°C por 24 horas.

Identificação presuntiva

Das culturas obtidas no plaqueamento seletivo foram tomadas, com auxílio de uma agulha de níquel-cromo, de cada uma das placas semeadas, 3 a 5 colônias com características sugestivas

do gênero *Salmonella* e inoculadas em tubos contendo Agar ferro três açúcares (TSI) e meio para a realização da prova da descarboxilação da lisina (LIA). As colônias que apresentaram resultados bioquímicos compatíveis com *Salmonella* spp foram consideradas positivas.

G. Pesquisa de *Listeria* sp. (Brasil, 2003)

Para a pesquisa de *Listeria* sp. foi utilizada a técnica que consiste em um enriquecimento primário, em que 10 mL da amostra diluída foram incubadas em 90 mL de caldo de enriquecimento para *Listeria* (LEB), suplementado com cicloheximida (50 mg/litro), acriflavina (15 mg/litro) e ácido nalidíxico (40 mg/litro). Decorridas 48 horas de incubação a 30°C, 0,1 mL do caldo foi transferido para tubos com 10 mL de Caldo Fraser suplementado com acriflavina (25 mg/litro) e ácido nalidíxico (20 mg/litro) e incubado a 30° C por 48 horas.

Simultaneamente, com auxílio de alça de níquel-cromo, a cultura em caldo de enriquecimento primário foi semeada, pela técnica de esgotamento, em ágar Oxford modificado (MOX), suplementado de acordo com as instruções do fabricante e incubado a 30° C por 48 horas. A cultura foi também semeada em ágar cloreto de lítio feniletanol moxalactam (LPM), suplementado com esculina (1,0g/litro) e citrato férrico amoniacal (0,5g/litro), para melhor visualização das colônias. Decorrido o período de incubação do caldo Fraser, este também foi semeado nos meios seletivos MOX e LPM, conforme descrito acima. Colônias negras, regulares e com formação de halo escuro foram consideradas positivas para *Listeria* sp.

3.2.3 Análise Estatística

Todos os resultados de contagem bacteriana foram transformados em logaritmos para a análise estatística, sendo comparados os valores de contagem bacteriana conforme ocorria a queda da temperatura das carcaças. As diferentes categorias de produto (frango de 1.200g e 2.100g) não foram comparadas entre si.

Os resultados foram analisados por ANOVA, teste de Tukey, coeficiente de correlação de Pearson, o teste de regressão e teste-T de Student utilizando o programa estatístico SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*, ou Pacote Estatístico para as Ciências Sociais), versão 12.0. Adotou-se nível de significância ou margem de erro nas decisões dos testes estatísticos de 5%.

A correlação de Pearson foi categorizada conforme classificação de Cáceres (1995), sendo considerado o índice alto ($r > 0,7$), médio ($0,5 < r < 0,7$) e baixo ($r < 0,5$).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Temperatura de Saída do Tanque de Resfriamento e Tempo para Atingir 4°C

O tempo necessário para que as carcaças alcançassem a temperatura prevista na Portaria 210 (Brasil, 1998) está apresentado na Figura 3.

As carcaças com peso de 1.200 g (grupo A1), levaram de 2 a 4 horas em câmara de resfriamento para alcançarem a temperatura de 4°C na musculatura profunda. Já as carcaças com peso médio de 2.100 g (grupo A2), chegaram a temperatura de 4°C entre 5 e 8 horas de resfriamento como pode ser observado na Figura 3.

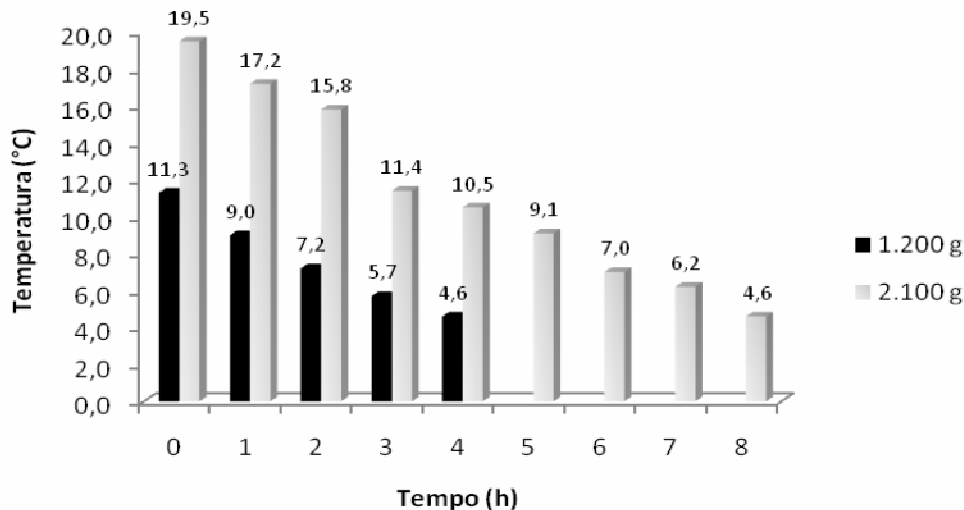


Figura 3: Tempo necessário para carcaças de frango de 1.200 e 2.100 g, que apresentaram temperaturas superiores a 7°C ao sair no tanque de resfriamento, alcançarem a temperatura de 4°C.

Tal diferença de tempo, entre os dois grupos estudados, para as carcaças alcançarem a temperatura desejada na intimidade da musculatura – 02 a 04 horas para amostras de 1.200 g e 05 a 08 horas para amostras de 2.100g - pode ser explicada pelos pesos diferentes dos dois grupos amostrados (A1: 1.200g e A2: 2.100g). Outra hipótese é o fato de as carcaças do grupo A2 começarem o estudo com uma temperatura bastante superior àquela do grupo A1, porém quando as carcaças do grupo A2 alcançaram a temperatura de grupo A1 ao início do experimento - em 04 horas de refrigeração a média de temperatura do grupo A2 foi de 13,8°C - as mesmas levaram o

mesmo tempo (04 horas) para alcançar a temperatura de 4°C. Observando-se, inclusive, o mesmo comportamento de decréscimo das temperaturas nos dois grupos de carcaças.

Na Tabela 1 estão apresentados os valores mínimos e máximos de temperatura medidos nas carcaças a cada tempo de medição. As carcaças que estavam na pilha superior foram as que alcançaram a temperatura de 4°C mais rapidamente, enquanto que as carcaças que se encontravam na pilha do meio e na pilha inferior foram as que apresentaram as temperaturas mais altas e por conseqüência levaram um tempo maior para alcançar 7°C e não alcançaram a temperatura de 4°C. Também podemos observar que, conforme foram sendo colocadas as carcaças quentes no interior da câmara de resfriamento, esta não conseguiu manter a temperatura inicial (-6°C), chegando a alcançar 5°C. A temperatura em elevação da câmara de resfriamento pode propiciar a multiplicação de microrganismos que estariam inativos caso a temperatura se mantivesse constante, representando, por isso, risco a saúde ou possibilidade de deterioração.

De acordo com ICMSF (1997) *apud* Borges e Freitas (2002), a circulação de ar é necessária para que haja distribuição uniforme de ar dentro da câmara. Este ponto é muito importante, pois se a circulação for prejudicada, a queda de temperatura no interior do alimento pode ser lenta, aumentando o risco de multiplicação de patógenos. É possível que, além da introdução de produto a alta temperatura ter prejudicado a manutenção da temperatura da câmara, a disposição das caixas possa ter dificultado a circulação correta do ar frio, provocando a despadronização de temperaturas nas carcaças analisadas.

