

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO MEDICINA VETERINÁRIA**

**COMPARAÇÃO DOS RESULTADOS DA
CONTAMINAÇÃO POR MESÓFILOS E
ENTEROBACTÉRIAS E DOS ASPECTOS
OPERACIONAIS ENTRE OS MÉTODOS DE REFILE E
LAVAGEM DE CARCAÇAS EM ABATEDOUROS DE
FRANGOS DO RIO GRANDE DO SUL**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Ronise Faria Rohde Depner

Santa Maria, RS, Brasil

2015

**COMPARAÇÃO DOS RESULTADOS DA CONTAMINAÇÃO
POR MESÓFILOS E ENTEROBACTÉRIAS E DOS ASPECTOS
OPERACIONAIS ENTRE OS MÉTODOS DE REFILE E
LAVAGEM DE CARÇAÇAS EM ABATEDOUROS DE
FRANGOS DO RIO GRANDE DO SUL**

Ronise Faria Rohde Depner

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Área de Concentração em Sanidade e Reprodução Animal, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Medicina Veterinária**

Orientadora: Prof^a. Maristela Lovato, Dr^a.

Santa Maria, RS, Brasil

2015

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Rurais
Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Dissertação de Mestrado

**COMPARAÇÃO DOS RESULTADOS DA CONTAMINAÇÃO POR
MESÓFILOS E ENTEROBACTÉRIAS E DOS ASPECTOS
OPERACIONAIS ENTRE OS MÉTODOS DE REFILE E LAVAGEM DE
CARCAÇAS EM ABATEDOUROS DE FRANGOS DO RIO GRANDE
DO SUL**

elaborada por
Ronise Faria Rohde Depner

como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Medicina Veterinária

COMISSÃO EXAMINADORA:

Maristela Lovato, Dr^a. (UFSM)
(Presidente)

Elci Lotar Dickel, Dr. (UPF)

Luciana Pötter, Dr. (UFSM)

Santa Maria, 20 de fevereiro de 2015.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida, pela coragem e sustentação a cada dia e pela família que me concedeu.

Ao meu marido e melhor amigo, Rômulo Alexandre Depner, pelo amor, paciência e dedicação a mim e ao nosso filho e pelo encorajamento e companheirismo nos momentos difíceis.

Ao Otávio Rohde Depner, meu filho amado, por deixar de mamar e ficar em casa com o pai para que a mamãe pudesse ir para o “colégio” e por entender, tão novo, que a mamãe precisava ficar sozinha para estudar.

Aos meus pais, Norma Faria Rohde e Rony da Silva Rohde, pela vida, pelo amor e carinho e por sempre ajudar em tudo o que podem.

À minha sogra, Carmen Lani Pereira Depner, por dedicar seu tempo a cuidar de nós no início do mestrado.

À minha orientadora, Professora Dr^a. Maristela Lovato, pela confiança e pela oportunidade de realizar o mestrado. Também pela orientação segura, amizade e pelas tantas conversas nos momentos de alegrias e de dificuldade. É alguém a quem devo muito.

À toda a equipe do Laboratório Central de Diagnóstico e Patologias Aviárias e Núcleo de Estudos e Pesquisas em Animais Silvestres (LCDPA/NEPAS), especialmente à Vivian Lucca, pelo auxílio na execução dos trabalhos.

À Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), ao Programa de Pós Graduação em Medicina Veterinária, e à CAPES, pela concessão da bolsa.

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação Medicina Veterinária
Universidade Federal de Santa Maria

COMPARAÇÃO DOS RESULTADOS DA CONTAMINAÇÃO POR MESÓFILOS E ENTEROBACTÉRIAS E DOS ASPECTOS OPERACIONAIS ENTRE OS MÉTODOS DE REFILE E LAVAGEM DE CARÇAÇAS EM ABATEDOUROS DE FRANGOS DO RIO GRANDE DO SUL

AUTORA: RONISE FARIA ROHDE DEPNER

ORIENTADORA: MARISTELA LOVATO

Santa Maria, 20 de fevereiro de 2015.

A Resolução n.4 autorizou o emprego do sistema de lavagem de carcaças no processo de abate de aves para remover a contaminação por conteúdo gastrointestinal visível presente nas superfícies internas e externas das carcaças, como alternativa à prática do refile e sua publicação gerou insegurança quanto a possíveis prejuízos à inocuidade do produto. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar os primeiros resultados da implantação da lavagem de carcaças nas indústrias avícolas do estado do Rio Grande do Sul e comparar esses dados com os obtidos nas mesmas empresas previamente à mudança do sistema, determinando se o novo sistema é equivalente ou não ao método tradicional de refile. Adicionalmente, buscou-se avaliar a influência da pressão e da vazão de água dos lavadores na descontaminação das carcaças. Coletaram-se os percentuais de condenações total e parcial realizadas pelos SIFs, dados técnicos dos lavadores (pressão do jato de água na saída dos bicos aspersores e volume de água por carcaça) e os resultados de análises microbiológicas nos cinco abatedouros que já implantaram o sistema no estado. As condenações totais e parciais, assim como as contagens de mesófilos e enterobactérias, foram comparadas dentro de cada frigorífico antes e após a implantação do sistema de lavagem por meio do teste do qui-quadrado. As variáveis resposta foram correlacionadas entre si e em função do sistema de lavagem por meio da análise de correlação de Spearman, a 5% de probabilidade. Também foram realizados testes de correlação a fim de verificar se as diferentes pressões e vazões de água dos lavadores exerceram influência na descontaminação das carcaças. As condenações totais diferiram entre os sistemas no Abatedouro 3 e as condenações parciais nos Abatedouros 2, 3, e 4. A pressão de água na saída dos bicos aspersores variou de 3,1 kgf/cm² até 16,3 kgf/cm² e a vazão de água de 0,4 até 1,5L por carcaça. Os níveis de contaminação das carcaças não diferiram nos dois sistemas de remoção da contaminação visível, com exceção das contagens de enterobactérias do Abatedouro 3, que reduziram. Observou-se correlação positiva entre a pressão e a vazão da água e os percentuais de redução de mesófilos e de enterobactérias. Com base nos resultados obtidos neste estudo, é possível afirmar que os sistemas de refile e de lavagem de carcaças foram equivalentes no aspecto microbiológico, no entanto, se todos os lavadores avaliados utilizassem os parâmetros dos mais eficientes, o resultado do sistema de

lavagem provavelmente seria superior ao do refile; o sistema de lavagem é superior ao de refile do ponto de vista operacional; a pressão tem maior influência na descontaminação das carcaças do que a vazão; estudos adicionais são necessários para estabelecer padrões mínimos aceitáveis de volume e pressão de água para a lavagem interna e externa das carcaças, a fim de aprimorar o método; deve-se estudar a viabilidade da substituição do refile pela lavagem de carcaças também no Departamento de Inspeção Final.

Palavras-chave: Abatedouro. Condenações. Contaminação gastrintestinal. Frango de corte. Refile de carcaças.

ABSTRACT

Master's Dissertation
Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária
Universidade Federal de Santa Maria

COMPARASION RESULTS OF MESOPHILIC AND ENTEROBACTERIA CONTAMINATION AND OPERATIONAL ASPECTS BETWEEN TRIMMING AND THE CARCASS WASHING SYSTEMS IN POULTRY SLAUGHTERHOUSES IN RIO GRANDE DO SUL, BRAZIL

AUTHOR: RONISE FARIA ROHDE DEPNER

ADVISER: MARISTELA LOVATO

Santa Maria, February, 20th, 2015.

Resolution n.4 authorizes the use of carcasses washing systems in poultry slaughtering processes to remove contamination from visible gastrointestinal content present in the internal and external surfaces of the carcasses, as an alternative to trimming. The publication of this resolution led to uncertainty as to possible damage to the safety of the product. Thus, the objective of this study was to evaluate the initial results of implementing carcass washing in poultry slaughterhouses of Rio Grande do Sul state and to compare these data with those obtained in the same companies before the change in system, determining if the new system is or not equivalent to the traditional method. Additionally, we sought to evaluate the influence of pressure and water flow from the hoses used in the decontamination of carcasses. The percentages of total and partial condemnation by SIFs, technical data from washers (pressure at the outlet of the water jet spray nozzles and volume water per carcass) and the results from microbiological tests carried out at five slaughterhouses in Rio Grande do Sul state which have already implemented the system were collected. Total and partial condemnation, as well as mesophilic and enterobacteria counts were compared within each slaughterhouse before and after the washing system had been implemented using the chi-square test. The response variables were correlated to each other and to the washing system by means of Spearman correlation analysis, at 5% probability. Also correlation tests were conducted to verify that the different pressures and water flows from washers exerted influence in the decontamination of carcasses. Total condemnation differed between treatments at the slaughterhouse 3 and partial condemnations in Slaughterhouses 2, 3, and 4. The water pressure at the outlet of the sprinkler varied from 3.1 kgf / cm² to 16.3 kgf / cm² and water flow from 0.4 to 1.5 liters per carcass. Visible carcass contamination levels were not different between removal systems, except for Enterobacteriaceae counts at Slaughterhouse 3, which were reduced. There was a positive correlation between the pressure and water flow and the percentage of reduction of mesophilic and enterobacteria. Based on the results obtained in this study, it is clear that both systems were equivalent in the microbiological standpoint, however, if all evaluated washing equipment would use the most efficient parameters, the results of washing system would probably be better than the trimming; the washing system is superior to the trimming from an operational point of view; the pressure has a greater influence on the decontamination of

carcasses than the water flow; Additional studies are needed to establish minimum acceptable standards of volume and water pressure for internal and external washing of carcasses in order to improve the method; the feasibility of replacing the carcasses trimming system with the washing system should also be studied in the Department of Final Inspection.

Keywords: Slaughterhouse. Condemnations. Gastrointestinal contamination. Broiler. Carcass trimming.

LISTA DE TABELAS

- TABELA 1 (QUADRO 1) - Percentual de condenações totais e parciais por contaminação gastrointestinal/biliar por método de remoção da contaminação (refile/lavagem) nos abatedouros do Rio Grande do Sul que já implantaram o sistema de lavagem de carcaças.....36
- TABELA 2 (QUADRO 2) - Valores de pressão e volume de água dos lavadores de carcaças instalados nos abatedouros do Rio Grande do Sul até fevereiro de 2014.....36
- TABELA 3 (QUADRO 3) - Contagem média de mesófilos e enterobactérias por método de remoção da contaminação (refile/lavagem) nos abatedouros do Rio Grande do Sul que já implantaram o sistema de lavagem de carcaças.....37
- TABELA 4 - Contagem média de mesófilos e enterobactérias do sistema de lavagem de carcaças por período avaliado em cada abatedouro.....46

LISTA DE APÊNDICES

- APÊNDICE A – Remoção de contaminação gastrointestinal da carcaça pelo método do refile.....43
- APÊNDICE B – Equipamento lavador de carcaças para remoção da contaminação gastrointestinal visível – vista interna evidenciando os bicos de aspersão interna (em azul) e externa (em vermelho) da carcaça.....44
- APÊNDICE C – Esquema de linha de evisceração com o método de refile, demonstrando o posicionamento das pessoas (pontos azuis) na etapa de Revisão das carcaças.....45
- APÊNDICE D – Esquema de linha de evisceração com o método de lavagem, demonstrando o posicionamento da máquina lavadora na etapa de Revisão das carcaças.....45
- APÊNDICE E – Estudos adicionais sobre a estabilização do sistema de lavagem e a influência da pressão e da vazão de água na descontaminação.....46

LISTA DE ANEXOS

- ANEXO A – Resolução n.4, de 04 de Outubro de 2011 – Autorização do emprego do sistema de lavagem de carcaças no processo de abate de aves.....48
- ANEXO B – Instrução Normativa n. 62, de 26 de agosto de 2003 - Métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal (mesófilos e enterobactérias).....50

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1 Microrganismos indicadores	15
2.2 Sistema de lavagem de carcaças	16
2.3 Parâmetros dos lavadores.....	19
2.4 Outros métodos de descontaminação das carcaças.....	20
3 CAPÍTULO I - Implantação do sistema de lavagem de carcaças como método de remoção da contaminação nos abatedouros de aves do Rio Grande do Sul.....	23
ABSTRACT.....	23
RESUMO.....	24
INTRODUÇÃO.....	25
MATERIAL E MÉTODOS.....	27
RESULTADOS	28
DISCUSSÃO.....	29
CONCLUSÃO.....	33
REFERÊNCIAS	33
4. CONCLUSÕES.....	38
5. REFERÊNCIAS	39
APÊNDICES	43
ANEXOS	48

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é o terceiro maior produtor de carne de aves e o maior exportador mundial do produto desde 2004, comercializando-o para mais de 150 países. O estado do Rio Grande do Sul contribui com aproximadamente 15% da produção nacional, o que faz dele o terceiro maior produtor do país (UBA, 2014; UBABEF, 2012).

