

Pesquisa de *Salmonella* spp. e microrganismos indicadores em carcaças de frango e água de tanques de pré-resfriamento em abatedouro de aves

Research of *Salmonella* spp. and indicators microorganisms in poultry carcasses and chilling tanks water in poultry slaughterhouse

Melissa Lopes^{1*}; Juliana Arena Galhardo²; Juçara Tinasi de Oliveira³; Ronaldo Tamanini⁴; Samuel Fabre Sanches⁵; Ernst Eckehardt Muller⁶

Resumo

O objetivo desse trabalho foi pesquisar *Salmonella* spp. e microrganismos indicadores (coliformes totais-CT, coliformes termotolerantes-CTT, aeróbios mesófilos-AM e microrganismos psicotróficos-MP) em carcaças de frango e água dos tanques de pré-resfriamento em um frigorífico do norte do Paraná. Foram analisadas 120 carcaças de frango (60 antes do *pré-chiller* e 60 após a saída do *chiller*) e 120 amostras de água (60 *pré-chiller* e 60 do *chiller*), totalizando 20 coletas. Para as análises utilizaram-se a metodologia recomendada pela legislação brasileira e sistema Petrifilm™AC. *Salmonella* spp. foi isolada em uma carcaça antes do *pré-chiller* e outra após a saída do *chiller*, ambas identificadas como *Salmonella* O8, 20: z₄, z₂₃. Nas amostras de água foram isolados e identificados seis sorovares no *pré-chiller*, cinco *Salmonella* O8,20;z₄,z₂₃ e um *S. Tennessee*. As médias de CT nas carcaças antes do *pré-chiller* e após a saída do *chiller* e na água destes tanques foram 3,74 NMP/g, 3,10 NMP/g e 4,00 NMP/100mL / 2,81 NMP/100mL respectivamente; CTT 3,65 NMP/g / 3,00 NMP/g e 3,81 NMP/100mL / 2,73 NMP/100mL; AM 6,40 UFC/g / 5,60 UFC/g e 4,40 UFC/mL / 4,13 UFC/mL; MP 4,21 UFC/g e de 3,66 UFC/g. Nas carcaças de frango antes do *pré-chiller* e após o *chiller* e na água do *pré-chiller* e *chiller* não foi observada diferença significativa (p>0,05) nos índices de contaminação com relação aos microrganismos indicadores estudados. Pelos resultados obtidos pode-se concluir que no frigorífico estudado não houve redução da contaminação bacteriana das carcaças durante a passagem pelos tanques.

Palavras-chave: *Salmonella* spp, coliformes totais, coliformes termotolerantes, mesófilos, psicotróficos, frango

Abstract

The purpose of this work was to research the *Salmonella* spp. and indicators microorganisms (total coliforms-CT, thermotolerant coliforms-CTT, mesophilic aerobes-AM and psychotrophic microorganisms) in poultry carcasses and chilling tanks water in a poultry slaughterhouse in north of Paraná state. Had been analyzed 120 poultry carcasses (60 before the entrance in the chilling tank and 60 after the exit of the chilling tank) and 120 water samples (60 from pre-chiller tank and 60 from chiller tank), totalizing 20 collections. For the analyses was used the brazilian legislation and Petrifilm™AC. *Salmonella* spp. was isolated in one poultry carcass before the entrance in the chilling tank and other after the exit of the

¹ Mestrado em Ciência Animal, Sanidade Animal / UEL, Londrina. E-mail: melissa_lopes@hotmail.com.

² Mestrado em Ciência Animal, Sanidade Animal / UEL, Londrina.

³ Aluna de Graduação / Medicina Veterinária / UEL, Londrina.

⁴ Mestrado em Ciência Animal, Sanidade Animal / UEL, Londrina.

⁵ Departamento de Estatística / CCE / UEL, Londrina.

⁶ Departamento de Medicina Veterinária Preventiva / CCA / UEL, Londrina.

* Autor para correspondência

chilling tank, both identified as *Salmonella* O8,20; z₄, z₂₃. In the water samples was recognized six serovars in pre-chiller tank, five as *Salmonella* O8,20; z₄, z₂₃ and one *S. Tennessee*. The means of TC on carcasses before the entrance and after the exit of the tanks and in the water samples from pre-chiller tank and in chiller were 3,74 MPN/g / 3,10 MPN/g and 4,00 MPN/100mL / 2,81 MPN/100mL respectively; the mean of TCC was 3,65 MPN/g / 3,00 MPN/g and 3,81 MPN/100mL / 2,73 MPN/100mL; the mean of MA was 6,40 CFU/g / 5,60 CFU/g and 4,40 CFU/mL e 4,13 CFU/mL; the mean of MP was 4,21 CFU/g / 3,66 CFU/g and . It was not observed any significant difference (p>0,05) in contamination index neither in poultry carcasses nor in tank water samples. It is possible to conclude that chilling tanks were not able to remove the microorganisms from the carcasses and could contribute to cross-contamination due to elevate water contamination.