Tabela 1. Temperaturas médias, mínimas e máximas aferidas em carcaças de frango com 1.200 g e 2.100 g durante o período de medição de temperaturas até 4°C

Tempo	Grupo A1 (°C)			Grupo A2 (°C)			Câmara de resfriamento (°C)
	Mínimo	Máximo	Média	Mínimo	Máximo	Média	
0	9,8	13,1	11,3	17,8	22,3	19,5	-6
1	4,4	11,8	9,0	13,3	21,0	17,2	NR
2	1,8	10,5	7,2	9,8	19,2	15,8	4
3	0,1	8,9	5,7	6,0	16,6	11,4	-3
4	4,2	6,7	4,6	5,4	13,8	10,5	NR
5				2,9	12,5	9,1	4
6				3,1	10,2	7,0	5
7				3,6	9,5	6,2	-4
8				2,4	6,1	4,6	1

NR: Não Realizado

Ao término das operações de abate, a superfície quente (30 a 40°C) e úmida da carcaça é ideal para a multiplicação de patógenos e deteriorantes. Esta superfície deve ser resfriada (7°C ou menos), reduzindo a multiplicação microbiana (ICMSF, 1997). Nesta etapa não ocorre

eliminação de microrganismos, havendo apenas a inibição (mesófilos e termófilos) ou diminuição (psicrotróficos) do seu crescimento (Hayes e Jay *apud* Borges e Freitas, 2002).

Consta também na Portaria 210 (Brasil, 1998) que a temperatura das carcaças no final do processo deve ser igual ou inferior a 7°C, tolerando-se a temperatura de 10°C para as carcaças destinadas ao congelamento imediato.

No presente estudo verificou-se que houve falha no controle de temperatura final das carcaças, mas, principalmente, pode ter ocorrido falha técnica-humana no controle de temperatura da água e adição de gelo nos resfriadores (*pré chiller* e *chiller*). Se a água estivesse na temperatura correta – 16°C no *pré chiller* e 4°C no *chiller* – as carcaças não teriam saído com temperaturas tão elevadas dos tanques de resfriamento. O resfriamento em *chiller* é multifatorial, e dependente, não apenas da temperatura da água como também do tempo de imersão das carcaças a dada temperatura. Também foi observado que o resfriamento de carcaças em câmaras de resfriamento, em situações de rotina de matadouros, é uma medida corretiva eficiente para que o produto alcance a temperatura estipulada. Não pode ser descartada, entretanto, a necessidade de definir as medidas corretivas adequadas que evitem que tal desvio volte a acontecer.

4.2 Comportamento bacteriano durante a queda de temperatura até 4°C

4.2.1 Microrganismos Mesófilos Aeróbios

O presente estudo demonstrou que a quantidade máxima encontrada, em carcaças de frango, foi de 5,78 log₁₀ UFC/g. Mesmo não havendo uma legislação específica e obrigatória para a determinação da população de microrganismos aeróbios mesófilos, nota-se neste estudo que a qualidade da carne encontra-se satisfatória segundo a bibliografia pesquisada, pois todas as amostras analisadas apresentaram populações de microrganismos mesófilos inferiores ao necessário para causar o início da deterioração conforme Roça e Serrano (1995) e Gill (1998).

Na figura 4 está apresentado o comportamento dos microrganismos mesófilos aeróbios.

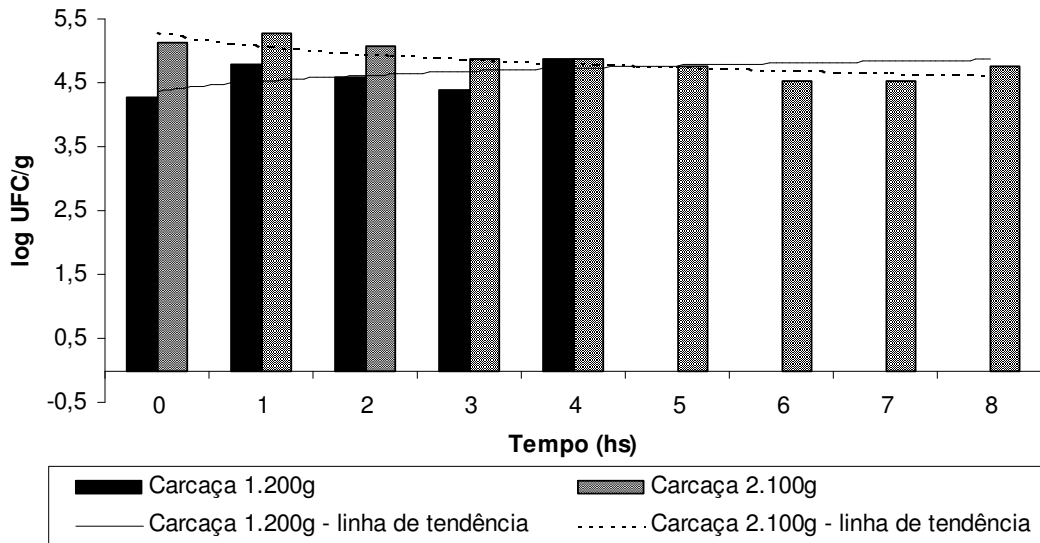


Figura 4: Comportamento de bactérias mesófilas aeróbias em carcaças de frango de 1.200 e 2.100 g, ao longo do tempo, até atingir 4 °C, medido no músculo peitoral profundo.

De acordo com Gill (1998), níveis de contaminação de 2 a 5 \log_{10} UFC/g em carnes podem indicar condições higiênicas adequadas de abate e contagens acima de 5 podem indicar condições inadequadas. Roça e Serrano (1995), avaliando carcaças bovinas, encontraram como necessário para causar o início da deterioração do produto uma contagem de microrganismos mesófilos de 6 \log_{10} UFC/g.

Em pesquisa realizada por Carvalho *et al.* (2005), em amostras de produtos avícolas, foi encontrada, para este grupo de microrganismos, uma variação de $<1,0 \times 10^1$ UFC/g a $2,1 \times 10^6$ UFC/g. Trabalhos semelhantes realizados por Carloni *et al.* (1998), ao estudarem as condições higiênico-sanitárias de 100 amostras de aves prontas para o consumo na Argentina, encontraram o valor mínimo de $1,0 \times 10^3$ UFC/g e o máximo de $1,0 \times 10^6$ UFC/g para bactérias aeróbias mesófilas.

Lopes *et al.* (2007) verificaram 6,62 UFC/g como média logarítmica mais elevada para carcaças de frango após o *chiller*.

No estudo de regressão foi observado que as constantes peso da carcaça de frango e temperatura foram significativas ($P \leq 0,05$) para a contagem global de mesófilos ($R=0,185$). Para a constante temperatura, o coeficiente de regressão foi de 0,032 e para a constante tamanho do frango o coeficiente de regressão foi de - 0,224, o que significa que carcaças com peso de 2.100 g apresentaram contagem superior quando comparadas as carcaças de 1.200 g. Neste estudo específico, a diferença foi de de 0,224 \log_{10} UFC/g.

Na Tabela 2 estão apresentadas as contagens de bactérias mesófilas ao longo do tempo, para os dois pesos de carcaça. A contagem de bactérias mesófilas aeróbias não apresentou declínio significativo ($P > 0,05$) ao longo do tempo de resfriamento, em carcaças de 1.200 g. Várias hipóteses podem ser formuladas para justificar este achado, entre elas o tempo curto para atingir a temperatura desejada seria insuficiente para provocar um declínio na população bacteriana. Para carcaças com peso de 2.100 g a diminuição da contagem de bactérias aeróbias mesófilas também não foi significativa ao longo do tempo ($P > 0,05$) conforme apresentado na Tabela 2.

Tabela 2. Contagens mínimas, máximas e médias de microrganismos mesófilos aeróbios (\log_{10} UFC/g) de carcaças de frangos de 1.200 g (A1) e 2.100 g (A2) durante o declínio de temperatura da carcaça até 4°C.