Entre os alimentos que estão relacionados com maior frequência nos surtos de doenças transmitidas por alimentos, destaca-se a carne de aves, que teve seu consumo aumentado nos últimos anos. A presença de bactérias nos alimentos, além de favorecer a deterioração e/ou redução da vida útil desses produtos, possibilita a veiculação de patógenos, acarretando potenciais riscos à saúde do consumidor (CARVALHO et al., 2005). A microbiota das carcaças de aves é constituída de patógenos de origem alimentar, bactérias indicadoras de contaminação fecal e microrganismos deteriorantes (STEFANI et al., 2014).

O processo de abate implica em remover a carne, livre de bactérias, dentre duas superfícies contaminadas, a pele e o trato gastrointestinal. Esse processo, mesmo que cuidadosamente realizado vai, invariavelmente, transferir bactérias para a carcaça. O objetivo da Segurança dos Alimentos no abate é minimizar a contaminação bacteriana das carcaças e removê-la eficientemente quando ocorrer (BUEGE & INGHAM, 2003).

Apesar de todos os esforços, que vão desde o adequado jejum alimentar até o treinamento e conscientização dos operadores e regulagem correta dos equipamentos, a contaminação das carcaças por conteúdo gastrointestinal ocorre, em maior ou menor grau, independente do método de evisceração (manual ou automática). Para minimizar a contaminação e seus possíveis efeitos, uma série de planos de autocontrole são elaborados e monitorados diariamente pelas empresas e verificados pelo Serviço de Inspeção Federal, dentre eles os Procedimentos Sanitários Operacionais (PSO), Procedimento Padrão de Higiene Operacional (PPHO) e Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC).

Santana et al. (2008) analisaram os dados de condenações de dois abatedouros do estado de Goiás e verificaram que a contaminação das carcaças estava entre as maiores causas de condenação em ambos, sendo esta responsável por 31,6% do total de condenações do abatedouro A e 22,5% no B. Segundo Fletcher & Craig (1997), entre 2 e 5% das carcaças de aves são reprocessadas por contaminação gastrointestinal nas plantas dos Estados Unidos. Esses dados estão de acordo com o publicado por Mendes (2012), que afirma que cerca de 2%

da produção brasileira é perdida anualmente pela prática do refile, que consiste na remoção à faca e condenação das partes contaminadas por conteúdo gastrointestinal.

O critério de tolerância zero para contaminação gastrointestinal visível antes do pré-chiller tem sido adotado como padrão de desempenho nos planos de APPCC ao redor do mundo. O Brasil também estabelece o critério de ausência de contaminação visual interna e externa nas carcaças antes da entrada do chiller (BRASIL, 1998; BRASIL, 2006). Embora muitas vezes contestada, essa regra se baseia no pressuposto de que o material gastrointestinal é fonte primária de patógenos de origem alimentar e, quando presente nas carcaças na entrada do pré-resfriamento, pode ser uma fonte de contaminação cruzada dentro do chiller (BILGILI et al., 2002). De acordo com Smith et al. (2005) os abatedouros de aves dos Estados Unidos têm utilizado um ou mais lavadores de carcaças a fim de cumprir o limite crítico de tolerância zero para contaminação gastrointestinal visível.

A Resolução n.4 (BRASIL, 2011) autoriza o emprego no Brasil do sistema de lavagem de carcaças no processo de abate de aves para remover a contaminação por conteúdo gastrointestinal visível (não se aplica à remoção de conteúdo biliar) presente nas superfícies internas e externas das carcaças anterior à etapa de pré-resfriamento como alternativa à prática do refile. Determina que as empresas informem alguns parâmetros relacionados ao processo, como o tempo de exposição das carcaças à lavagem, o volume e a pressão de água utilizados e o número e direcionamento dos bicos aspersores. No entanto, não estabelece valores mínimos aceitáveis para tais parâmetros. Prevê ainda, a necessidade de revalidação do plano de APPCC pelas empresas que quiserem adotar o sistema e que a lavagem das carcaças não pode ser compensatória à execução indevida dos Procedimentos Sanitários Operacionais (PSO), o que está de acordo com Bolder (1997) que afirma que as intervenções tecnológicas podem ser aplicadas durante o processamento da carne, mas nunca devem ser utilizadas como medidas corretivas para produtos impróprios ou processos não higiênicos.

A incidência e as contagens de patógenos das carcaças são significativamente diferentes de planta para planta e essa diferença resulta em respostas diferentes para as alterações nos processos (NORTHCUTT et al., 2003). Isso se deve às grandes diferenças na qualidade sanitária dos rebanhos e também das plantas processadoras, cujos processos variam muito. Sendo assim, não é possível que se extrapolem os dados de um abatedouro para o outro. Sempre que se quer comparar algum novo procedimento ou equipamento, faz-se necessário que se avaliem os dados do novo sistema antes e depois da sua implantação dentro do próprio estabelecimento e nunca comparativamente a outra planta.

No Brasil, há carência de estudos avaliando a eficiência do novo método de lavagem e, adicionalmente, alguns fiscais, responsáveis pela inspeção de aves, continuam relutantes com a sua aprovação (STEFANI et al., 2014), talvez isso justifique o pequeno número de abatedouros que conseguiu autorização oficial para implantar o novo método até o momento. Embora os estudos demonstrem que a lavagem de carcaças é eficaz na redução das concentrações de *Salmonella* spp., maiores estudos controlados em condições de processamento comercial são necessários (BUCHER, et al., 2012). Sugere-se ainda, que sejam realizados estudos de viabilidade econômica dos processos de refile e de lavagem das carcaças, determinando as vantagens e as perdas econômicas decorrentes de cada um dos métodos de remoção da contaminação. Em função disso, as empresas, em parceria com instituições de ensino e pesquisa e órgãos oficiais de fiscalização, estão elaborando projetos de pesquisa com o intuito de se obter dados confiáveis a respeito da eficácia do método de lavagem.

Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar os primeiros resultados da implantação da lavagem de carcaças nas indústrias avícolas do estado do Rio Grande do Sul e comparar esses dados com os obtidos nas mesmas empresas previamente à mudança do sistema, determinando se o novo sistema é equivalente ou não ao método tradicional de refile nos seus aspectos microbiológicos e operacionais. Adicionalmente, buscou-se avaliar a influência da pressão e da vazão de água dos lavadores na descontaminação das carcaças.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Microrganismos indicadores

A abertura de novos mercados e o aumento da preocupação dos consumidores com a inocuidade dos produtos avícolas tem exercido grande influência no aprimoramento dos sistemas de controle da sua qualidade em toda a cadeia produtiva, a começar pelo setor industrial. Nesse contexto, o programa APPCC (Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle) tem papel importante, pois foi desenvolvido para controlar perigos ao consumidor, dentre eles os microbiológicos, através do monitoramento de microrganismos patogênicos ou dos indicadores de qualidade (RODRIGUES et al., 2008). No entanto, a utilização de técnicas tradicionais para análises de microrganismos patogênicos como *Salmonella* spp. e *E. coli* é difícil, onerosa e demorada (CASON & BERRANG, 2002; RISSATO et al., 2011, RISSATO et al., 2012), sendo mais adequada a pesquisa de microrganismos indicadores para o monitoramento do APPCC (RODRIGUES et al., 2008). Segundo Cason & Berrang (2002), os microbiologistas estão buscando por microrganismos indicadores, que podem sinalizar a presença de patógenos e permitir um melhor controle da contaminação bacteriana durante o processamento das aves. Contagem Total de bactérias, *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* e *Staphylococcus* sp. são alguns dos grupos de microrganismos frequentemente analisados nas carcaças nos abatedouros (ESCUDERO-GILETE et al. 2005).

A contagem de bactérias aeróbias mesófilas tem sido usada como indicador de qualidade, determinando se a limpeza, a desinfecção e o controle de temperaturas durante os processos industriais foram realizados de forma adequada, além de fornecer informações sobre a vida útil do produto (PENTEADO & ESMERINO, 2011). A presença de bactérias do grupo dos coliformes, cujo habitat é o trato intestinal do homem e dos animais, indica contaminação de origem ambiental e fecal nos produtos, já a presença de alto número de bactérias do grupo dos coliformes fecais em alimentos é indicativo da presença de patógenos intestinais, visto que a população deste grupo é constituída de alta proporção de *E. coli*. (CARVALHO et al., 2005).

Devido ao exposto acima, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) determina que as carcaças de aves coletadas antes e após o chiller tenham sua

qualidade microbiológica avaliada pela análise de mesófilos e enterobactérias (BRASIL, 2003; 2007).

2.2 Sistema de lavagem de carcaças

As bactérias, incluindo patógenos, que entram nas plantas abatedouras com os frangos, são contaminantes potenciais dos equipamentos, o que pode resultar na contaminação cruzada das carcaças à medida que essas se movem pela fábrica (BERRANG & BAILEY, 2009). Outra grande fonte de contaminação das carcaças é a ruptura do trato gastrintestinal durante as etapas da evisceração, que acabam por contaminar externa e/ou internamente as carcaças com material fecal visível e também com microrganismos que podem ser patogênicos.

Para que os abatedouros brasileiros pudessem atender ao critério de “tolerância zero” para contaminação gastrintestinal visível na entrada do pré-chiller, a única opção até o momento era o refile (Apêndice A). Buege & Ingham (2003) definem o refile como “parte usual dos processos de abate, efetiva em remover debris e bactérias a eles associadas. Não costuma ser considerado uma “intervenção” porque se trata de um processo pontual dirigido apenas para o material visível, enquanto a contaminação bacteriana permanece”.

Alguns autores afirmam que não existe correlação significativa entre a contaminação visível e a contagem de microrganismos aeróbios ou patógenos (BILGILI et al., 2002; FLETCHER & CRAIG, 1997; STEFANI et al. 2014). De acordo com Stefani et al. (2014), “nem toda a contaminação vista nas carcaças representa contaminação microbiana. A contaminação visível pode, frequentemente, ser causada pela presença de muco e epitélio gastrintestinal e não reflete a presença de grande número de microrganismos”. Também Bilgili et al. (2002) demonstraram que a presença de partículas de conteúdo gástrico (provenientes do proventrículo e moela) nas carcaças antes ou depois do chiller não influenciou as contagens de microrganismos mesófilos aeróbios, *Escherichia coli*, *Campylobacter* spp. e *Salmonella* spp., concluindo que não existe base científica para o uso da presença de ingesta nas carcaças durante o processo como padrão de segurança alimentar.

A lavagem das carcaças como alternativa ao refile à faca no processamento de aves é permitida nos Estados Unidos desde 1978, quando estudos mostraram a equivalência dos dois sistemas em remover a contaminação fecal (BASHOR et al., 2004). Os lavadores são efetivos

em remover contaminação fecal visível (BLANKENSHIP et al., 1975) e provavelmente reduzem a contagem e a incidência da maioria dos patógenos (SMITH et al. 2005).

Vários estudos têm demonstrado claramente a redução da carga bacteriana, sem promover contaminação cruzada (SMITH et al., 2005), quando as carcaças com contaminação fecal são lavadas imediatamente após a ocorrência da contaminação (CASON & BERRANG, 2002). Os lavadores foram capazes de remover e/ou reduzir a prevalência de microrganismos como *Campylobacter* (BASHOR et al., 2004; POWEL et al., 1995; ROSENQUIST et al., 2006; SMITH et al., 2005), *Salmonella* (SMITH et al., 2005), coliformes totais e fecais (POWEL et al., 1995; STEFANI et al., 2014), Contagem Padrão em Placa, *E. coli*, *Staphylococcus* (POWEL et al., 1995).

Blankenship et al. (1975) encontraram diferença significativa entre as médias de Contagem Total em Placas (TPC) e enterobactérias entre as carcaças que passaram pela inspeção e as que foram condenadas por contaminação fecal interna sendo possível, dessa forma, distinguir microbiologicamente as duas classes de carcaças. Entretanto, as carcaças condenadas por contaminação interna e que foram lavadas por spray de água (aproximadamente 200 mL por carcaça) antes da lavagem final, tiveram contagens de *Salmonella* e *Clostridium* semelhantes às daquelas que passaram pela inspeção.

Maior frequência de *Salmonella spp.* após o chuveiro de lavagem das carcaças, antes do chiller, foi encontrada por Von Rückert et al. (2009). No entanto, sua pesquisa foi realizada antes da publicação da Resolução N.4, em 2011. Dessa forma, provavelmente o lavador avaliado não seja do mesmo tipo daqueles empregados em substituição ao sistema de refile e não controle os parâmetros determinados pela referida legislação, o que poderia determinar uma melhor eficiência do equipamento. Os autores afirmam ainda que “a eficiência dos jatos com pressão e direcionamento adequados determinará a sua capacidade de descontaminação das carcaças”.

Entretanto, mesmo o mais efetivo lavador, apenas removerá parte da contaminação e isso pode ser atribuído à adesão irreversível das bactérias fecais à superfície da pele (NOTERMANS et al., 1980). Talvez por isso, em outros estudos não tenha havido redução significativa nas contagens de coliformes e *E. coli* (NORTHCUTT et al., 2003; SMITH et al., 2005) e a frequência de *Salmonella* tenha sido 1% maior nas carcaças reprocessadas (POWEL et al., 1995). Buege & Ingham (2003) também advertem para que se tome cuidado com o spray das carcaças que estão sendo lavadas, a fim de evitar a contaminação cruzada com as demais.