Key words: *Salmonella* spp, total coliforms, thermotolerant coliforms, mesophilic aerobes, psychrotrophic, poultry

Introdução

O comércio internacional de carne e derivados de frangos foi influenciado negativamente a partir do ano de 2003, principalmente, pela ocorrência da Influenza Aviária e desvalorização do dólar. Apesar das dificuldades, a avicultura tem apresentado crescimento anual. Atualmente, o Brasil é o segundo produtor e o primeiro exportador mundial de carne de frango, segundo dados da União Brasileira de Avicultura (UNIÃO BRASILEIRA DE AVICULTURA, 2006). O consumo interno tem apresentado tendência favorável ao crescimento devido aos atributos de carne saudável, baixo preço e aumento da comercialização de derivados prontos para o consumo (TALAMINI; MARTINS; NOVAES, 2005).

De acordo com Almeida e Silva (1992), a contaminação das carcaças de aves envolve adesão das bactérias por um filme líquido sobre a pele. McMeekin e Thomas (1978) e Firstenberg-Eden, Notermans e Schothorst (1978), verificaram que as bactérias ficavam retidas na pele de frangos após a imersão das carcaças em suspensões bacterianas e esta retenção apresentava relação linear com as contagens bacterianas da suspensão.

Grande parte desses microrganismos não são patogênicos, porém bactérias como *Salmonella* spp., *Campylobacter jejuni*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* enteropatôgena e *Staphylococcus aureus* podem estar presentes, representando um risco potencial à saúde do consumidor (SILVA, 1998; JAMES; PRUCHA; BREWER, 1993). Algumas espécies de *Salmonella*

spp. são capazes de aderir firmemente às fibras de colágeno da superfície externa da pele do frango; essa adesão não depende somente da presença de fímbrias, podendo ocorrer apenas pelo contato da célula microbiana com a pele do frango na presença de água (THOMAS; McMEEKIN; PATTERSON, 1986).

Dados epidemiológicos sobre toxinfecções alimentares vem mostrando um aumento significativo de salmoneloses nos últimos trinta anos, até mesmo em países com excelentes serviços de saúde. As carnes de frango e as vermelhas são consideradas como as principais vias de transmissão de salmonelose, e a contaminação da ração animal tem sido reconhecida como via primária de transmissão para os animais, originando grande número de portadores de *Salmonella* spp. clinicamente sadios, potenciais disseminadores desse microrganismo, mesmo durante o processamento das carcaças (SILVA, 1998).

A segurança e qualidade dos alimentos como a carne *in natura* pode ser estimada pela contagem de microrganismos indicadores como microrganismos aeróbios mesófilos (AM), coliformes totais (CT), *E.coli* (EC) e microrganismos psicrotróficos (PC). A contagem de AM fornece uma estimativa da população microbiana total e elevadas contagens usualmente estão relacionadas à baixa qualidade e reduzida vida de prateleira do alimento (JAY, 2000; GILL, 1998). As contagens de CT e EC podem estimar falhas na higiene e indicar contaminação de origem fecal, sendo que elevadas contagens destes grupos de microrganismos podem estar relacionadas a níveis significativos de enteropatógenos, como a *Salmonella* spp. (JAY, 2000;

EISEL; LINTON; MURIANA, 1997; GILL; McGINNIS; BADONI, 1996).

Neste estudo objetivou-se pesquisar *Salmonella* spp. e microrganismos indicadores em carcaças de frango e água de tanques de pré-resfriamento.

Material e Métodos

Coleta das amostras

No período de Março a Setembro de 2005, com intervalo mínimo de uma semana foram efetuadas 20 coletas de amostras de carcaças de frango e água em um frigorífico localizado na região norte do Estado do Paraná com abate diário de aproximadamente 30 mil frangos. Em cada coleta foram amostradas três carcaças de frango (n=60), diretamente da nória, antes de cair no *pré-chiller* e três carcaças na nória de gotejamento (n=60), após a saída do *chiller*. As amostras de carcaças foram acondicionadas em sacos estéreis.