Tempo	Grupo A1			Grupo A2		
	Mínimo	Máximo	Média	Mínimo	Máximo	Média
0	3,59	4,56	4,10 ^a	4,79	5,18	5,09 ^a
1	4,15	5,11	4,58 ^a	4,18	5,78	4,96 ^a
2	3,90	5,00	4,34 ^a	4,76	5,18	5,03 ^a
3	3,66	4,86	4,22 ^a	4,38	5,18	4,78 ^a
4	4,46	5,18	4,78 ^a	4,41	5,00	4,81 ^a
5	-	-	-	4,30	5,18	4,64 ^a
6	-	-	-	3,80	4,87	4,38 ^a
7	-	-	-	4,15	4,74	4,46 ^a
8	-	-	-	4,04	5,18	4,59 ^a

a: valores indicados pela mesma letra na mesma coluna não diferem significativamente entre si

No presente estudo, em carcaças de 2.100g, o índice de correlação para microrganismos mesófilos aeróbios foi mediano ($r= 0,539$). Já para carcaças de 1.200g, a correlação de temperatura com contagem de microrganismos foi muito fraca e não significativa.

4.2.2 *Staphylococcus* Coagulase Positivo

No presente estudo observou-se que a contagem de *Staphylococcus* coagulase positivo manteve-se, durante todo o experimento, para os dois tipos de amostras (2.100 e 1.200 g) dentro do limite estipulado pela RDC12 (Brasil, 2001). Para a presença de estafilococos coagulase positivo, não foi encontrado nenhum resultado acima do limite (10^3 UFC/g), tanto para as carcaças com peso de 2.100 g quanto para as carcaças de 1.200 g, sendo que todos os frangos analisados apresentaram resultados menores que 2,0 \log_{10} UFC/g.

De acordo com Hirsh e Lee (1999), em alimentos crus não é esperado o crescimento apreciável de estafilococos devido à presença de outros contaminantes. Como o estafilococo não é um bom competidor, ele não consegue se multiplicar devido à presença de outras bactérias, fato que corrobora o presente estudo.

Desmarchelier *et al.* (1999) demonstraram, em abatedouros de bovinos, que 6,5% das carcaças amostradas antes da evisceração estavam contaminadas com *Staphylococcus* coagulase-positivos e 40% depois da evisceração, sendo a região do peito e flanco as mais acometidas. Após 72 horas na câmara de resfriamento, a incidência de contaminação das carcaças aumentou para 83%. Os autores verificaram que a contaminação por aqueles microrganismos nas carcaças certamente se inicia durante a esola e se prolonga por todo o abate e que o processo de evisceração foi o local de maior introdução de contaminantes. Concluíram também que as mãos dos funcionários juntamente com os utensílios e equipamentos utilizados pelos mesmos contribuíram consideravelmente para a contaminação das carcaças bovinas, mesmo quando sob refrigeração. No presente estudo estes fatores não foram avaliados, mas pode-se inferir que tanto as mãos do pessoal envolvido com o abate como os utensílios e equipamentos utilizados foram devidamente higienizados de acordo com os preceitos impostos pelos procedimentos padrões de higiene operacional do estabelecimento.

Freitas *et al.* (2004) pesquisaram a presença de *S. aureus* em 30 carcaças de frango *in natura* e 31 carcaças de frango resfriadas adquiridos em mercados públicos e supermercados, respectivamente e obtiveram uma média logarítmica de 4,1 UFC/g para carcaças *in natura* e 3,4 para carcaças de frango resfriadas. A mesma autora cita que Abd Ei-Monem e Saad (1999) verificaram contagens logarítmicas de *S. aureus* variando entre 2,26 e 4,13 UFC/cm² em 110 carcaças de frango analisadas em várias etapas do processamento, em abatedouro no Egito.

4.2.3 Contagem de Coliformes Totais, Coliformes Termotolerantes e *Escherichia coli*

Os resultados de contagem de *E. coli*, coliformes totais e coliformes termotolerantes, até as carcaças atingirem 4°C estão apresentados nas Figuras 5 e 6, respectivamente.

Apenas duas amostras de frango com peso de carcaça de 2.100 g apresentaram valores acima do preconizado pela RDC 12 (3×10^2 UFC/g) para *Escherichia coli* quando a temperatura da carcaça foi de 19,5°C, sendo os valores encontrados de $1,2 \times 10^3$ UFC/g e $2,1 \times 10^3$ UFC/g. Uma

amostra encontrou-se acima dos padrões em frango com peso de 1.200 g quando a temperatura de carcaças foi de 11,3°C, sendo o resultado encontrado de $6,3 \times 10^3$ UFC/g.

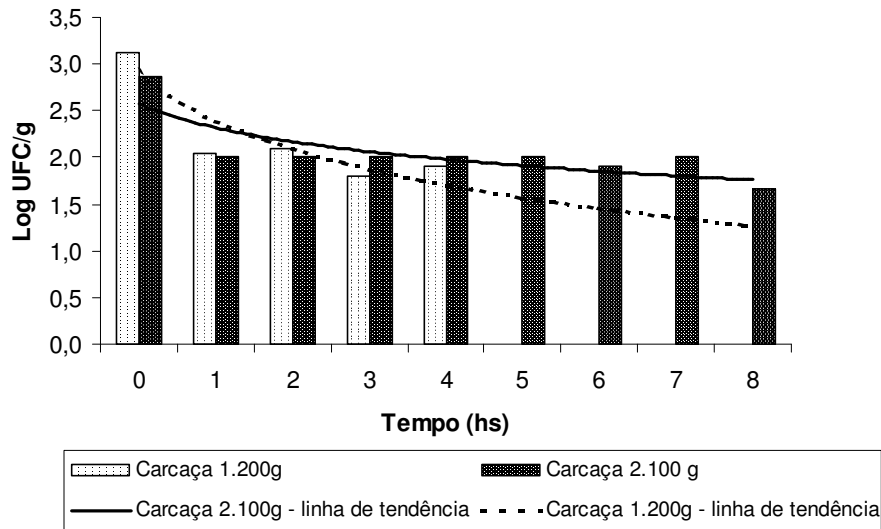


Figura 5. Média logarítmica da enumeração de *Escherichia coli* em carcaças de frango de 1.200 e 2.100 g, ao longo do tempo, até atingir 4 °C.

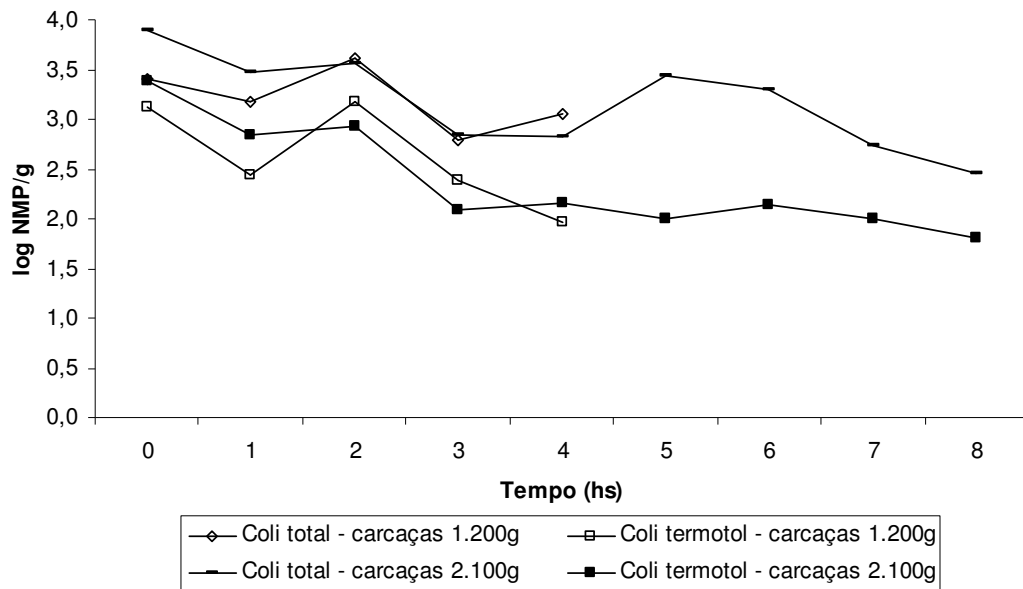


Figura 6. Média logarítmica da enumeração coliformes totais e termotolerantes em carcaças de frango de 1.200 e 2.100 g, ao longo do tempo, até atingir 4 °C.