A lavagem resulta em menos carcaças sendo removidas da linha, melhora o conceito de Boas Práticas de manter o produto se movendo rápido ao longo da linha de processamento e leva as carcaças mais rapidamente ao chiller sem efeitos adversos na qualidade microbiana de modo geral ou na presença de bactérias patogênicas (FLETCHER & CRAIG, 1997). Segundo Todd (1980), as carcaças devem ser completamente lavadas e rapidamente resfriadas em chiller.

Bons lavadores podem lavar eficientemente carcaças com contaminação visível, reduzindo em 73 a 84% a necessidade de remoção das carcaças da linha para reprocesso em áreas paralelas. Embora o processamento na própria linha pela lavagem não remova toda a contaminação visível, isso pode resultar em significativa redução no número de carcaças que atualmente são removidas para fora do processo, não prejudicando a qualidade microbiológica delas. Esse sistema pode ser de grande valia no desenvolvimento de futuras aplicações do APPCC, onde a inspeção de contaminação visual seria movida para a entrada do pré-chiller. Dessa forma, carcaças visualmente contaminadas poderiam não ser removidas da linha no momento da inspeção oficial e seguir pela evisceração até o lavador de carcaças, localizado antes da avaliação visual de contaminação, antes da entrada no chiller (FLETCHER & CRAIG, 1997).

Stefani et al. (2014) demonstraram que a associação dos dois métodos de remoção da contaminação (refile e lavagem) determinou piores resultados microbiológicos nas carcaças quando comparados com a lavagem isoladamente, concluindo que a lavagem deve ser o tratamento de escolha para a descontaminação de carcaças de aves. Isso sugere que aquelas carcaças que já tenham passado pelo refile no Departamento de Inspeção Final (DIF) e que tenham sido novamente contaminadas e posteriormente lavadas podem ter qualidade sanitária inferior ao entrar no chiller.

No Brasil, esse sistema (Apêndice B) só pode ser implantado após a passagem das carcaças pelo DIF, na etapa de Revisão das Carcaças, imediatamente antes do monitoramento do Ponto Crítico de Controle 1 Biológico (PCC 1B) da evisceração. Os Apêndices C e D apresentam um esquema demonstrando a diferença nas linhas de evisceração antes (sistema de refile) e depois da implantação do lavador de carcaças, respectivamente, conforme o posicionamento preconizado pelo MAPA.

2.3 Parâmetros dos lavadores

Métodos de lavagem mais eficientes podem melhorar a qualidade microbiológica das carcaças contaminadas de modo a torná-las indistinguíveis das carcaças que passaram pela inspeção (BLANKENSHIP et al., 1975). Segundo Saba et al. (2010), a redução da população microbiana superficial da carcaça pela lavagem depende da pressão, da temperatura, do tempo e do volume de água gasto na lavagem, além da utilização ou não de sanitizantes.

Escudero-Gilete et al. (2005), afirmam que a contaminação decresce significativamente devido ao efeito da lavagem das carcaças e da pressão exercida. O tempo e a quantidade de água não afetam as variáveis microbiológicas. Buege & Ingham (2003), recomendam que os bicos aspersores sejam moderadamente largos e que se utilize elevado nível de pressão e Notermans et al. (1980), afirmam que a remoção da contaminação fecal depende parcialmente do desenho e da distribuição dos bicos aspersores utilizados. Entretanto, alguns autores relatam não haver encontrado diferença nas contagens bacterianas entre as diversas pressões de água utilizadas (BOLDER, 1997; SMITH et al., 2005).

A lavagem é uma importante fase no processo produtivo devido à sua utilidade e ao seu custo, visto que a água é um recurso escasso e caro e nessa etapa ela é consumida em grande quantidade (ESCUADERO-GILETE et al., 2005). De acordo com Mulder & Bolder (1981), do ponto de vista microbiológico, altos níveis de consumo de água são desnecessários nos lavadores. Bashor et al. (2004) mensuraram o consumo de água na lavagem de carcaças em quatro abatedouros dos Estados Unidos. A vazão variou de 4,1 a 9,1 litros por carcaça, nas plantas que utilizavam sistema linear com três lavadores, e foi de 2,2 litros por carcaça na planta que utilizava apenas um lavador. Dentre as três plantas que empregavam sistema linear de lavagem, a que apresentou melhor eficiência na descontaminação das carcaças foi aquela que utilizava a maior pressão e a menor vazão de água.

Portanto, devido à escassez dos dados apresentados, mais estudos são necessários no sentido de identificar a influência de cada um dos parâmetros dos lavadores (pressão, vazão, número e direcionamento dos bicos e tempo de permanência das carcaças) e servir de embasamento para futuras legislações a fim de otimizar a operação, eliminando as contaminações visíveis, reduzindo a carga microbiana e diminuindo o consumo de água ao mínimo necessário para uma boa operação de lavagem. O Apêndice E (Estudos adicionais sobre a estabilização do sistema de lavagem e a influência da pressão e da vazão de água na

descontaminação) apresenta uma breve análise sobre a ação desses dois parâmetros nas contagens microbiológicas das carcaças.

2.4 Outros métodos de descontaminação das carcaças

Várias estratégias têm sido aplicadas ao longo de todo o processo produtivo a fim de controlar os patógenos de origem alimentar e todos esses tratamentos possuem vantagens e desvantagens (HUGAS & TSIGARIDA, 2008). Alguns já são aprovados e amplamente utilizados nos Estados Unidos (BOLDER et al., 1997). Apenas recentemente a legislação europeia permitiu o uso de descontaminantes químicos para a remoção bacteriana da superfície das carnes (HUGAS & TSIGARIDA, 2008). Já a legislação brasileira permite apenas a cloração da água e em baixos níveis. Determina que a água potável utilizada no processamento apresente cloração máxima de 1 ppm de cloro livre (BRASIL, 1952), e a água de renovação dos resfriadores até 5 ppm de cloro livre (BRASIL, 1998).

É importante aplicar certas “intervenções” nas carcaças durante os procedimentos de evisceração a fim de remover ou inativar eficientemente a contaminação bacteriana e melhorar a segurança da carne (BUEGE & INGHAM, 2003). Vários tipos intervenções vêm sendo estudados, especialmente no exterior, e alguns já são aplicados na rotina dos abatedouros. Tais tratamentos incluem refile, lavagem de carcaças, rinsagem com água quente, pasteurização por vapor, cloro e derivados, ácidos orgânicos (lático, acético, cítrico, fumárico), TSP (fosfato trisódico), sorbatos e benzoatos, bacteriocinas (nisina), bacteriófagos, culturas starter (*lactobacilli* e *lactococci*), peróxido de hidrogênio, ozônio, pressão hidrostática ultra-alta, irradiação gama, eletricidade por campo pulsado, energia ultrassônica e luz Ultra-Violeta, amônia quaternária (ANDERSON et al., 1977b; BOLDER et al., 1997; BUEGE & INGHAM, 2003; HUGAS & TSIGARIDA, 2008). O tratamento químico antibacteriano mais utilizado para carcaças nas indústrias é o ácido lático (BUEGE & INGHAM, 2003). Anderson et al. (1977a), buscando determinar os melhores efeitos entre lavagem e sanitização para a desinfecção de carnes, obtiveram redução de 99,9% da carga microbiana nas amostras lavadas com 24,5 litros de água por minuto e posteriormente sanitizadas com ácido acético a 3%.

Northcutt et al. (2003) afirmam que a redução das contagens bacterianas das carcaças através do uso de lavadores pode ser melhorada com uma cloração mais consistente da água.

Nas plantas abatedouras americanas, geralmente utiliza-se 20 ppm ou mais de cloro na água comum e 50 ppm na água do chiller. Este cloro é adicionado na água para prevenir a contaminação cruzada entre as carcaças e os equipamentos. O objetivo é adicionar cloro suficiente para permitir a manutenção de cloro residual livre. Quando presente, ele mantém sua atividade antimicrobiana por um longo período de tempo, controlando o crescimento e a proliferação bacteriana na água tratada. No entanto, o tempo de contato e a carga orgânica dos sistemas de lavagem de aves são amplamente variáveis (BASHOR et al. 2004).

De acordo com Bolder et al. (1997), a aspersão de água quente pode ser facilmente introduzida nos lavadores internos e externos de carcaça no fim das linhas de evisceração, matando ou removendo as bactérias ainda não aderidas. A efetividade na redução bacteriana aumenta com o aumento da temperatura da água (HUGAS & TSIGARIDA, 2008). Entretanto, os diferentes níveis de cloro ou a elevação da temperatura da água de lavagem não influenciaram, em condições experimentais, nas contagens de *Salmonella* e *Campylobacter* (NORTHCUTT et al., 2005).

As plantas processadoras de aves dos Estados Unidos empregam comumente várias etapas combinadas de lavagem de carcaças nas suas linhas entre o pós-sangria e a entrada no pré-chiller. Berrang & Bailey (2009) estudaram cinco etapas de lavagem com água ou com escova, individual e em conjunto, ao longo das linhas de processamento e concluíram que os benefícios de cada etapa de lavagem individualmente não são tão evidentes quanto aqueles verificados com os lavadores combinados em série. Notermans et al. (1980) apontam que o aumento da contaminação por *Enterobacteriaceae* incluindo algumas *Salmonellas* pode ser prevenido pela utilização da lavagem das carcaças em diversos estágios da evisceração. Vai além, afirmando que se as carcaças forem lavadas apenas no final da evisceração, os números de *Enterobacteriaceae* não serão reduzidos aos níveis iniciais e a contaminação por *Salmonella* será menos eficientemente removida.

No entanto, os sistemas de lavagem de carcaças de quatro abatedouros foram avaliados por Bashor et al. (2004) com relação à sua capacidade de eliminação ou redução das contagens de *Campylobacter*. Os abatedouros A, B e C utilizavam sistemas de lavagem compostos por três lavadores, e o abatedouro D, apenas um lavador de carcaças com água quente (63°C). Além disso, os abatedouros C e D também utilizavam descontaminantes TSP (Trisodium phosphate) e ASC (Acidified Sodium Chlorite), respectivamente, após as lavagens. O abatedouro D demonstrou bons resultados na descontaminação das carcaças, o que os pesquisadores atribuíram à utilização de água quente, uma vez que essa planta utilizava apenas um lavador. Também verificaram que um único lavador com água clorada foi mais

eficiente que os sistemas que empregaram três lavadores em linha e que o uso dos sanitizantes foi ainda mais eficiente na descontaminação das carcaças sugerindo, então, que o melhor método a ser utilizado é o que emprega um único lavador de carcaças com água clorada associado ao uso de sanitizantes.

Apesar de todas as possíveis vantagens do emprego de descontaminantes no abate de aves, há que se ter em mente que a descontaminação pode ser efetiva para reduzir a contaminação bacteriana das carcaças, mas não deve ser utilizada como a principal medida. Só deve ser aplicada como medida adicional para reduzir ainda mais os níveis e a prevalência dos microrganismos patogênicos, após a aplicação das Boas Práticas de Fabricação (BPF) e não como substituta destas (HUGAS & TSIGARIDA, 2008).

Tendo-se em vista as tantas possibilidades de intervenção no processo produtivo e nas próprias carcaças para a melhoria dos resultados microbiológicos e conseqüentemente da inocuidade dos alimentos, é necessário que o país estude as novas técnicas de descontaminação e atualize a sua legislação, modernizando e trazendo maior competitividade ao setor produtivo, além de aprimorar as técnicas de inspeção.

3 CAPÍTULO I

Artigo submetido ao periódico Pesquisa Veterinária Brasileira em 25/09/2014 (ISSN 0100-736X)

Implantação do sistema de lavagem de carcaças como método de remoção da contaminação por mesófilos e enterobactérias nos abatedouros de aves do Rio Grande do Sul^I

Ronise F.R. Depner^{2*}, Luciana Pötter³, Leonardo W. Isolan⁴, Vivian Lucca² e Maristela Lovato²

ABSTRACT.- Depner R.F.R., Pötter L., Isolan L.W., Lucca V. & Lovato M. 2014. [Implementation of a carcass wash system as a method of removing contamination in poultry slaughterhouses of Rio Grande do Sul.] Implantação do sistema de lavagem de carcaças como método de remoção da contaminação nos abatedouros de aves do Rio Grande do Sul. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 00(0):00-00. Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Laboratório Central de Diagnóstico de Patologia Aviária, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Av. Roraima 1000, Bairro Camobi, Santa Maria, RS 97105-900, Brazil. E-mail: ronisedepner@yahoo.com

The aim of this study was to evaluate the preliminary results of the implementation of a carcass wash system in poultry industries of Rio Grande do Sul State (RS), Brazil and compare these data with those obtained previously in the same companies before the system was implemented, determining whether the new system is equivalent or not to the traditional trimming method. Percentage data of total and partial condemnation, technical data of washers devices (pressure of water jet at the exit of the nozzles and water volume per carcass); and results of microbiological tests (aerobic mesophilic and Enterobacteriaceae) were collected from five slaughterhouses which already employ such system in RS. The total and partial condemnations, as well as the counts of mesophilic and Enterobacteriaceae were compared within each slaughterhouse before and after the implementation of the washing system, using the chi-square test. The response variables were correlated with each other and in function of the washing system, by Spearman correlation analysis, at 5% of probability.