Paralelamente as coletas das carcaças foram obtidas 60 amostras de água do *pré-chiller* e 60 do *chiller*. Cada amostra de água foi constituída de 300 mL coletada em vidros de cor âmbar esterilizados contendo 0,2mL de tiosulfato de sódio a 10% (BRASIL, 2004), totalizando 120 amostras de água.

As amostras foram mantidas em caixa isotérmica com gelo reciclável, por no máximo seis horas até o processamento nos Laboratórios de Microbiologia e Doenças Infecciosas e Zoonoses e Saúde Pública da Universidade Estadual de Londrina.

Aferição do fluxo de água, temperatura e cloração dos tanques de resfriamento

O fluxo de água (L/carcaça) foi calculado a partir do volume registrado nos hidrômetros. Para a avaliação do fluxo foi considerado o gelo normalmente adicionado nos tanques (em média 840L para o *pré-chiller* e 1520L para o *chiller*).

A temperatura dos tanques e a cloração do *chiller* foram aferidos no momento de coleta das amostras de frango e água empregando termômetro manual

(Quimis®, Diadema, São Paulo, Brasil) e *kit* de cloro a base de ortotuluidina (Hanna Instruments Brasil®, São Paulo, São Paulo, Brasil).

Preparo das amostras

De cada carcaça foram removidos assepticamente e pesados 25g de pele e músculos das regiões do pescoço, asas e cloaca e acondicionados em sacos de polietileno estéreis de (Nasco®, Califórnia, EUA) contendo 225mL de água peptonada tamponada a 1% e estéril (Biobrás®, Montes Claros, Minas Gerais, Brasil). Estas amostras foram homogeneizadas em aparelho *stomacher* (ITR Ltda®, Esteio, Rio Grande do Sul, Brasil) por três minutos sendo este conteúdo equivalente à diluição 10^{-1} . As diluições subsequentes foram realizadas em solução salina 0,85%, estéril. As carcaças de frango foram submetidas à pesquisa de *Salmonella* spp., CT, CTT, MA e MP.

Para a análise da água foram homogeneizados e transferidos 100mL da amostra para um frasco estéril contendo 50mL de água peptonada a 1% para realizar a pesquisa de *Salmonella* spp. Foram realizadas as diluições de 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} e 10^{-6} em tampão fosfato com cloreto de magnésio e efetuadas as inoculações nos meios de cultura para a pesquisa de CT, CTT e contagem de MP.

Análises microbiológicas

Para a pesquisa de *Salmonella* spp. as amostras homogeneizadas de carcaças (25g + 225mL de água peptonada) e água (10mL da amostra + 50mL de água peptonada) foram incubadas a 35°C por 18-24 horas, segundo a Portaria nº8 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 1995). O enriquecimento seletivo foi efetuado em caldo Tetracionato (TT) (Difco®, Kansas, EUA), preparado conforme as instruções do fabricante, inoculando alíquotas de 1mL das amostras homogeneizadas em 9 mL do caldo com incubação a 43°C por 24 horas, em banho-maria circular. Após o enriquecimento seletivo, alíquotas do meio TT foram estriadas em placas contendo ágar verde brilhante

vermelho de fenol lactose sacarose (BPLS) (Biobrás®, Montes Claros, Minas Gerais, Brasil) e Hektoen (Acumedia®, Canadá, EUA) preparados conforme as instruções do fabricante. Ambas foram incubadas a 35°C por 24 horas em estufa bacteriológica (Fanem Ltda®, São Paulo, Brasil).

Do ágar BPLS e Hecktoen foram selecionadas colônias características (incolores ou de cor rosada e colônias com centro negro e com halo transparente, respectivamente) e semeadas nos meios ágar tríplice açúcar ferro (TSI), lisina ferro (LIA), ágar uréia e fenilalanina (FA). As cepas com características bioquímicas de *Salmonella* spp. foram semeadas no ágar Rambach (Merck®, Darmstadt, Germany). Colônias com tonalidade rósea ou avermelhada foram confirmadas através da prova de soroglutinação rápida com anti-soro somático e flagelar polivalente (Probac do Brasil®, São Paulo, São Paulo, Brasil). Todas as cepas que aglutinaram com o anti-soro polivalente foram enviadas ao Laboratório de Enterobactérias do Instituto Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Rio de Janeiro, Brasil, para sorotipagem.