Na Figura 6 nota-se que, tanto para coliformes totais quanto para coliformes termotolerantes, os microrganismos estudados diminuíram e/ou cessaram seu crescimento,

entrando em fase de latência (fase lag) quando submetidos ao stress – queda de temperatura –, porém voltaram a apresentar novo pico de crescimento após 02 horas na câmara de resfriamento.

Além disso, houve uma nova queda na multiplicação destes microrganismos nas horas subseqüentes, 03 e 04, voltando a ocorrer um pico de multiplicação para coliformes totais quando as carcaças encontravam-se em 05 horas de resfriamento e para coliformes termotolerantes quando as carcaças se encontravam em 06 horas de resfriamento. Tal achado pode ter ocorrido devido a estas serem horas em que a temperatura da câmara não conseguiu manter a temperatura inicial por entrada de outros produtos, como cortes de frango e, conseqüentemente, maior abertura da porta e dissipação do frio. Com a diminuição da velocidade de resfriamento, pode ter ocorrido uma maior adaptação bacteriana, com conseqüentes aumentos em sua quantidade.

Charlebois *et al.* (1991) ressaltaram que o simples contato do tecido muscular subcutâneo com o material fecal pode acarretar uma contaminação por coliformes fecais da ordem de 10^6 bactérias/cm², sendo o suficiente para provocar uma contaminação cruzada em 10 carcaças sucessivas. O presente estudo demonstrou que pode ter havido falha nos serviços dos manipuladores e as técnicas de abate poderiam não estar plenamente de acordo com as boas práticas de fabricação, concordando com o autor acima, o qual preconiza que o fator mais importante de controle é a manipulação higiênica das carcaças. Porém, também foi possível observar que a contagem para *Escherichia coli* somente excedeu os padrões quando a temperatura foi superior a 7°C, podendo-se concluir que é de extrema importância o controle de temperatura para que não ocorra a multiplicação de microrganismos.

Segundo Florentino *et al.* (1997), a presença de coliformes fecais é considerada como indicadora de contaminação por fezes e da possibilidade da presença de bactérias patogênicas. O mesmo ocorre nas operações de abate de aves, onde o maior perigo é a contaminação das carcaças com microrganismos de origem fecal.

Lopes *et al.* (2007) encontraram médias logarítmicas de coliformes totais em 60 carcaças de frango que saíram do *chiller* entre 1,85 log₁₀ NMP/g e 3,69 log₁₀ NMP/g e para coliformes termotolerantes as médias logarítmicas variaram de 1,73 a 3,69 log₁₀ NMP/g. Valores semelhantes foram encontrados no presente estudo, observando-se em coliformes totais uma variação de 2,3 a 4,0 log₁₀ UFC/g para carcaças com peso de 1.200 g e 0 a 4,0 log₁₀ UFC/g para carcaças com 2.100 g. Para coliformes termotolerantes, as médias logarítmicas variaram de 1,0 a 3,8 e 1,0 a 3,54 log₁₀ UFC/g para frangos com peso médio de 1.200 g e frangos com peso médio

de 2.100 g, respectivamente. As variações encontradas no presente estudo estão abaixo do limite máximo estipulado pela empresa e utilizado durante o estudo (10^4 UFC/g).

Jiménez *et al.* (2003) avaliaram microbiologicamente carcaças de frango em matadouro de aves da Argentina. Os pontos de coleta foram: após a evisceração, após o chuveiro que antecede o resfriamento e após o resfriamento. Para coliformes fecais encontraram valores de $3,89 \log_{10}$ UFC/mL após a evisceração e $2,68 \log_{10}$ UFC/mL após o resfriamento e para contagem de *E. coli* encontraram variações de 3,54 a 2,28 \log_{10} UFC/ml após a evisceração e após o resfriamento, respectivamente.

Segundo Grau (1974), a pele geralmente é considerada a fonte de origem da maioria das contaminações microbiológicas das carcaças. Bell (1997) demonstrou que os locais das carcaças que tiveram contato direto com contaminação fecal contida na pele, apresentaram *E. coli* excedente a 10^2 UFC/cm².

Uma etapa de grande importância é a evisceração, onde cuidados tecnológicos deverão ser tomados uma vez que o conteúdo gastrointestinal é potencial fonte de contaminação em matadouros. O chuveiro de lavagem antes do pré-resfriamento não corrige falhas anteriores nas práticas de produção, nem remove as contaminações, pelo contrário, redistribui para outros locais da carcaça.

No estudo de regressão foi observado que a constante temperatura foi significativa ($P \leq 0,05$) para a contagem de coliformes totais ($R^2=0,276$), coliformes termotolerantes ($R^2=0,257$) e *E. coli* ($R^2=0,109$); porém, não houve diferença significativa para peso da carcaça.

Na Tabela 3 estão apresentados os dados de contagem (UFC/g) para coliformes totais. Foi possível identificar declínio na contagem bacteriana ao longo do tempo de resfriamento, para carcaças de 2.100g ($P \leq 0,05$). Já para carcaças de 1.200g, este comportamento não foi identificado.

Tabela 3. Contagens mínimas, máximas e médias de coliformes totais (\log_{10} UFC/g) em carcaças de frangos de 1.200 g (A1) e 2.100 g (A2) durante o declínio de temperatura da carcaça até 4°C.

Tempo	Grupo A1			Grupo A2		
	Mínimo	Máximo	Média	Mínimo	Máximo	Média
0	2,30	4,00	2,94 ^a	3,45	4,00	3,84 ^a
1	2,52	3,58	2,92 ^a	2,89	3,68	3,40 ^{ab}
2	2,63	3,77	3,12 ^a	2,98	4,00	3,36 ^{abc}
3	2,54	2,99	2,76 ^a	2,36	3,20	2,75 ^{abc}
4	2,51	3,60	2,81 ^a	2,11	3,04	2,74 ^{abc}
5	-	-	-	2,38	4,00	3,10 ^{abc}
6	-	-	-	2,69	3,30	3,01 ^{abc}
7	-	-	-	2,49	2,92	2,69 ^{bc}
8	-	-	-	0,00	2,81	2,00 ^c

a, b, c: valores indicados pela mesma letra na mesma coluna não diferem significativamente entre si ($P \leq 0,05$).

Na Tabela 4 estão apresentados os dados de contagem (UFC/g) para coliformes termotolerantes. Foi possível identificar declínio na contagem bacteriana ao longo do tempo de resfriamento para carcaças de 1.200g e para carcaças de 2.100g ($P \leq 0,05$).

Tabela 4. Contagens mínimas, máximas e médias de coliformes termotolerantes (\log_{10} UFC/g) em carcaças de frangos de 1.200 g (A1) e 2.100 g (A2) durante o declínio de temperatura da carcaça até 4°C.

Tempo	Grupo A1			Grupo A2		
	Mínimo	Máximo	Média	Mínimo	Máximo	Média
0	1,00	3,80	2,03 ^{ab}	2,97	3,54	3,35 ^a
1	2,00	2,81	2,32 ^{ab}	2,00	3,49	2,30 ^{bc}
2	2,00	3,77	2,76 ^a	2,68	3,08	2,90 ^{ab}
3	1,97	2,69	2,31 ^{ab}	2,00	2,28	2,07 ^c
4	1,72	2,00	1,94 ^b	2,00	2,36	2,13 ^c
5	-	-	-	2,00	2,00	2,00 ^c
6	-	-	-	1,91	2,32	2,10 ^c
7	-	-	-	2,00	2,00	2,00 ^c
8	-	-	-	1,00	2,00	1,60 ^c

a, b, c: valores indicados pela mesma letra na mesma coluna não diferem significativamente entre si ($P \leq 0,05$)

Na Tabela 5 estão apresentados os dados de contagem (UFC/g) para *E. coli*. Foi possível identificar declínio na contagem bacteriana ao longo do tempo de resfriamento para carcaças de 1.200g e para carcaças de 2.100g ($P \leq 0,05$).