^I Recebido em 25 de setembro de 2014.

Aceito para publicação em

² Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Laboratório Central de Diagnóstico de Patologia Aviária (LCDPA), Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Centro de Ciências Rurais (CCR), Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Av. Roraima 1000, Prédio 44, sala 5152. Bairro Camobi, Santa Maria, RS 97105-900, Brasil. *Autor para correspondência: ronisedepner@yahoo.com

³ Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Departamento de Zootecnia, CCR-UFSM, Av. Roraima 1000, Prédio 96, sala 19. Bairro Camobi, Santa Maria, RS 97105-900.

⁴ Centro de Diagnóstico e Pesquisa em Patologia Aviária (CDPA), Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Av. Bento Gonçalves 8824, Agronomia, Porto Alegre, RS 91540-000, Brasil.

Additionally, correlation tests were performed in order to verify whether or not the different pressures and flow rates of washers had influenced on carcasses decontamination. The total condemnations differed among treatments at the slaughterhouse 3, and partial condemnations at slaughterhouses 2, 3, and 4. The water pressure at the end of the nozzles ranged from 3.1 kgf/cm² to 16.3 kgf/cm² and the water flow rate from 0.4 to 1.5L per carcass. The levels of carcasses contamination did not differ within the two removal systems of visible contamination, with the exception of Enterobacteriaceae counts in slaughterhouse 3, which were reduced. There was no correlation between the partial condemnations and mesophilic and Enterobacteriaceae counts on carcasses. On the other hand, total condemnations were correlated positively with Enterobacteriaceae (R=0.32), but there was no correlation with mesophilic. It was observed a positive correlation between the water pressure and the percentage reduction of mesophilic (R=0.32) and Enterobacteriaceae (R=0.40). The water flow was also positively correlated with the reduction percentage of mesophilic (R=0.25) and Enterobacteriaceae (R=0.28). Therefore, it can be concluded that systems of trimming and carcasses washing are equivalent in microbiological aspects and that the washing system is superior when compared with trimming system, on an operational point of view. Additional research is necessary to establish standards of acceptable water volume and pressure for internal and external washing of carcasses, aiming to refine the method.

INDEX TERMS: Slaughterhouse, condemnations, gastrointestinal contamination, broiler, trimming of carcasses.

RESUMO.- O objetivo deste trabalho foi avaliar os primeiros resultados da implantação da lavagem de carcaças nas indústrias avícolas do estado do Rio Grande do Sul e comparar esses dados com os obtidos nas mesmas empresas previamente à mudança do sistema, determinando se o novo sistema é equivalente ou não ao método tradicional de refilê. Coletaram-se os percentuais de condenações total e parcial realizadas pelos SIFs, dados técnicos dos lavadores (pressão do jato de água na saída dos bicos aspersores e volume de água por carcaça) e os resultados de análises microbiológicas nos cinco abatedouros que já implantaram o sistema no estado. As condenações totais e parciais, assim como as contagens de mesófilos e enterobactérias, foram comparadas dentro de cada frigorífico antes e após a implantação do sistema de lavagem por meio do teste do qui-quadrado. As variáveis resposta foram correlacionadas entre si e em função do sistema de lavagem por meio da análise de correlação de Spearman, a 5% de probabilidade. Também foram realizados testes de correlação a fim de verificar se as diferentes pressões e vazões de água dos lavadores exerceram influência na descontaminação das carcaças. As condenações totais diferiram entre os sistemas no Abatedouro 3 e as condenações parciais nos Abatedouros 2, 3, e 4. A pressão de água na saída dos bicos aspersores variou de 3,1 kgf/cm² até 16,3 kgf/cm² e a vazão de água de 0,4 até 1,5L por carcaça. Os níveis de contaminação das carcaças não diferiram nos dois sistemas de remoção da contaminação visível, com exceção das contagens de enterobactérias do Abatedouro 3, que reduziram. Não houve correlação entre as condenações parciais e as contagens de mesófilos e enterobactérias das carcaças. Já as condenações totais se correlacionaram positivamente com as enterobactérias (R=0,32) e não houve correlação com os mesófilos. Observou-se correlação positiva entre a pressão da água e os percentuais de redução de mesófilos (R=0,32) e de enterobactérias (R=0,40). A vazão de água também se correlacionou positivamente com os percentuais de redução de mesófilos (R=0,25) e de enterobactérias (R=0,28). Pode-se concluir que os sistemas de refilê e de lavagem de carcaças são equivalentes no aspecto microbiológico e que o sistema de lavagem é superior ao de refilê do ponto de vista operacional. Estudos adicionais são necessários a fim de estabelecer padrões

mínimos aceitáveis de volume e pressão de água para a lavagem interna e externa das carcaças, a fim de aprimorar o método.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Abatedouro, condenações, contaminação gastrintestinal, frango de corte, refile de carcaças.

INTRODUÇÃO

O frango brasileiro está presente em mais de 150 países e o Brasil é o maior exportador mundial de carne de frango desde 2004 (UBABEF 2012), exportando 3.918.000 toneladas do produto em 2013. Apesar do volume expressivo de exportações, 68% da produção brasileira de frango é consumida internamente e apenas 31,6% é destinada ao Mercado Externo. A produção nacional ocupa o terceiro lugar no ranking mundial, com 12.308.000 toneladas, sendo superada apenas pelos Estados Unidos e pela China. O Rio Grande do Sul é o terceiro maior produtor do Brasil, com 14,56% da produção nacional, ficando atrás do Paraná (31,12%) e de Santa Catarina (16,66%). Também é o terceiro maior exportador, sendo responsável por 18,28% das exportações nacionais (UBA 2014). No entanto, parte da produção nacional é perdida dentro das indústrias avícolas, deixando de chegar à mesa do consumidor e gerando prejuízos ao setor. A contaminação gastrintestinal/biliar visível é uma das maiores responsáveis por tais perdas, devido às condenações determinadas pelo Serviço de Inspeção Federal nas linhas de inspeção ou pela própria empresa, especialmente na etapa de revisão das carcaças e no monitoramento do Ponto Crítico de Controle Biológico (PCC 1B) na evisceração. Giotto et al. (2008) identificaram a contaminação como a maior causa de condenações parciais e a segunda maior causa de condenações totais no abate de frangos. Silva & Pinto (2009), Ferreira et al. (2012) e Paschoal et al. (2012) também relacionaram essa como uma das principais causas de condenações nos seus estudos.

O Regulamento Técnico da Inspeção Tecnológica e Higiênico-Sanitária de Carne de Aves determina que as carcaças ou partes que se contaminarem por fezes durante a evisceração ou em qualquer outra fase dos trabalhos devem ser condenadas. Por outro lado, deixa claro, no item 4.4.19, a importância da realização da lavagem externa e interna das carcaças após a evisceração e anterior ao acesso das mesmas aos tanques de resfriamento, determinando o volume mínimo de água a ser utilizado e a restrição à manipulação das

carcaças após a aspersão de água e antes do acesso ao chiller. Também proíbe a entrada no pré-chiller de carcaças com qualquer tipo de contaminação visível (Brasil 1998).

A Circular 668/2006 (Brasil 2006), que define as diretrizes para a preparação do plano de Análises de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) e estabelece um modelo genérico para o processo de abate de aves, determina o estabelecimento do PCC 1B posterior à etapa de revisão das carcaças na sala de evisceração. Esse PCC deve ter como limite crítico “tolerância zero para contaminação externa e interna visível por conteúdo gastrintestinal e biliar nas carcaças que passaram pela etapa de revisão”. No entanto, não especifica qual ação corretiva deve ser tomada para a eliminação das contaminações nos casos de desvios desse PCC.

A lavagem de carcaças é utilizada em países como Estados Unidos, Canadá e nos Estados-membros europeus. Também é indicada, e aceita como equivalente ao sistema de refile, por organismos internacionais como *Codex Alimentarius*. Trata-se de um sistema que lava as carcaças externa e internamente por meio de bicos aspersores com pressão e vazão de água controladas. Assim, além da contaminação visível, que tem como padrão a sua ausência, a lavagem pode contribuir para a redução das contagens bacterianas e para a melhoria da qualidade do produto final (USDA 1998, Hugas & Tsigarida 2008, Codex Alimentarius 2011, CFIA 2013).

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 ou sobre a deterioração potencial do alimento, além de poderem indicar condições sanitárias inadequadas de processamento, produção ou armazenamento (Franco & Landgraf 2008). Por esse motivo, o MAPA determina que as carcaças de aves coletadas antes e após o chiller tenham sua qualidade microbiológica avaliada pela análise de mesófilos e enterobactérias (BRASIL, 2003; 2007).

A Resolução n.4 (Brasil 2011) autoriza o emprego do sistema de lavagem de carcaças no processo de abate de aves para remover a contaminação por conteúdo gastrintestinal visível (não se aplica à remoção de conteúdo biliar) presente nas superfícies internas e externas das carcaças anterior à etapa de pré-resfriamento, como alternativa à prática do refile. Prevê ainda, a necessidade de revalidação do plano de APPCC pelas empresas que quiserem adotar o sistema e que a lavagem das carcaças não pode ser compensatória à execução indevida dos Procedimentos Sanitários Operacionais (PSO). Também determina que as empresas informem alguns parâmetros relacionados ao processo, como o tempo de exposição das carcaças à lavagem, o volume e a pressão de água utilizados e o número e o

direcionamento dos bicos aspersores. Sua publicação gerou insegurança quanto a possíveis prejuízos à inocuidade do produto. Já a expectativa do setor industrial é de reduzir custos operacionais e as perdas de carne por contaminação sem, contudo, prejudicar a qualidade sanitária do produto.

O objetivo deste trabalho foi avaliar os primeiros resultados da implantação da lavagem de carcaças nas indústrias avícolas do estado do Rio Grande do Sul e comparar esses dados com os obtidos nas mesmas empresas previamente à mudança do sistema, determinando se o novo sistema é equivalente ou não ao método tradicional de refile (remoção à faca e condenação das partes contaminadas).

MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletados os dados gerados pelos Serviços de Inspeção Federal (SIF) do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) das cinco empresas de abate de frangos de corte que já implantaram o sistema de lavagem de carcaças no estado. Juntas, essas empresas representam 32% do total de frangos abatidos no RS. Os abatedouros foram identificados por numeração de 1 a 5. Em todas as indústrias, o lavador está instalado na etapa de revisão das carcaças, após o Departamento de Inspeção Final (DIF) e imediatamente antes do monitoramento do PCC 1B.

A fim de comparar os dois sistemas de remoção de contaminação gastrintestinal visível, refile e lavagem das carcaças, planilhas confeccionadas no Microsoft Excel foram enviadas a cada SIF correspondente às cinco empresas. Coletaram-se os percentuais de condenações total e parcial realizadas pelos SIFs, dados técnicos dos lavadores (pressão do jato de água na saída dos bicos aspersores e volume de água por carcaça) e os resultados de análises microbiológicas (realizadas em laboratórios oficiais ou credenciados e conforme metodologia oficial) do mesmo período. Pesquisaram-se ainda possíveis alterações realizadas nos processos de abate e evisceração concomitantemente à implantação dos lavadores de carcaças. Das cinco plantas estudadas, apenas o Abatedouro 3 realizou alterações no processo paralelamente à implantação da lavagem de carcaças, substituindo o sistema de evisceração manual pela mecanizada e aumentando a velocidade de abate de 8.000 aves/hora para 10.000 aves/hora. Os demais abatedouros não realizaram quaisquer alterações no processo.

O período avaliado variou de acordo com a data de implantação do novo sistema em cada empresa. Obtiveram-se os dados referentes aos últimos seis meses do sistema de refile e de todos os meses subsequentes à instalação do lavador até fevereiro de 2014. No Abatedouro 1 foram analisados dados referentes a 27 meses de produção. No Abatedouro 2, 22 meses e nos Abatedouros 3, 4 e 5, 23, 16 e 21 meses, respectivamente.

Os dados microbiológicos escolhidos para a comparação da eficácia dos dois sistemas foram aqueles coletados rotineiramente pelos SIFs para atender o “anexo IV B” da Circular 12/07/DICAO/CGI/DIPOA (Brasil 2007), que estabelece a coleta mensal de uma carcaça antes e outra depois do chiller para as análises de aeróbios mesófilos e enterobactérias, ambas expressas em Unidades Formadoras de Colônia por grama (UFC/g). Os dados avaliados nesse trabalho são os correspondentes às carcaças “antes do chiller” por serem coletadas imediatamente após as etapas de revisão das carcaças e do PCC 1B e antes de entrarem no sistema de pré-resfriamento, sem que ocorra nenhuma manipulação desde o refile ou a lavagem até o momento da coleta. Todos os resultados das análises microbiológicas foram transformados de logaritmo na base 10 para número absoluto. A fim de possibilitar a análise estatística, assumiu-se o valor numérico 20 para os resultados que foram expressos nos laudos como <40 ou >10 e <40 e para os resultados expressos como <10 , assumiu-se o valor 5.

As condenações totais e parciais, assim como as contagens de mesófilos e enterobactérias, foram comparadas dentro de cada frigorífico antes (refile) e após a implantação do sistema de lavagem por meio do teste do qui-quadrado. As variáveis resposta foram correlacionadas entre si e em função do sistema de lavagem por meio da análise de correlação de Spearman, a 5% de probabilidade, utilizando o programa estatístico SAS, versão 9.2.

Também foi calculado o percentual de redução das contagens de mesófilos e de enterobactérias após a implantação do sistema de lavagem das carcaças em cada abatedouro para, posteriormente, realizar testes de correlação a fim de verificar se as diferentes pressões e vazões de água dos lavadores exerceram influência na descontaminação das carcaças.

RESULTADOS

O Quadro 1 apresenta os percentuais de condenações totais e parciais por contaminação gastrointestinal/biliar encontrados nos períodos correspondentes a cada sistema de remoção das

contaminações visíveis. Pode-se observar que as condenações totais somente diferiram entre os sistemas no Abatedouro 3 e as condenações parciais diferiram nos Abatedouros 2, 3, e 4.

As diferenças existentes entre os lavadores de cada planta estão demonstradas no Quadro 2. A pressão de água na saída dos bicos aspersores variou de 3,1 kgf/cm² até 16,3kgf/cm² e a vazão de água de 0,4 até 1,5L por carcaça, evidenciando que não há padronização entre os lavadores instalados.

No Quadro 3 observa-se que os níveis de contaminação das carcaças (mesófilos e enterobactérias) não diferiram nos dois sistemas de remoção da contaminação visível em todo o período avaliado, com exceção das contagens de enterobactérias do Abatedouro 3, que foram menores na lavagem. Comparando-se os dados de condenações totais e parciais (Quadro 1) com os indicadores de contaminação microbiológica (Quadro 3), pode-se afirmar que não houve correlação entre as condenações parciais e as contagens de mesófilos e enterobactérias das carcaças ($P>0,05$). Já as condenações totais se correlacionaram positivamente com as enterobactérias ($R=0,32$) e não houve correlação com os mesófilos ($P>0,05$).

Observou-se correlação positiva entre a pressão da água e os percentuais de redução de mesófilos ($R=0,32$; $P<0,05$) e de enterobactérias ($R=0,40$; $P<0,05$). Nos testes de correlação da vazão, verificou-se que o volume de água também se correlacionou positivamente com os percentuais de redução de mesófilos ($R=0,25$; $P<0,05$) e de enterobactérias ($R=0,28$; $P<0,05$).

DISCUSSÃO

O percentual de condenações por contaminação gastrintestinal/biliar reflete a quantidade de contaminação gerada em cada abatedouro até a passagem das carcaças pelo DIF, pois toda a contaminação visível que chega ao serviço de inspeção é imediatamente removida pelo método de refile. No entanto, a separação das vísceras da carcaça e a remoção do esôfago e traqueia ocorrem após a passagem pelo DIF e essas etapas podem resultar em extravasamento de conteúdo gastrintestinal, gerando contaminação das carcaças, caso não sejam realizadas corretamente. Daí a necessidade do refile ou da lavagem, impedindo que as carcaças entrem no chiller com contaminação gastrintestinal visível.

No sistema tradicional de remoção da contaminação gastrintestinal visível, o refile, as carcaças contaminadas têm suas partes afetadas cortadas e condenadas. Além das perdas

econômicas advindas das condenações e da depreciação das carcaças que deixam de ser comercializadas inteiras, o processo envolve diversos operadores, que devem estar bem instruídos para a identificação correta das contaminações e para evitar contaminação cruzada entre as carcaças pelas próprias mãos e pelo material de trabalho. Além disso, frequentemente, as carcaças precisam ser removidas da linha de abate e colocadas em linha paralela para que sejam recortadas adequadamente e posteriormente recolocadas na linha principal. Essa etapa aumenta a manipulação e o tempo de processamento das carcaças, podendo implicar em multiplicação microbiana. As velocidades das linhas de abate tendem a aumentar em função da mecanização das atividades e podem comprometer a acurácia dos exames visuais por parte dos operadores, exigindo mais funcionários para a realização da tarefa e, às vezes, prejudicando a qualidade visual e microbiológica das carcaças que entram no chiller. Backes & Stefani (2013) citam a maior exposição dos músculos na carcaça como outro problema do refile, já que a pele é removida para a retirada da contaminação. A exposição do músculo favorece a aderência de microrganismos e a consequente veiculação destes para outras carcaças. Assim, é retirada a contaminação visível da carcaça, mas a contaminação microbiana pode aumentar.

O sistema de lavagem de carcaças traz algumas vantagens que podem resultar em maior segurança dos alimentos. O procedimento reduz o número de funcionários na etapa de revisão de carcaças, os riscos de falhas humanas na identificação de contaminações visíveis e a manipulação no processo de abate (Mendes 2012). Também mantém um fluxo contínuo nas linhas de evisceração e reduz o risco de contaminação pela eliminação de facas e luvas nessa etapa. Além das vantagens operacionais, esse sistema elimina perdas econômicas por condenação de partes que poderiam ser aproveitadas e pela depreciação de carcaças que seriam comercializadas inteiras, além de diminuir os custos pela redução do número de funcionários na revisão.

De acordo com Mendes (2012), 2% da produção nacional de frango é recortada pelo método de refile. Grande parte dessa perda poderia ser evitada pelo sistema de lavagem de carcaças. No entanto, um pequeno percentual dos descartes por contaminação é de origem biliar e, nesse caso, precisam ser refilados, pois os lavadores não são capazes de remover esse tipo de contaminação.

Avaliando-se os dados do Quadro 1, verificou-se que o percentual de condenações totais não diferiu entre os períodos correspondentes ao sistema de refile e de lavagem de carcaças nos Abatedouros 1, 2, 4 e 5. Também as condenações parciais não diferiram nos Abatedouros 1 e 5. Isso demonstra que a geração de contaminação visível se manteve estável

nos dois processos. As reduções das condenações totais e parciais observadas no Abatedouro 3 podem estar relacionadas à substituição da evisceração manual pela automática, que foi realizada conjuntamente à instalação do lavador. Provavelmente a alteração no método de evisceração resultou em menor geração de contaminação visível. Já os maiores percentuais de condenações parciais dos Abatedouros 2 e 4 podem ter ocorrido por fatores internos dos abatedouros, resultando em maior geração de contaminação visível, como alterações no período de jejum das aves ou problemas no ajuste dos equipamentos, uma vez que esses estabelecimentos informaram não ter realizado nenhuma alteração no seu fluxo ou velocidade de abate paralelamente à implantação do sistema de lavagem de carcaças.

O fato de não haver diferença nos níveis de contaminação das carcaças nos dois sistemas avaliados (com exceção das enterobactérias do Abatedouro 3, que reduziram) demonstra a equivalência entre eles do ponto de vista microbiológico. A lavagem de carcaças com água é rotineiramente usada em plantas processadoras de carne em países da Europa e tem se mostrado eficiente em remover contaminações visíveis como sujeiras, penas e outros detritos (Hugas & Tsigarida 2008). Uma significativa redução nas contagens totais foi obtida através da lavagem das carcaças com alta pressão antes da evisceração sugerindo que tal método deve ser empregado na lavagem final das mesmas, antes do chiller (Bolder 1997). No estudo conduzido por Backes & Stefani (2013) o refile apresentou maior contagem de aeróbios mesófilos, coliformes totais e *Salmonella* spp. quando comparado com a lavagem, levando os autores a concluírem que esta é mais eficiente. No entanto, o uso da lavagem por spray pode trazer algumas desvantagens se a validação e a verificação da metodologia aplicada não forem seguidas. Altas pressões podem resultar na penetração das bactérias no tecido. Também pode ocorrer dispersão microbiana por meio de aerossóis, anulando os efeitos positivos da lavagem (Bolder 1997, Hugas & Tsigarida 2008).

A redução das contagens de enterobactérias verificada no Abatedouro 3 após a implantação da lavagem de carcaças pode ser explicada pela mudança do sistema de evisceração (de manual para automática) e/ou pela eficiência do lavador de carcaças dessa planta, que tem a maior pressão e a maior vazão de água dentre os avaliados.

Backes & Stefani (2013) não observaram diferença entre os grupos de carcaças com e sem contaminação aparente nas análises de mesófilos, coliformes totais, *Escherichia coli* e *Salmonella* spp., concluindo que a contaminação visível, muitas vezes, não é o maior problema. No presente estudo, também não se encontrou correlação entre o percentual de condenações totais e parciais (contaminações visíveis) com a contaminação das carcaças por mesófilos nem entre condenações parciais e enterobactérias. A não existência de correlação

entre as condenações e as contagens microbianas das carcaças fica clara quando se observa os dados dos Abatedouros 2 e 4. Mesmo havendo aumento nas condenações parciais (Quadro 1) após a implantação do sistema de lavagem das carcaças, não houve diferença nas contagens de mesófilos e enterobactérias (Quadro 3). Já a correlação positiva encontrada entre as condenações totais e as enterobactérias pode ser explicada pela ruptura do trato gastrointestinal e grande extravasamento de conteúdo, que costuma ocorrer nos casos de condenações totais, podendo resultar em contaminação cruzada com outras carcaças na linha de evisceração. Essa correlação pode ser evidenciada no Abatedouro 3 após a instalação do lavador, pois foi o único abatedouro em que houve redução nas condenações totais (Quadro 1) e também o único em que houve queda na contagem de enterobactérias (Quadro 3).

A correlação positiva encontrada entre a pressão da água na saída dos bicos aspersores e os percentuais de redução de mesófilos e de enterobactérias demonstra que, à medida que a pressão aumenta, aumenta também o percentual de redução de ambas as contagens. No Quadro 2, observa-se que o Abatedouro 3 apresentou a maior pressão de água dentre os lavadores instalados e, no Quadro 3, pode-se verificar que esse abatedouro foi o único que apresentou redução nas contagens de enterobactérias e também nas contagens de mesófilos, embora essas últimas não tenham diferença estatística. A mesma correlação foi identificada entre os valores de vazão de água e as contagens bacterianas, indicando que quanto maior o volume de água empregado na lavagem de cada carcaça, maior é a descontaminação das mesmas. Segundo Saba et al. (2010), a média aritmética das populações de microrganismos mesófilos, psicrotróficos, e de bolores e leveduras foi menor nas carcaças bovinas lavadas sob pressão de 3atm do que naquelas lavadas sem pressão. Von Rückert et al. (2009) afirmam que a eficiência dos jatos dos lavadores, com pressão e direcionamento adequados, determina a sua capacidade de descontaminação das carcaças. No entanto, chuveiros de lavagem de carcaças instalados após a depenagem e após a evisceração não exerceram efeito significativo na redução de aeróbios mesófilos, coliformes totais, coliformes termotolerantes e *Escherichia coli*, devido ao mau funcionamento dos mesmos, demonstrando a necessidade de outros estudos para avaliar a influência do ajuste da pressão e do direcionamento dos jatos d'água na eficácia dos lavadores (Rodrigues et al. 2008).

CONCLUSÃO

Tendo em vista que não houve diferença nas contagens de mesófilos e enterobactérias entre os dois sistemas de remoção da contaminação gastrointestinal visível nos abatedouros que não realizaram outras alterações no processo e considerando as vantagens operacionais que o sistema de lavagem de carcaças apresenta, pode-se concluir que os sistemas de refile e de lavagem de carcaças são equivalentes no aspecto microbiológico e que o sistema de lavagem é melhor que o de refile do ponto de vista operacional.

Por tratar-se de um sistema recentemente implantado no Brasil, estudos adicionais são necessários a fim de estabelecer padrões mínimos aceitáveis de volume e pressão de água para a lavagem interna e externa das carcaças, a fim de aprimorar o método.

Agradecimentos.- Ao SIPOA/RS do MAPA por ceder os dados para a pesquisa. À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de mestrado.