Tabela 5. Contagens mínimas, máximas e médias de *Escherichia coli* (log UFC/g) em carcaças de frangos de 1.200 g (A1) e 2.100 g (A2) durante o declínio de temperatura da carcaça até 4°C.

Tempo	Grupo A1			Grupo A2		
	Mínimo	Máximo	Média	Mínimo	Máximo	Média
0	1,00	3,80	3,12 ^a	2,00	3,32	2,48 ^a
1	1,00	2,38	2,04 ^b	2,00	2,00	2,00 ^{ab}
2	1,00	2,49	2,09 ^b	2,00	2,00	2,00 ^{ab}
3	1,00	2,00	1,81 ^b	2,00	2,00	2,00 ^{ab}
4	1,00	2,00	1,91 ^b	2,00	2,00	2,00 ^{ab}
5	-	-	-	2,00	2,00	2,00 ^{ab}
6	-	-	-	1,00	2,00	1,80 ^{ab}
7	-	-	-	2,00	2,00	2,00 ^{ab}
8	-	-	-	1,00	2,00	1,40 ^b

a, b: valores indicados pela mesma letra na mesma coluna não diferem significativamente entre si ($P \leq 0,05$)

Em carcaças de 2.100g, a queda de temperatura é significativa ($P \leq 0,01$) para a queda de contagem dos microrganismos estudados. O índice de correlação para coliforme totais foi mediano ($r= 0,636$), coliformes fecais tiveram uma correlação muito forte ($r=0,742$) e para *E. coli* a correlação também foi mediana ($r=0,517$).

Já para carcaças de 1.200g a correlação de temperatura com contagem de microrganismo foi muito fraca e não significativa.

4.2.4 *Clostridium perfringens*

No presente estudo, não houve o crescimento de *Clostridium perfringens* em nenhuma das análises realizadas, tanto em carcaças de frango com 1.200 g quanto naquelas com 2.100g.

Os alimentos implicados nos surtos de intoxicação alimentar por *C. perfringens* são com frequência cozidos, onde o tratamento térmico dos alimentos é presuntivamente insuficiente para destruir os esporos termorresistentes, de modo que quando o alimento é reaquecido, os esporos germinam e multiplicam-se.

Ao mesmo tempo, deve-se considerar que o não isolamento de *Clostridium perfringens* neste estudo, não significa que tais microrganismos estejam ausentes, pois como esclarece Labbe

(2001), os meios de cultura para o isolamento destes microrganismos são baseados no princípio de que as células presentes nas amostras estejam viáveis, o que nem sempre ocorre, principalmente se o produto for resfriado ou congelado por um longo período.

Por outro lado, Stagnitta *et al.* (2002), avaliando carnes e produtos cárneos, verificaram altas contagens de *C. perfringens*, que variaram entre <10 a 10^5 NMP/g e aquelas com número elevado do microrganismo foram consideradas impróprias para o consumo, pois ofereciam risco à saúde coletiva.

4.2.5 *Salmonella* spp.

No resultado das análises para *Salmonella* deste estudo, constatou-se a presença deste microrganismo em temperaturas de resfriamento. O resfriamento não inviabiliza a presença de salmonelas, enquanto que no congelamento pode ocorrer a redução ou a ausência de bactérias viáveis (Santos *et al.*, 2000). A detecção de *Salmonella* spp. pode ter ocorrido somente em temperaturas de refrigeração porque é quando a maioria das bactérias cessam seu crescimento e, devido as salmonelas não serem boas competidoras, é quando elas conseguem se multiplicar e serem detectadas. Outra hipótese é que os cuidados tecnológicos durante os procedimentos de abate podem ter sido falhos ou não estavam totalmente controlados através das regras operacionais. Estes controles são fundamentais para reduzir a contaminação cruzada através da manipulação e do contato direto das carcaças com superfícies.

Das 43 análises realizadas para pesquisa de *Salmonella* spp. em carcaças com 2.100 g, em uma amostra foi isolado o microrganismo na temperatura de $7,2^{\circ}\text{C}$, encontrado-se um percentual de 2,3% (1/43). Da mesma forma, nas 25 carcaças com 1.200 g analisadas foi isolado *Salmonella* spp. em uma amostra que se encontrava na temperatura de $4,6^{\circ}\text{C}$, encontrado-se um percentual de 4% (1/25).

Normalmente, o percentual de frangos positivos para salmonelas, que chegam aos matadouros, é baixo. Porém, mesmo um pequeno número de aves infectadas pode contaminar toda a linha de abate devido às falhas tecnológicas durante o processamento que levam à contaminação cruzada. As carcaças contaminadas representam um risco para a saúde pública, pois o seu consumo ou de alimentos preparados com carne de frango contaminada pode transferir salmonelas para a cadeia alimentar humana (Nascimento *et al.*, 1996).

Na Bélgica, entre janeiro de 1997 até maio de 1998, 772 amostras de carcaças de frango e produtos de aves à venda no mercado varejista local foram analisadas para indicar a presença de contaminação de *Salmonella* spp. e o percentual de contaminação foi de 36,5% (Uyttendaele *et al.*, 1999).

Lillard (1990) relatou que uma pesquisa realizada pelo Serviço de Inspeção dos Estados Unidos (*Food Safety and Inspection Service*) mostrou que 5% das aves que chegavam ao abatedouro estavam contaminadas por *Salmonella* spp. e, após a etapa final de processamento, a contaminação aumentou para 36% nas carcaças de frango.

Dickel (2004) analisou 40 carcaças coletadas antes e depois da passagem pelo *chiller* em um abatedouro de tecnologia semi-automatizada, com abate diário de 20 mil aves, e em um com tecnologia totalmente automatizada e abate diário de 380 mil aves no Rio Grande do Sul. O autor não encontrou *Salmonella* spp. no primeiro abatedouro, mas no segundo verificou uma elevada frequência de salmonela (70 % antes do *chiller* e 20% depois do *chiller*). O autor inferiu que as altas velocidades nas linhas de abate, equipamentos desregulados, desuniformidade no tamanho das aves, temperaturas inadequadas no *pré chiller* e *chiller* e cloração deficiente, possibilitaram a contaminação cruzada com enterobactérias. O presente trabalho apresentou um número de animais positivos para *Salmonella* spp. muito menor que os resultados apresentados por Dickel (2004) mostrando que as medidas de controle realizadas a campo e nos matadouros, como a vacinação de matrizes e o programa de redução de patógenos, têm se mostrado eficientes.

Soultos *et al.* (2003), realizaram, na Irlanda, a pesquisa de *Salmonella* spp. em 205 pacotes contendo retalhos de frango nos supermercados. *Salmonella* spp. esteve presente em 03 amostras (1,5%), indicando que as medidas adotadas para reduzir a incidência de *Salmonella* em frangos obtiveram sucesso. Nos anos 80, a *Salmonella* Enteritidis era o principal patógeno transmitido por alimentos no Reino Unido quando foram introduzidas medidas rígidas de controle.

4.2.6 *Listeria monocytogenes*

Apenas foi constatada a presença do microrganismo em carcaças de 2.100 g. Das 43 análises realizadas para pesquisa de *Listeria* sp em carcaças com 2.100 g, foi encontrado um percentual de 11,6% (5/43) para a presença de *Listeria* spp. A presença do microrganismo foi constatada em uma amostra que apresentava temperatura de 6,2°C e em 04 amostras que

apresentavam temperatura de 4,6°C, temperatura aferida no músculo peitoral profundo das carcaças. Verificou-se correlação inversa entre temperatura da carcaça e presença do microrganismo, isto é, a detecção de *Listeria* spp. ocorreu quando houve a queda da temperatura, encontrando-se em temperaturas de refrigeração.

Não foi encontrado o microrganismo nas carcaças de 1.200 g, em 25 amostras analisadas.

A principal característica da *L. monocytogenes* está na capacidade de multiplicar-se relativamente rápido em temperatura de refrigeração (Eley, 1992). Segundo Silva (2001), a *Listeria monocytogenes* está presente em 64% dos alimentos refrigerados. Fato que corrobora o presente estudo, onde a detecção do microrganismo ocorreu somente em temperaturas de refrigeração.