REFERÊNCIAS

- Backes R.G. & Stefani L.M. 2013. Redução microbiana em carcaças de frango de corte: estudo comparativo do refile e lavagem. Anais XIV Simpósio Brasil Sul de Avicultura, Chapecó, SC, p.34-56.
- Bolder N.M. 1997. Decontamination of meat and poultry carcasses. Trends Food Sci. Technol. 8:221-227.
- Brasil 1998. Portaria nº210 de 10 de novembro de 1998. Regulamento técnico da Inspeção Tecnológica e Higiênico-Sanitária de Carnes de Aves. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Diário Oficial da União, Brasília, DF, 26 de novembro de 1998.
- Brasil 2003. Instrução Normativa nº62 de 26 de agosto de 2003. Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Diário Oficial da União, Brasília, DF, 18 de setembro de 2003.
- Brasil 2006. Circular nº668/2006 de 19 de setembro de 2006. Diretrizes para preparação de Plano de APPCC (HACCP) para o processo de abate de aves. Coordenação Geral de

- Programas Especiais (CGPE). Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal (DIPOA). Secretaria de Defesa Agropecuária (SDA). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), Brasília, DF.
- Brasil 2007. Circular nº12/07/DICAO/CGI/DIPOA de 13 de abril de 2007. Padronização de procedimentos de controle da fiscalização de estabelecimentos produtores de carne de aves e ovos e das auditorias da DICAO/CGI/DIPOA nos estados - Aditamento da Circular 004/2007/DICAO/CGI/DIPOA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), Brasília, DF.
- Brasil 2011. Resolução nº4 de 4 de outubro de 2011. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal (DIPOA). Secretaria de Defesa Agropecuária (SDA). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Diário Oficial da União, Brasília, DF, 26 de outubro de 2011.
- CFIA 2013. Canadian Food Inspection Agency. Chapter 19: Poultry Inspection Programs, 19.4 Dressing Procedures, 19.4.1.5 Application of a Water Film during Evisceration Procedures. Disponível em <<http://www.inspection.gc.ca/english/fssa/meavia/man/ch19/table19e.shtml>>
- Codex Alimentarius 2011. CAC/GL 78-2011. "Guidelines for the control of *Campylobacter* and *Salmonella* in chicken meat". Disponível em <<http://www.codexalimentarius.org/standards/list-of-standards/>> Acesso em 22 jun. 2014.
- Ferreira T.Z., Sesterhenn R. & Kindlein L. 2012. Perdas econômicas das principais causas de condenações de carcaças de frango de corte em Matadouros-Frigorífico sob Inspeção Federal no Rio Grande do Sul, Brasil. *Acta Scientiae Veterinariae* 40(1):1021.
- Franco B.D.G.M. & Landgraf M. 2008. *Microbiologia dos alimentos*. 2ª ed. Livraria Atheneu, São Paulo, p. 27-31.
- Giotto D.B., Zimmermann C.F., Cesco M.A.O., Borges Fortes F.B., Pinheiro D., Hiller C.C., Herpich J., Medina M., Rodrigues E. & Salle C.T.P. 2008. Impacto econômico de condenações post-mortem de frangos de corte em um matadouro-frigorífico na região sul do Brasil. Centro de Diagnóstico e Pesquisa em Patologia Aviária UFRGS, Porto Alegre. Anais 35º Conbravet, Gramado, RS.
- Hugas M. & Tsigarida E. 2008. Pros and cons of carcass decontamination: The role of the European Food Safety Authority. *Meat Science* 78(1/2):43-52.
- Mendes A. 2012. Lavagem de carcaça ganha força. *Correio do Povo*, Ano 117, nº144, Porto Alegre. Disponível em <<http://www.correiodopovo.com.br/Impresso/?Ano=117&Numero=144&Caderno=0&Noticia=394852>>

- Paschoal E.C., Otutumi L.K. & Silveira A.P. 2012. Principais causas de condenações no abate de frangos de corte de um abatedouro localizado na região noroeste do Paraná, Brasil. Arq. Ciênc. Vet. Zool. Unipar 15(2):93-97.
- Rodrigues A.C.A., Pinto P.S.A., Vanetti M.C.D., Bevilacqua P.D., Pinto M.S. & Nero L.A. 2008. Análise e monitoramento de pontos críticos no abate de frangos utilizando indicadores microbiológicos. Ciência Rural 38(7):1948-1953.
- Saba R.Z., Bürger K.P. & Junior O.D. R. 2010. Pressão e temperatura da água de lavagem na população microbiana da superfície de carcaças bovinas. Ciência Rural 40(9):1987-1992.
- Silva V.A.M. & Pinto A.T. 2009. Levantamento das condenações de abate de frangos e determinação das causas mais prevalentes em um frigorífico em Santa Catarina. Anais do Premio Lamas. Disponível em: http://www.avisite.com.br/cet/img/20090812_lamas7.pdf
- UBA 2014. União Brasileira de Avicultura. Relatório Anual 2014. Disponível em <<http://www.ubabef.com.br/files/publicacoes/8ca705e70f0cb110ae3aed67d29c8842.pdf>>
- UBABEF 2012. União Brasileira de Avicultura. Revta Avicult. Bras. n.1. Disponível em <<http://www.ubabef.com.br/files/publicacoes/938d713b69d9f25901b1d810f038272b.pdf>>
- USDA 1998. United States Department of Agriculture. Food Safety and Inspection Service (FSIS). FSIS clarifies and strengthens enforcement of zero tolerance standard for visible fecal contamination of poultry. Disponível em <<http://www.fsis.usda.gov/Oa/background/zerofcl.htm?redirecthttp=true>>
- Von Rückert D.A.S., Pinto P.S.A., Santos B.M., Moreira M.A.S. & Rodrigues A.C.A. 2009. Pontos críticos de controle de *Salmonella* spp. no abate de frangos. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 61(2):326-330.

Quadro 1. Percentual de condenações totais e parciais por contaminação gastrointestinal/biliar por método de remoção da contaminação (refile/lavagem) nos abatedouros do Rio Grande do Sul que já implantaram o sistema de lavagem de carcaças

Abatedouro	Método de remoção da contaminação	Condenações totais (%)	Condenações parciais (%)
1	Refile	0,05	0,64
	Lavagem	0,08	0,70
	P ^a	0,26	0,32
2	Refile	0	1,44
	Lavagem	0	2,20
	P	1	0,00
3	Refile	0,12	1,36
	Lavagem	0,08	0,76
	P	0,05	0,04
4	Refile	0,02	0,27
	Lavagem	0,06	0,37
	P	0,41	0,00
5	Refile	0,02	2,77
	Lavagem	0,02	2,73
	P	0,73	0,79

^a Probabilidade pelo teste do qui-quadrado ($P > 0,05$).

Quadro 2. Valores de pressão e volume de água dos lavadores de carcaças instalados nos abatedouros do Rio Grande do Sul até fevereiro de 2014

Abatedouro	Pressão da água (Kgf/cm ²)	Vazão de água (L/carcaça)
1	4,0	1,5
2	4,5	1,0
3	16,3	1,5
4	10,0	0,4
5	3,1	1,5

Quadro 3. Contagem média de mesófilos e enterobactérias por método de remoção da contaminação (refile/lavagem) nos abatedouros do Rio Grande do Sul que já implantaram o sistema de lavagem de carcaças

Abatedouro	Método de remoção da contaminação	Média Mesófilos (UFC/g)	Média Enterobactérias (UFC/g)
1	Refile	15.233	2.462
	Lavagem	28.433	2.635
	P ^a	0,93	0,73
2	Refile	3.480	106
	Lavagem	4.501	96
	P	0,77	0,82
3	Refile	70.350	10.840
	Lavagem	34.015	9.612
	P	0,81	0,04
4	Refile	53.983	598
	Lavagem	40.510	1.069
	P	0,16	0,70
5	Refile	74.333	378
	Lavagem	47.053	441
	P	0,13	0,33

^a Probabilidade pelo teste do qui-quadrado ($P > 0,05$).

4. CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos neste estudo é possível afirmar que:

1. Os sistemas de refile e de lavagem de carcaças foram equivalentes no aspecto microbiológico, no entanto, se todos os lavadores avaliados utilizassem os parâmetros dos mais eficientes, o resultado do sistema de lavagem provavelmente seria superior ao do refile.
2. O sistema de lavagem é superior ao de refile do ponto de vista operacional.
3. A pressão da água utilizada tem maior influência na descontaminação das carcaças do que a vazão da mesma.
4. Estudos adicionais são necessários a fim de estabelecer padrões mínimos aceitáveis de volume e pressão de água para a lavagem interna e externa das carcaças, a fim de aprimorar o método.
5. Deve-se estudar a viabilidade da substituição do refile pela lavagem de carcaças também no Departamento de Inspeção Final (DIF).
6. Muito embora o sistema de lavagem seja importante, não se pode descuidar do correto manejo pré-abate, respeitando o período de jejum alimentar, a fim de reduzir o volume de conteúdo gastrintestinal das aves que chegam ao abate, além de manter um rigoroso controle da regulagem dos equipamentos, especialmente nas etapas de abate e evisceração das carcaças, evitando o extravasamento desse conteúdo e a consequente contaminação das mesmas.

5. REFERÊNCIAS

ANDERSON, M. E. et al. Combined and individual effects of washing and sanitizing on bacterial counts of meat – A model system. **Journal of Food Protection**, v.40, n.10, p.688-670, 1977a.

ANDERSON, M. E. et al. Efficacies of three sanitizers under six conditions of application to surfaces of beef. **Journal of Food Science**, v.42, n.2, p.326-329, 1977b.

BASHOR, M.P. et al. Effects of carcass washers on *Campylobacter* contamination in large broiler processing plants. **Poultry Science**, v.83, n. 7, p.1232-1239, 2004.

BERRANG, M.E.; BAILEY, J.S. On-line brush and spray washers to lower numbers of *Campylobacter* and *Escherichia coli* and presence of *Salmonella* on broiler carcasses during processing. **Journal of Applied Poultry Research**, v.18, n.1, p.74-78, 2009.

BLANKENSHIP, L. C. et al. Comparison of the microbiological quality of inspection-passed and fecal contamination-condemned broiler carcasses. **The Journal of Applied Poultry Research**, v.40, n.6, p.1236-1238, 1975.

BOLDER, N.M. Decontamination of meat and poultry carcasses. **Trends in food science & Technology**, v.8, n.7, p.221-227, 1997.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Decreto n. 30.691 de 29 de março de 1952. Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. **Diário Oficial da União**, Rio de Janeiro, RJ, 07 de julho de 1952.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Portaria n. 210 de 10 de novembro de 1998. Regulamento técnico da Inspeção Tecnológica e Higiênico-Sanitária de Carnes de Aves. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 26 de novembro de 1998.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). 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. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 18 de setembro de 2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Circular n. 668 de 19 de setembro de 2006. **Diretrizes para preparação de Plano de APPCC (HACCP) para o processo de abate de aves**. Brasília, DF, 2006.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Circular n. 12/07/DICAO/CGI/DIPOA de 13 de abril de 2007. **Padronização de procedimentos de controle da fiscalização de estabelecimentos produtores de carne de aves e ovos e das auditorias da DICAO/CGI/DIPOA nos estados** - Aditamento da Circular 004/2007/DICAO/CGI/DIPOA. Anexo IV B. Brasília, DF, 2007.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Resolução n. 4 de 4 de outubro de 2011. Autoriza o emprego do sistema de lavagem de carcaças no processo de abate de aves. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 26 de outubro de 2011.

BUCHER, O. et al. Do any spray or dip treatments, applied on broiler chicken carcasses or carcass parts, reduce *Salmonella* spp. prevalence and/or concentration during primary processing? A systematic review-meta –analysis. **Food Control**, v.27, n.2, p.351-361, 2012.

BUEGE, D.; INGHAM, S. Small plant intervention treatments to reduce bacteria on beef carcasses at slaughter. Animal Sciences Department e Food Science Department. **University of Wisconsin-Madison**. June, 2003. Disponível em: <http://www.meathaccp.wisc.edu/validation/assets/Small%20Plant%20Antimicrobial%20Intervention.pdf>> Acesso em: 06 jan. 2015.

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

CASON, J.A.; BERRANG, M.E. Variation in numbers of bacteria on paired chicken carcass halves. **Poultry Science**, v.81, n. 1, p.126-133, 2002.

ESCUADERO-GILETE, M.L. et al. Multivariate study of the decontamination process as function of time, pressure and quantity of water used in washing stage after evisceration in poultry meat production. **Journal of Food Engineering**, v.69, n.2, p.245-251, 2005.

FLETCHER, D. L.; CRAIG, E. W. An evaluation of on-line “reprocessing” on visual contamination and microbiological quality of broilers. **The journal of Applied Poultry Research**, v.6, n.4, p.436-442, 1997.

MENDES A. Lavagem de carcaça ganha força. **Correio do Povo**, Porto Alegre, Ano 117, n.144, 21 de Fevereiro de 2012. Disponível em: <<http://www.correiodopovo.com.br/Impresso/?Ano=117&Numero=144&Caderno=0&Noticia=394852>> Acesso em: 03 jun. 2014.

MULDER, R.W.A.W; BOLDER, N.M. The effect of different bird washers on the microbiological quality of broiler carcasses. **The Veterinary Quarterly**, v.3, n.3, p.124-130, 1981.

NORTHCUTT, J.K. et al. Effect of commercial bird washers on broiler carcass microbiological characteristics. **Journal of Applied Poultry Research**, v.12, n.4, p.435-438, 2003.

NORTHCUTT, J.K. et al. Microbiological impact of spray washing broiler carcasses using different chlorine concentrations and water temperatures. **Poultry Science**, v.84, n.10, p.1648-1652, 2005.

NOTERMANS, S. et al. Removing faecal contamination of broilers by spray-cleaning during evisceration. **British Poultry Science**, v.21, p.115-121, 1980.

PENTEADO, F.R.; ESMERINO, L. A. Avaliação da qualidade microbiológica da carne de frango comercializada no município de Ponta Grossa – Paraná. **Publicações UEPG Biology Health Science**, v.17, n.1, p.37-45, 2011.

POWEL, C. et al. Microbiological comparison of inspection-passed and reprocessed broiler carcasses. **Journal of Applied Poultry Research**, v.4, n.1, p.23-31, 1995.

RISSATO, D. P. et al. Detecção de Salmonella spp. em água de lavagem de carcaças de frango utilizando o método de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR). **Revista Saúde e Pesquisa**, v.4, n.1, p.35-39, 2011.

RISSATO, D. P. et al. Detecção de Escherichia coli em água de lavagem de carcaças de frango pelo método de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR). **Revista Saúde Biologia**, v.7, n.3, p.1-6, 2012.

RODRIGUES A.C.A. et al. Análise e monitoramento de pontos críticos no abate de frangos utilizando indicadores microbiológicos. **Ciência Rural**, v.38, n.7, p.1948-1953, 2008.

ROSENQUIST H. et al. The effect of slaughter operations on the contamination of chicken carcasses with thermotolerant *campylobacter*. **International Journal of Food Microbiology**, v.108, n.2, p.226-232, 2006.

SANTANA, A.P. et al. Causes of condemnation of carcasses from poultry in slaughterhouses located in State of Goiás, Brazil. **Ciência Rural**, v.38, n.9, p.2587-2592, 2008.

SMITH, D. P. et al. Microbiology of contaminated or visibly clean broiler carcasses processed with an inside-outside bird washer. **International Journal of Poultry Science**, v.4, n.12, p.955-958, 2005.

STEFANI, L. M. et al. Trimming and washing poultry carcass to reduce microbial contamination: A comparative study. **Poultry Science**, v.93, n.12, p.3119-3122, 2014.

TODD, E. C. D. Poultry-associated Foodborne Disease – Its occurrence, cost, sources and prevention. **Journal of Food Protection**, v.43, n.2, p.129-139, 1980.

UNIÃO BRASILEIRA DE AVICULTURA (UBA). Relatório Anual, 2014. Disponível em: <<http://www.ubabef.com.br/files/publicacoes/8ca705e70f0cb110ae3aed67d29c8842.pdf>> . Acesso em: 03 jun. 2014.

UNIÃO BRASILEIRA DE AVICULTURA (UBABEF). Revista Avicultura Brasileira n.1, 2012. Disponível em:<<http://www.ubabef.com.br/files/publicacoes/938d713b69d9f25901b1d810f038272b.pdf>>. Acesso em: 03 jun. 2014.

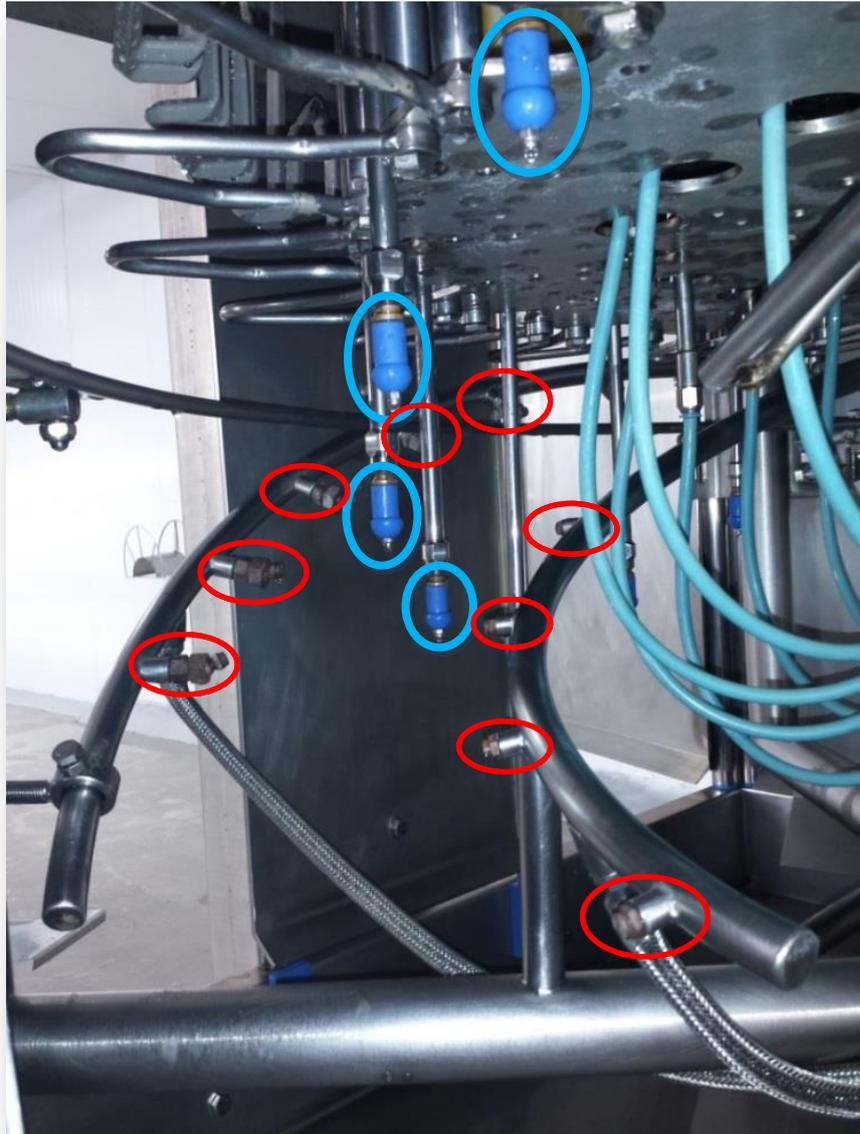
VON RÜCKERT, D.A.S. et al. Pontos críticos de controle de *Salmonella* spp. no abate de frangos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.6, n.2, p.326-330, 2009.

APÊNDICES



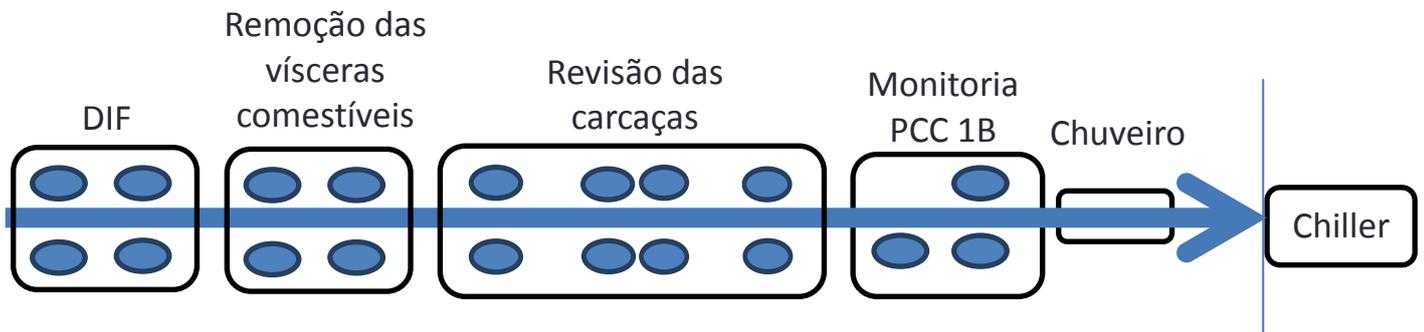
Fonte: Arquivo pessoal

APÊNDICE A – Remoção da contaminação gastrintestinal da carcaça pelo método do refile

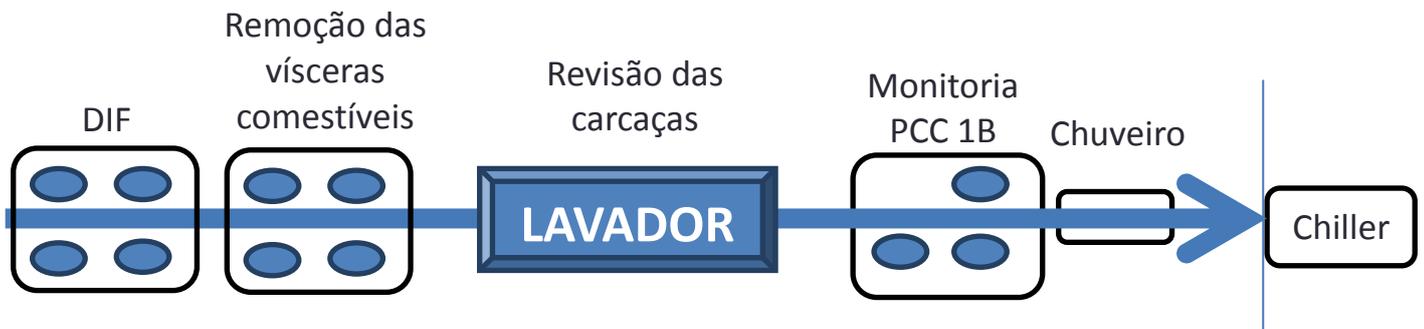


Fonte: Arquivo pessoal

APÊNDICE B – Equipamento lavador de carcaças para a remoção da contaminação gastrointestinal visível – vista interna evidenciando os bicos de aspersão interna (em azul) e externa (em vermelho) da carcaça.



APÊNDICE C – Esquema de linha de evisceração com o método de refil, demonstrando o posicionamento das pessoas (pontos azuis) na etapa de Revisão das carcaças.



APÊNDICE D – Esquema de linha de evisceração com o método de lavagem, demonstrando o posicionamento da máquina lavadora na etapa da Revisão das carcaças.

ESTUDOS ADICIONAIS

1. Estabilização do sistema de lavagem de carcaças após sua implantação

Os processos recém-implantados tendem a ser instáveis, pois precisam constantemente de ajustes, tanto no aspecto operacional quanto no mecânico. Com o intuito de melhor conhecer a eficácia da lavagem de carcaças, procurou-se eliminar os resultados dos primeiros meses após a implantação do novo sistema em cada abatedouro (que tendem a oscilar) e calculou-se a média das contagens de mesófilos e enterobactérias somente dos últimos 6 meses de análises (Setembro de 2013 a Fevereiro de 2014). Essas médias foram comparadas com as médias gerais da lavagem. Na Tabela 4 apresentam-se as médias geral e dos últimos 6 meses da implantação do sistema por abatedouro. Esta não foi incluída no manuscrito submetido à revista por ter sido concebida posteriormente ao envio.

Tabela 4 – Contagem média de mesófilos e enterobactérias do sistema de lavagem de carcaças por período avaliado em cada abatedouro do Rio Grande do Sul.

Abatedouro	Período avaliado	Mesófilos (UFC/g)	Enterobactérias (UFC/g)
1	Lavagem - Média geral	28.433	2.635
	Lavagem - Últimos 6 meses	62.300	7.408
	P ^a	0,04	0,07
2	Lavagem - Média geral	4.501	96
	Lavagem - Últimos 6 meses	3.655	52
	P	1	0,65
3	Lavagem - Média geral	34.015	9.612
	Lavagem - Últimos 6 meses	6.583	54
	P	0,75	0,11
4	Lavagem - Média geral	40.510	1.069
	Lavagem - Últimos 6 meses	23.350	788
	P	0,38	0,51
5	Lavagem - Média geral	47.053	441
	Lavagem - Últimos 6 meses	62.717	577
	P	0,61	0,91

^a Probabilidade pelo teste do qui-quadrado (P>0,05)

Conforme previsto, as médias das contagens microbianas dos últimos 6 meses de avaliação da lavagem de carcaças foram diferentes das médias gerais do período. Normalmente necessita-se certo período de tempo para que novos equipamentos e/ou procedimentos operacionais sejam ajustados e o novo processo se estabilize.

2. Influência da pressão e da vazão de água dos lavadores

Confrontando-se os dados de pressão de água (Tabela 2) com as médias geral e dos últimos 6 meses de lavagem de carcaças (Tabela 4), pode-se observar que, nos dois abatedouros que apresentaram os menores valores de pressão de água nos bicos aspersores (1 e 5), as contagens de mesófilos e enterobactérias aumentaram nos últimos 6 meses, embora apenas nas contagens de mesófilos do abatedouro 1 exista diferença estatística entre os períodos. Já nos abatedouros com pressão de água a partir de 4,5 Kgf/cm², ambas as contagens reduziram, mesmo não tendo diferença estatística, evidenciando uma tendência de melhoria nos resultados microbiológicos após a estabilização do processo naqueles abatedouros com maior pressão de água nos bicos aspersores.