De acordo com Norrung e Buncic (2007) dados relatando a ocorrência de *L. monocytogenes* são escassos porque o monitoramento deste patógeno é focado primeiramente em alimentos prontos para o consumo, incluindo as carnes. Geralmente, o ambiente de processamento é a fonte de contaminação destes produtos e eles podem conter um alto número de *L. monocytogenes*.

Blackman & Frank (1996) verificaram que a *L. monocytogenes* tem capacidade para se estabelecer e formar biofilmes nos diferentes tipos de superfícies que compõem as plantas de processamento. O que pode explicar a origem da contaminação das carcaças.

Na Bélgica, entre janeiro de 1997 até maio de 1998, 772 amostras de carcaças de frango e produtos de aves à venda no mercado varejista local foram analisadas para indicar a presença de contaminação de *Listeria monocytogenes* e o percentual de contaminação foi 38,2% (Uyttendaele *et al.*, 1999).

Soultos *et al.* (2003) realizaram, na Irlanda, a pesquisa de *Listeria* spp. em 80 pacotes contendo retalhos de frango nos supermercados. *Listeria* spp. esteve presente em 38 amostras (48%), sendo 14 (18%) identificadas como *L. monocytogenes*. Foi considerado que os retalhos de frango comercializados na Irlanda podem ser uma fonte potencial de *L. monocytogenes* e devem ser tomadas medidas de segurança alimentar apropriadas para evitar a conseqüente infecção de humanos.

5 CONCLUSÕES

Pelos resultados obtidos, foi possível concluir-se que:

- A maioria das amostras analisadas apresentou condições apropriadas de consumo, uma vez que os números de contagem bacteriana para mesófilos aeróbios, coliformes totais, coliformes termotolerantes, *Staphylococcus* coagulase positivo e *Clostridium perfringens* encontraram-se dentro dos limites permitidos em legislação para todas as análises realizadas.
- *Escherichia coli* esteve presente em 03 análises das 68 realizadas, mas somente excedeu os padrões quando a temperatura foi superior a 7°C, podendo-se concluir que é de extrema importância o controle de temperatura para que não ocorra a multiplicação de microrganismos.
- Foi observada a presença de *Salmonella* spp. e *Listeria* spp. em carcaças a temperaturas de refrigeração, indicando um risco à saúde pública se a carga contaminante for suficientemente alta.
- A presença de *Listeria* spp. nas carcaças resfriadas (6,2 e 4,6°C) indica a necessidade de estudar mais profundamente este patógeno em produtos avícolas.
- Em vista dos resultados apresentados, pode-se verificar que houve redução da carga microbiana de mesófilos aeróbios, coliformes totais, coliformes termotolerantes e *Escherichia coli*. conforme ocorria o declínio de temperatura e que é possível obter produtos de qualidade aceitável do ponto de vista microbiológico, uma vez que os programas de qualidade sejam corretamente implantados e obedecidos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDALLAH, R. R. **Uma experiência de aplicação do Sistema APPCC (Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle) em uma indústria de laticínios.** Florianópolis, 1997. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Produção) – Programa de Pós Graduação em Engenharia de Produção, Universidade Federal de Santa Catarina.

ALFREDO, M. T. **APPCC no gerenciamento da qualidade em abatedouros de frangos.** Campo Grande, 2006. Dissertação – Programa de Pós Graduação em Produção e Gestão Agroindustrial, Universidade para o Desenvolvimento do Estado e da Região do Pantanal.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS PRODUTORES E EXPORTADORES DE FRANGOS – ABEF. **Relatório Anual 2006.** Disponível em: <http://www.abef.com.br/Relatorios_Anuais.php>. Acesso em: 16 dezembro 2007.

ALMEIDA, A. A. P. **Garantia de qualidade em laticínios: uma abordagem atual.** Qualidade em Dia, São Paulo, n. 18, jul./ago./set. 2001.

ALMEIDA, P. F. *et al.* 1999. *Listeria monocytogenes*: importância e distribuição nos alimentos. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v.13, n. 64. p. 19-23.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). Committee on Microbiological Methods for Foods. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods.** 4. ed. Washington: American Public Health Association, 2001. 676p.

BARENDZ, A. W. **Food safety and total quality management.** *Food Control*, vol. 9, 1998.

BARRETO, N. S.; VIEIRA, R.H.S.F. *Salmonella* versus manipuladores de alimentos: fator de risco para consumidores. **Revista Higiene Alimentar**, v. 16, n. 101, p. 15, out., 2002.

BELL, R.G. Distribution and sources of microbial contamination on beef carcasses. **Journal of Applied microbiology**, v.82, p.292-300, 1997.

BENNET, W. L.; STEED, L. L. **An integrated approach to food safety.** *Quality Press*, vol. 32, February, 1999.

BLACKMAN, I. C.; FRANK, J. F. Growth of *Listeria monocytogenes* as a biofilm on various food-processing surfaces. **Journal of Food Protection**, Ames, v. 59, p. 827- 831, 1996.

BOARD, R. G. **Introducción a la microbiología moderna de los alimentos.** Espanha: Acribia, 1988. 271p.

BORGES, J. T. S.; FREITAS, A. S. Aplicação do sistema Hazard Analysis and Critical Control Points (HACCP) no processamento de carne bovina fresca. **B. CEPPA**, Curitiba, v. 20, n. 1, p. 1-18, 2002.

BRANCO, M. A. A. C. *et al.* Incidência de *Listeria monocytogenes* em queijo de coalho refrigerado produzido industrialmente. **B. CEPPA**, Curitiba, v. 21, n. 2. p. 393-408, 2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Decreto n.30.691. 29 de mar. 1952, alterado pelos Decretos n.1255. 25 jun. 1962, n.1236. 02 set. 1994, n.1812. 08 fev. 1996, n.2244. 04 jun. 1997. Regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal. Brasília: Ministério da Agricultura, Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. **Diário Oficial da União**, Brasília, 1997. 241p.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Portaria n°46, de 10 de fevereiro de 1998. **Manual Genérico de Procedimentos para APPCC em Indústrias de Produtos de Origem Animal.**

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Portaria n° 210, de 10 de novembro de 1998. **Regulamento Técnico da Inspeção Tecnológica e Higiênico Sanitária de Carnes de Aves.**

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n°62, de 26 de agosto de 2003. **Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água.**

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução RDC n° 12, de 02 de janeiro de 2001. **Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos.**

BRENNER, D. J. Facultatively anaerobic Gram-negative rods. In: KRIEG, N. R.; HOLT, J. G.; **Bergey's Manual of systematic bacteriology**. Baltimore: Willian e Wilkins, 1984. 2 v. 964 p. Seção 5, p. 408-516.

BUCHANAN, R. L.; DOYLE, M. P. Foodborne disease significance of *Escherichia coli* O157:H7 and other enterohemorrhagic *Escherichia coli*. **Food Technology**, v. 51, p. 76-79. 1997.

CÁCERES, R. A. **Estadística multivariante y no paramétrica com SPSS**. Madrid, Díaz de Santos, 1995.

CARVALHO, A. C. F. B. *et al.* Presença de microrganismos mesófilos, psicrófilos e coliformes em diferentes amostras de produtos avícolas. **Arquivo do Instituto de Biologia**, São Paulo, v. 72, n.3, p.303-307, 2005.

CASON, J. A. *et al.* Carcass microbiological quality following intermitent scalding and defeathering. **Journal of Applied Poultry**, R. 8. p.368-373, 1999.

CENTRO DE TECNOLOGIA DA CARNE CTC/ITAL. **Industrialização de carne de frango**. Campinas, São Paulo: Centro de Tecnologia da Carne, 1995. 80 p.

CLIVER, D. O. **Foodborne Diseases**. 1990. p.85-106.

CHARLEBOIS, R.; TENDEL, R.; MESSIER, S. Contaminação da superfície de carcaças bovinas com coliformes fecais. **Journal of Food Protection**, Ames, v.54, n.2, p.950-956, 1991.