Embora a correlação positiva encontrada nesse estudo entre vazão de água e a descontaminação das carcaças, a vazão parece ter menor influência que a pressão na redução das contagens, uma vez que nos abatedouros 1 e 5, cujos lavadores aplicam 1,5 litros de água por carcaça (Tabela 2), as contagens aumentaram após o período inicial da lavagem (Tabela 4), aparentemente influenciadas pela baixa pressão exercida por esses lavadores. Já nos abatedouros 2, 3 e 4, as contagens reduziram. Note-se que no abatedouro 4, com a menor vazão dentre os lavadores (0,4 L/carcaça) houve grande redução das contagens de mesófilos e enterobactérias, o que provavelmente se deve à alta pressão empregada (10,0 Kgf/cm²).

Esses dados estão de acordo com aqueles obtidos por Bashor et al. (2004) que, desconsiderando-se o abatedouro “D”, que utilizou água quente na lavagem das carcaças, o sistema de lavagem mais efetivo foi o do abatedouro “B”, que empregou a maior pressão de água e a menor vazão dentre as três plantas (A, B e C).

APÊNDICE E – Estudos adicionais sobre a estabilização do sistema de lavagem e a influência da pressão e da vazão de água na descontaminação

ANEXOS

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO

SECRETARIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA

DEPARTAMENTO DE INSPEÇÃO DE PRODUTOS DE ORIGEM ANIMAL

RESOLUÇÃO N° 4, DE 4 DE OUTUBRO DE 2011

O DIRETOR DO DEPARTAMENTO DE INSPEÇÃO DE PRODUTOS DE ORIGEM ANIMAL DA SECRETARIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA DO MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO, no uso da atribuição que lhe é conferida pelo art. 902, do Decreto n° 30.691, de 29 de março de 1952, e tendo em vista o que consta do Processo n° 70500.006961/2011-33, resolve:

Art. 1º Autorizar o emprego do sistema de lavagem de carcaças no processo de abate de aves para remover a contaminação por conteúdo gastrintestinal visível presente nas superfícies internas e externas das carcaças anterior a etapa de pré-resfriamento, como alternativa a prática do refile.

Art. 2º A utilização deste sistema fica condicionada à apresentação de protocolo contemplando parâmetros mensuráveis relacionados ao processo de lavagem, de forma a comprovar o atendimento de requisitos que garantam a remoção total da contaminação por conteúdo gastrintestinal visível nas superfícies externas e internas das carcaças durante o processo de abate de aves, incluindo, pelo menos:

I - o tempo de exposição das carcaças a lavagem

II - o volume de água utilizado por carcaça,

III - a localização e número de aspersões, a pressão e direcionamento dos jatos d'água.

§ 1º - O emprego deste sistema não deve comprometer a acurácia da inspeção post mortem por excesso de água na cavidade abdominal ou por promover a perda das evidências das enfermidades.

§ 2º - O emprego deste sistema não pode ser compensatório a execução indevida dos procedimentos sanitários operacionais (PSO's) realizadas por colaboradores ou maquinário responsáveis, que propiciem a ocorrência da contaminação por conteúdo gastrintestinal nas superfícies externas e internas das carcaças de aves anterior a etapa de pré-resfriamento.

Art. 3º Os estabelecimentos que almejam utilizar este sistema devem proceder a uma revalidação do plano APPCC, revisando, sempre que necessário, sua análise de perigos, limites críticos, procedimentos de monitoramento e verificação, geração e manutenção de registros e ações preventivas e corretivas no caso da identificação de desvios de processo.

Art. 4º Compete ao Serviço de Inspeção Federal (SIF) autorizar o emprego deste sistema, mediante a comprovação da efetividade do protocolo apresentado pela empresa.

LUIZ CARLOS DE OLIVEIRA
D.O.U., 26/10/2011 - Seção 1

ANEXO A – Resolução n.4 DIPOA, de 04 de Outubro de 2011 – Autorização do emprego do sistema de lavagem de carcaças no processo de abate de aves

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO.

SECRETARIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA.

INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 62, DE 26 DE AGOSTO DE 2003.

O SECRETÁRIO DE DEFESA AGROPECUÁRIA, DO MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO, no uso da atribuição que lhe confere o art. 83, inciso IV, do Regimento Interno da Secretaria, aprovado pela Portaria Ministerial nº 574, de 8 de dezembro de 1998, resolve:

Art. 1º Oficializar os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água, com seus respectivos capítulos e anexos, em conformidade com o anexo desta Instrução Normativa, determinando que sejam utilizados no Sistema de Laboratório Animal do Departamento de Defesa Animal.

Parágrafo único. A metodologia de que trata este artigo será atualizada, sempre que a inovação tecnológica assim recomendar, por meio de ato do Diretor do Departamento de Defesa Animal.

Art. 2º Esta Instrução Normativa entra em vigor na data da sua publicação.

MAÇAO TADANO
D.O.U., 18/09/2003

CAPÍTULO I – CONTAGEM PADRÃO DE MICRORGANISMOS MESÓFILOS AERÓBIOS ESTRITOS E FACULTATIVOS VIÁVEIS

1. OBJETIVOS E ALCANCE

Estabelecer procedimento para a contagem padrão de microrganismos mesófilos aeróbios estritos e facultativos viáveis. Aplica-se a amostras de matérias-primas, água e alimentos.

2. FUNDAMENTOS

Baseia-se na semeadura da amostra ou de suas diluições em ágar padrão para contagem seguida de incubação em temperatura de $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 48 horas.

3. REAGENTES E MATERIAIS

Vidraria e demais insumos básicos obrigatórios em laboratórios de microbiologia de alimentos; Agar padrão para contagem (PCA); Solução salina peptonada 0,1%.

4. EQUIPAMENTOS

Equipamentos básicos obrigatórios em laboratórios de microbiologia de alimentos.

5. PROCEDIMENTOS

5.1 Pesagem e preparo da amostra: Pesar $25 \pm 0,2$ g ou pipetar $25 \pm 0,2$ mL da amostra, de acordo com as instruções contidas no Anexo V, “Procedimentos para o preparo, pesagem e descarte de amostras”, deste Manual.

Adicionar 225 mL de solução salina peptonada 0,1%.

Homogeneizar por aproximadamente 60 segundos em “stomacher”. Esta é a diluição 10-1.

5.2 Inoculação em placas: A partir da diluição inicial (10-1), efetuar as demais diluições desejadas em solução salina peptonada 0,1%, de acordo com as instruções contidas no Anexo II, “Diluições e soluções”, deste Manual. Semear 1 mL de cada diluição selecionada em placas de Petri estéreis. Adicionar cerca de 15 a 20 mL de PCA fundido e mantido em banho-maria a 46-48°C. Homogeneizar adequadamente o ágar com o inóculo. Deixar solidificar em superfície plana.

5.3 Incubação: Incubar as placas invertidas a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 48 horas.

5.4 Leitura: Segundo o tipo de amostra em análise, realizar a leitura selecionando as placas de acordo com o seguinte critério, contando todas as colônias presentes: Produtos em geral: Placas que contenham entre 25 e 250 colônias; Amostras de água: Placas que contenham entre 30 e 300 colônias.

6. RESULTADOS

A partir dos dados obtidos, calcular o número de microrganismos presentes na amostra em análise, seguindo as instruções contidas no Anexo IV, “Procedimentos para contagem de colônias”, deste Manual. Expressar o resultado em UFC/g ou mL.

7. BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

FRANK, J.F. Microbial spoilage of foods: Milk and dairy products. In: Food Microbiology Fundamentals and Frontiers. Michael

P. Doyle, Beuchat, L.R.; Montville, T.J. (Eds.). ASM Press Washington D.C., p. 101-116.

MORTON, R.D. Aerobic Plate Count. In: Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods, 4. ed. Washington DC. American Public Health Association. Frances Pouch Downes & Keith Ito (Eds.), 2001. p.63-67.

CAPÍTULO VIII - CONTAGEM TOTAL DE ENTEROBACTÉRIAS

1. OBJETIVOS E ALCANCE

Estabelecer procedimento para a contagem de Enterobactérias. Aplica-se a amostras de produtos de origem animal.

2. FUNDAMENTOS

2.1 Contagem: Baseia-se na inoculação das diluições desejadas das amostras testada sem ágar cristal violeta vermelho neutro bile glicose (VRBG), cuja composição evidencia a habilidade dos microrganismos fermentarem a glicose com produção de ácido, reação indicada por uma viragem do indicador a vermelho e a precipitação de sais biliares ao redor das colônias. A seletividade é exercida pela presença de cristal violeta e bile no meio.

3. REAGENTES E MATERIAIS

Vidraria e demais insumos básicos obrigatórios em laboratórios de microbiologia de alimentos; Ágar cristal violeta vermelho neutro bile glicose (VRBG); Ágar estoque; Solução salina peptonada 0,1%; Reativo para oxidase (N'N'N'N'-tetrametil-parafenileno-diamina ou

oxalato de para-amino-dimetilanilina), ou tiras de papel para teste de oxidase; Reativos para coloração de Gram.

4. EQUIPAMENTOS

Equipamentos básicos, obrigatórios em laboratórios de microbiologia de alimentos.

5. PROCEDIMENTOS

5.1 Pesagem e preparo da amostra: Pesar $25 \pm 0,2$ g ou pipetar $25 \pm 0,2$ mL da amostra de acordo com as instruções contidas no Anexo V, “Procedimentos para o preparo, pesagem e descarte de amostras”, deste Manual. Adicionar 225 mL de solução salina 0,1%. Homogeneizar por aproximadamente 60 segundos em “stomacher”. Esta é a diluição 10-1.

5.2 Procedimentos de controle: Aplicar os procedimentos de controle específicos estabelecidos pelo laboratório.

5.3 Inoculação: A partir da diluição inicial (10-1), efetuar as demais diluições desejadas em solução salina peptonada 0,1% de acordo com as instruções contidas no Anexo II, “Diluições e soluções”, deste Manual. Inocular 1 mL de cada diluição em placas de Petri esterilizadas. Adicionar a cada placa cerca de 15 mL de ágar cristal violeta vermelho neutro bile glicose previamente fundido e mantido a 46°C - 48°C em banho-maria. Homogeneizar cuidadosamente o inóculo com o meio e deixar em repouso até total solidificação. Após adicionar uma Segunda camada com o mesmo meio e deixar solidificar.

5.4 Incubação: Após completa solidificação do meio, incubar as placas em posição invertida em temperatura de $36 \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 18 a 24 horas.

5.5 Leitura: Selecionar placas que contenham entre 15 e 150 colônias. Contar as colônias de coloração vermelha, rodeadas ou não por halo de precipitação da bile presente no meio, com 0,5 a 2 mm de diâmetro e anotar os resultados de contagem. Selecionar 3 a 5 colônias típicas e repicar para tubos com ágar estoque inclinado. Incubar a $36 \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 24 horas. Realizar a prova da oxidase conforme o item 5.6.

5.6 Prova da oxidase: Usando alça de platina, Pipeta de Pasteur, palitos de madeira estéreis, ou de plástico descartáveis estéreis, realizar a prova da oxidase espalhando a cultura sobre papel filtro impregnado com o reativo para oxidase ou sobre tiras de papel com reativo para oxidase, comercialmente disponíveis. Fazer a leitura em 10 a 20 segundos. Após este tempo, reações falso-positivas podem ocorrer. O aparecimento de cor azul (N'N'N'N'-tetrametil-parafenileno-diamina) ou vermelho intenso (oxalato de para-amino-dimetilanilina) é indicativo de reação positiva. Não utilizar alças de níquel-cromo ou alças de aço inoxidável para realizar a prova da oxidase, pois traços de óxido de ferro na superfície flambada podem produzir reação falso-positiva. Todas as enterobactérias apresentam reação de oxidase negativa.

5.7 Coloração de Gram: Das colônias oxidase negativas, preparar esfregaço e corar pelo método de Gram, seguindo as instruções contidas no Anexo VII, “Procedimentos de coloração”, deste Manual. Todas as enterobactérias apresentam-se como bastonetes Gram negativos.

6. RESULTADOS

A partir dos dados obtidos, calcular o número de microrganismos presentes de acordo com o Anexo IV, “Procedimentos para a contagem de colônias”, deste Manual. Expressar o resultado em UFC/g ou mL

7. BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

KONEMAN, E.W.; ALLEN, S.D.; DOWELL, V.R.; JANDA, W.M.; SOMMERS, H.M.; WINN, W.C. Enterobacteriaceae . In: Diagnóstico micro-biológico. Texto y Atlas Color. 3ed. México, D.F.:Editorial Medica Panamericana. 1997, p.203-267.

MAC FADDIN , J.F. Pruebas Bioquímicas para la identificación de bacterias de importancioclínica. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana S.A. 1980, 275 p.

VARNAM, A.H.; EVANS, M.G. Foodborne Pathogens-Na illustrated text. London: WolfPublishing Ltd. 1991, 557p.

ANEXO B – Instrução Normativa n.62, de 26 de Agosto de 2003 – Métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal (mesófilos e enterobactérias)