COLOMBO, S. S. **Qualidade: Sua Parceira no Sucesso**. Nutrição em Pauta. mai./jun, 1999. Disponível em: <<http://www.nutricaoempauta.com.br/novo/36/foodservice.html>>.

D'ANGELIS, C. E. M. *et al.* 2004. Levantamento de *Listeria monocytogenes* em leite tipo UHT e tipo C. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 18, n. 120. p. 45-49.

D'AOUST, J. Y. *Salmonella*. In: LUND, B. M.; BAIRD-PAKER, T. C.; GOULD, G. W. (Ed.). **The Microbiological Safety and Quality of Food**. Gaithersburg: Aspen Publishers, Inc., 2000. Cap. 45, v. 2, p.1233-1299.

DELAZARI, I. Programas de segurança de alimentos na indústria de produtos avícolas. In: **Conferência Apinco 2003 de Ciência e Tecnologia Avícolas**, Campinas, Anais...Campinas : FACTA, 2003, p. 123-126.

DESMARCHELIER, P.M.; HIGGS, G.M.; MILLS, L.; SULLIVAN, A.M.; VANDERLINDE, P.B. Incidence of coagulase positive Staphylococcus on beef carcasses in three Australian abattoirs. **Food Science Australia**, v.47, p.221-229, 1999.

DICKEL, E. L. **Utilização da técnica microbiológica convencional, reação em cadeia pela polimerase (PCR) e ensaio imunoenzimático (ELISA) no monitoramento de *Salmonella* spp. em carcaças de frango para o controle higiêncio-sanitário do processo de abate**. Porto Alegre, 2004. Tese – Programa de Pós Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

DUGUID, J. P.; NORTH, A. E. Eggs and *Salmonella* food-poisoning: an evaluation. **Journal of Medical Microbiology**, v. 34, p.65-72, 1991.

ELEY, A. **Intoxicaciones alimentarias de etiologia microbiana**. Zaragoza: Acríbia, 1992, p.208.

FARBER, J. M.; PETERKIN, P. I. *Listeria monocytogenes*, a food-borne pathogen **Microbiological Reviews**, sept. 1991, vol. 55, n°3, p.476-511.

FAO. Food Quality and Safety Systems. **A training manual on food hygiene and the Hazard Analysis and Critical Control Point System**. Rome: FAO, 1998.

FIGUEIREDO, E.A.P. Avicultura de corte ou de postura? Disponível em: <<http://www.bichoonline.com.br/artigos/embrapave0003.htm>>. Acesso em: 17 jan. 2008.

FLORENTINO, E.R.; LEITE, JR, A.F.; SÁ, S.N.; ARAÚJO, M.S.O.; MARTINS, R.S. Avaliação da Qualidade Microbiológica da Carne Moída Comercializada em Campina Grande-PB. **Higiene Alimentar**, v.11, n.47, jan/fev., 1997.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION – FDA.Center for Food Safety & Applied Nutrition. Foodborn pathogenic microorganisms and natural toxins handbook. The “**Bad Bug Book**”. 1998. Disponível em: <<http://www.cfsan.fda.gov/~mow/intro.html>>. Acesso em: abr. 2007.

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da Segurança Alimentar**. 1. ed. Porto Alegre: Artmed, 2002. 424 p.

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

FRAZIER, W.C.; WESTHOFF, D.C. **Microbiología de los alimentos**. 4 ed., Espanha: Editorial Acribia S. A., 1993. 681 p.

FREITAS, M. F. L. *et al.* Ocorrência de *Staphylococcus aureus* em carcaças de frango. **B. CEPPA**, Curitiba, v.22, n.2, p. 271-282, 2004.

GAMA, N.M.S. Laringotraqueíte: o caso brasileiro. In: **Conferência Apinco 2004 De Ciência E Tecnologia Avícolas**, Santos, Anais...Santos : FACTA, 2004, p. 85-92.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. **Higiene e vigilância sanitária de alimentos**. São Paulo, Editora Varela, 2001. 629 p.

GILL, C. O. Microbiological contamination of meat during slaughter and butchering of cattle, sheep and pigs. In: DAVIES, A.; BOARD, R. **The Microbiology of Meat and Poultry**. London: Blackie Academic and Professional, 1998. p.118-157.

GIOVA, T. A. **APPCC na qualidade e segurança microbiológica de alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, 1997. 375 p.

GRAU, F.H. Microbiology of unpacked meat. **Advances in Meat Science and Tecnology**. CSIRO (Australia), 1974.

GUIA para elaboração do plano APPCC; carnes e derivados. 2. ed. Brasília, SENAI/DN, 2000. 142 p. (Série Qualidade e Segurança Alimentar). Projeto APPCC Indústria. Convênio CNI/SENAI/SEBRAE.

HAFEZ, H.M. Perspectiva global de enfermidades emergentes e re-emergentes em aves. In: **Conferência Apinco 2005 de Ciência e Tecnologia Avícolas**, Santos, Anais...Santos : FACTA, 2005, p. 123-138.

HAJDENWURCEL, J. R. **Atlas de microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Fonte Comunicações e Editora, 1998. 66p.

HIRSH, D.; ZEE, Y. C. **Microbiologia Veterinária**. 2. ed. Guanabara Koogan, 1999. p.108-112.

HOLT, J. G.; KRIEG, N. R.; SNEATH, P. H. A.; STALEY, J.T.; WILLIAMS, S. T. **Bergey's of Manual Determinative Bacteriology**. 9a ed. Philadelphia:Lippincott Williams & Wilkins, 2000, 787p.

HUNT, D. V. **Gerenciamento para a qualidade**. Rio de Janeiro: LTC-Livros Técnicos e Científicos Editora S.A, 1994.

IDEXX Food Safety Net Services. **The comprehensive Hazard Analysis and Critical Control Point Course**. Westbrook: IDEXX, 1998.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS – ICMSF. **Microorganisms in food: Characteristics of microbial pathogens**. London: Blackie Academic & Professional, 1998. 513p. v. 5.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS – ICMSF. **Microorganisms in food: Microbiological ecology of food commodities**. Gaithersburg: A Chapman & Hall Food Science Book, An aspen Publication, p. 549-558, 2000. v. 6.

INTERNATIONAL COMMITTEE ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATION FOR FOOD – ICMSF. **Microorganisms in food: Their significance and methods of enumeration**. 2ed., Toronto: University Press, 2000. 439p.

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

JIMÉNEZ, S. M. *et al.* The role of visible faecal material as a vehicle for generic *Escherichia coli*, coliform, and other enterobacteria contaminating poultry carcasses during slaughtering. **Journal of Applied Microbiology**, n. 95, p. 451-456, 2003.

JOUVE, J. L.: **“Principles of food safety legislation.”** *Food Control*, vol. 9, no 2-3, 1998.

JURAN, J. M. **Qualidade no século XXI: Prognósticos para o futuro da qualidade e uma análise de sua história no século XX, marcado pela busca da produtividade**. HSM Management. São Paulo, n.3, 1997.

KATSUYAMA, A. M.; STEVENSON,K.E. Hazard Analysis and Identification of Critical Control Points. In: STEVENSON, K. E.; BERNARD, D. T. (ED). **HACCP. Establishing Hazard Analysis Critical Control Point Programs**. A workshop manual. 2ª. Ed. Washington: The Food Processors Institute, 1995.

KAUFMANN, S. H. E.; RAUPACH, B.; FINLAY, B. B. Introduction: microbiology and immunology: lessons learned from *Salmonella*. **Microbes and Infection**. V.3, n. 14 e 15, p. 1177-1181, nov.-dec., 2001. Disponível em:<www.probe.br>. Acesso em: 01 mai. 2007.

KORNACKI, J. L.; JOHNSON, J. L. *Enterobacteriaceae*, coliforms, and *Escherichia coli* as quality and safety indicators. In: DOWNES, F. P.; ITO, K. **Compendium of Methods for the Microbiological Examinations of Foods**. 4. ed. Washington: American Public Health Association – APHA, 2001. 676p. Cap. 8, p. 69-82.

LABBE, R. G. *Clostridium perfringens*. In: DOWNES, F. P.; ITO, K. **Compendium of Methods for the Microbiological Examinations of Foods**. 4. ed. Washington: American Public Health Association – APHA, 2001. 676p. Cap. 34, p. 325-330.

LE MINOR, L.; POPOFF, M. Y. Designation of *Salmonella enterica* sp. nov., nom. rev., as type and only species of the genus *Salmonella*. **International Journal Systemic Bacteriology**, n. 37, p. 465-468, 1987.

LEITÃO, M. F. F. Microbiologia de Alimentos. In: ROITMAN, I.; TRAVASSOS, L. R.; AZEVEDO, J. L (ED). **Tratado de Microbiologia**. São Paulo: Manole, 1988, v.2.

LEITÃO, M.F.F. Qualidade e segurança alimentar em produtos avícolas. In: **Conferência Apinco 2001 De Ciência E Tecnologia Avícolas**, Campinas, Anais...Campinas : FACTA, 2001, p. 181-190.

LILLARD, H. S. The impact of commercial processing procedures on the bacterial contamination and cross-contamination of broiler carcasses. **Journal Food Protection**, Des Moines, v.53, n.3, p.202-204, 1990.

LOPES, M. *et al.* Pesquisa de *Salmonella* spp. e microrganismos indicadores em carcaças de frango e água de tanques de pré-resfriamento em abatedouros de aves. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.28, n.3, p.465-476, 2007.

MENDES, A. C. R. Os Profissionais da Área de Alimentos no Controle de Qualidade: “Uma Reflexão sobre as Ações Necessárias para Proteção da Saúde do Consumidor”. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, vol. 12, n.53, 1998.

NASCIMENTO, V.P.; SILVA, A.B.; SALLE, C.T.P.; RIBEIRO, A.R.; SCHUCH, D.M.T.; SANTOS, L.R.; CARDOSO, M.O.; ROCHA, S.L.S.; VIEIRA, J.S. Ocorrência de *Salmonella* sp em carcaças de frango industrialmente processadas. In: **Conferência Apinco 1996 De Ciência E Tecnologia Avícolas**, Campinas, Anais... Campinas: FACTA, 1996, p. 81.

NORRUNG, B.; BUNCIC, S. Microbial safety of the meat in the European Union. In: **Meat Science**, v.78, p. 14-24, 2007.

OLIVEIRA, A. M.; GONÇALVES, M. O.; SHINOHARA, N. K. S.; STAMFORD, T. L. M. Manipuladores de alimentos: um fator de risco. **Revista Higiene Alimentar**, v. 17, n. 114/115, p. 12-18, nov.-dez., 2003.

PERESI, J. T. M.; GRACIANO, R. A. S.; ALMEIDA, A. Z. C. de; LIMA, S. I. de; RIBEIRO, A. K.; CARVALHO, I. S. de; LIMA, M. de. Queijo Minas tipo Frescal artesanal e industrial. Qualidade microscópica, microbiológica e teste de sensibilidade aos agentes antimicrobianos. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v.15, n.83, p.63-70, abr. 2001.

PINTO, P. S. Aspectos sanitários da salmonelose como uma zoonose. **Revista Higiene Alimentar**, v. 14, n. 73, p. 39-43, jun., 2000.

QUEVEDO, A. Anuário 2005 – Frango à brasileira. Disponível em: <http://www.aviculturaindustrial.com.br/site/dinamica.asp?id=12036etipo_tabela=negociosecatgoria=mercado_interno> Acesso em: 20 abr. 2005.

ROÇA, R.O.; SERRANO, M.A. Abate de bovinos: alterações microbianas da carcaça. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v.9, n.35, p.8-12, 1995.

SANTIAGO, B. N. **Políticas públicas y derecho alimentario**. Del GATT a la OMC em Latinoamerica y el Caribe. Buenos Aires: Ciudad Argentina, 1998.

SANTOS, D.; BERGMANN, G. P. Influência da temperatura durante o transporte sobre a qualidade microbiológica do leite cru. Parte II – Coliformes Totais. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 17, n. 110, p. 80-84, jul. 2003.

SANTOS, D.M.S.; BERCHIERI JR., A.; FERNANDES, S.A.; TAVECHIO, A.T.; AMARAL, L.A. Salmonella em carcaças de frango congeladas. Pesquisa Veterinária Brasileira, v. 20, n. 1, p. 39-42, 2000.

SCHORR, H. O futuro da cadeia de produção de frangos de corte (uma visão internacional). In: **Conferência Apinco 2002 De Ciência E Tecnologia Avícolas**, 2002, Campinas, Anais...Campinas : FACTA, 2002, p.19-30.

SENAI/DN. **ELEMENTOS de Apoio para o Sistema APPCC**. 2. ed. Brasília, SENAI/DN, 2000. 361 p. (Série Qualidade e Segurança Alimentar). Projeto APPCC Indústria. Convênio CNI/SENAI/SEBRAE.

SHINOHARA, N.K.S.; LIMA, E. de S.; MELO, R.G. de; STAMFORD, T.L.M. Potencial Patogênico de *Clostridium perfringens* em Alimentos. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v.17, n°106, p.72-77, março 2003.

SILVA, E.N. Medidas gerais de controle de salmonelas em frangos. In: **Conferência Apinco 2005 De Ciência E Tecnologia Avícolas**, 2005, Santos, Anais...Santos : FACTA, 2005, p. 229-237.

SILVA JUNIOR, E. A. **Manual de controle higiênico-sanitário em alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, 2001, 475 p.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. São Paulo, Varela, 1997. 295p.

SILVA, W. P. *et al.* *Listeria* spp. no processamento de lingüiça frescal em frigoríficos de Pelotas, RS, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 3. p. 911-916, 2004.

SIQUEIRA, R. S. **Manual de Microbiologia de Alimentos**. EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Tecnologia Industrial de Alimentos. Rio de Janeiro: EMBRAPA-CTAA, 1995. 159 p.

SOULTOS, N. *et al.* Presence of *Listeria* and *Salmonella* spp. in retail chicken in Northern Ireland. **Letters in Applied Microbiology**. v. 37, p.421-423, 2003.

STAGNITTA, P. V.; MICALIZZI, B.; GUZMÁN, A. M. S. Prevalence of Enterotoxigenic *Clostridium perfringens* in meats in San Luis, Argentina. **Anaerobe Food Microbiology**, v. 8, p. 253-258, 2002.

STEVENSON, K. E. (ed). **HACCP: Establishing Hazard Analysis Critical Control Point Programs- A Workshop Manual**: Washington, D. c USA: Food Processors Institute, 1995. 90 p.

TAUXE, R.V. Emerging food borne diseases: an evolving public health challenge. **Emerg. Inf. Dis.**, v.3, p.425-434, 1997.

TORTORA, G.J.; FUNKE, B.R.; CASE, C.L. **Microbiologia**, 8ª edição, editora Artmed, 2005.

TRABULSI, L. R.; TOLEDO, M. R. F. **Microbiologia**. 2 ed. São Paulo: Editora Atheneu, 1998. 398 p.

UYTTENDAELE, M.; TROY, P. de; DEBEVERE, J. Incidence of *Salmonella*, *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*, and *Listeria monocytogenes* in poultry carcasses and different types of poultry products for sale on the Belgian retail market. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 62, n. 7, p. 735-740, jul. 1999.

UNTERMAN, F. **Hazard appraisal (HACCP)**. The Overall Concept. Encyclopedia of Food Microbiology, Academic Press, 1999. Disponível em: <<http://apresslp.gvpi.net/apfmicro>>.

VARNAN, A. H.; EVANS, M. G. **Foodborne Pathogens**. Manson Publishing:, 1996. 557 p.

ZAGANINI, C. L. **Resistência a antimicrobianos em cepas de *Salmonella* spp., *Escherichia coli* e *Enterococcus* spp. isolados de carcaças de frango**. Campinas, 2004. Dissertação – Universidade Estadual de Campinas.

[