Para a determinação do Número Mais Provável (NMP) de CT em carcaças de frango foi utilizada a técnica de tubos múltiplos numa série de nove tubos e três diluições (10^{-2} , 10^{-3} e 10^{-4}) contendo caldo lactosado bile verde brilhante 2% (CLBVB) (Merck®, Darmstadt, Germany). Dos tubos positivos, incubados a 37°C por 24-48 horas foram transferidos 30µL para caldo EC (Vetec®, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil) e para caldo triptona (CT)(Synth®, Diadema, São Paulo, Brasil) para determinação do NMP de CTT, que foram incubados a 44,5°C em banho-maria por 24-48 horas. Os tubos foram considerados positivos no EC e CT quando apresentaram turvação do meio com produção de gás e anel de coloração vermelha (teste do indol) (BRASIL, 1993).

Para a contagem de CT em amostras de água utilizou-se a técnica de tubos múltiplos em cinco séries de cinco tubos contendo caldo lactosado (Biobrás®, Montes Claros, Minas Gerais, Brasil), nas diluições 10^0 , 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} e 10^{-4} . A partir dos tubos com

turvação e produção de gás após 48 horas de incubação a 37°C foram inoculadas alíquotas de 0,3 mL para tubos contendo CLBVB, incubados em estufa a 37°C por até 48 horas, e alíquotas de 0,3 mL para tubos contendo caldo EC incubados a 44,5°C por 24 horas em banho-maria. Os tubos foram considerados positivos nos caldos CLBVB e EC quando apresentaram turvação do meio com produção de gás (BRASIL, 2004).

Para a enumeração de AM das carcaças de frango, 1mL das diluições 10^{-4} e 10^{-6} foram semeadas em placas Petrifilm™ (3M®, Sumaré, São Paulo, Brasil), com incubação a 35°C por 48 horas.

MP foram enumerados semeando 0,1 mL das diluições 10^{-1} a 10^{-5} (carcaças de frango) e 10^{-2} a 10^{-4} (água do chiller) por superfície e em duplicata em placas contendo ágar padrão de contagem, com incubação a 7°C por 10 dias (BRASIL, 1993).

Todas as contagens obtidas foram convertidas em logaritmo decimal (Log_{10}) e expressas em Log NMP/g para CT e CTT nas carcaças, Log UFC/g para pesquisa de AM e MP em carcaças, Log NMP/100mL para CT e CTT na água e log UFC/mL para MP na água.

Análise estatística

Para a análise estatística foi aplicada a ANOVA e o teste de Tukey para duas amostras, num nível de significância de 5% ($p < 0,05$). Os dados foram analisados através do programa Prism 4.03.

Resultados e Discussão

A legislação brasileira em vigência (BRASIL, 1998) determina que a temperatura máxima da água do *pré-chiller* seja de 16°C e do *chiller* de até 4°C, e que o nível de cloro livre na água deve ser no máximo de 5 ppm não havendo limite mínimo estabelecido. O fluxo de água por carcaça com peso entre 2,5 e 5,0 Kg é de no mínimo 1,5L no *pré-chiller* e 1,0L no *chiller*.

No frigorífico estudado, a temperatura média da água do *chiller* e *pré-chiller* (Tabela 1) estava de acordo com os parâmetros estabelecidos pela legislação brasileira, sendo a média da água do *pré-*

chiller de 13,42°C a do *chiller* de 3,52°C. Entretanto, em alguns dias de coleta as médias de temperatura do *chiller* estiveram acima do parâmetro estabelecido pela legislação.

Tabela 1. Valores de temperatura (T°C), fluxo de água por carcaça (Fluxo) e cloro livre (Cloro) aferidos na água dos tanques de pré-resfriamento de um frigorífico avícola de pequeno porte localizado no norte do Estado do Paraná, Brasil.

Nº/Coleta	Pré-chiller		Chiller		
	T°C	FLUXO (L/carcaça)	T°C	FLUXO (L/carcaça)	CLORO (ppm)
1	14,33	1,20	3,67	0,74	0,5
2	11,33	0,82	3,67	0,66	0,5
3	14,00	0,90	3,67	0,83	0,5
4	13,33	1,11	4,00	1,02	0,5
5	14,00	1,03	5,00	0,98	0,5
6	14,67	1,07	3,33	1,01	0,5
7	11,67	1,00	3,00	1,03	0,5
8	15,00	1,61	7,00	0,74	0,7
9	12,00	1,17	2,67	0,84	1,0
10	15,67	1,14	4,00	0,80	4,0
11	13,00	1,24	1,33	0,89	4,0
12	13,33	1,18	2,00	0,91	5,0
13	12,33	1,17	2,67	0,89	1,0
14	14,00	1,16	3,33	0,88	4,0
15	14,00	1,05	4,67	0,90	2,0
16	12,00	1,06	3,67	0,91	4,0
17	14,00	1,15	2,33	0,91	4,0
18	13,00	1,19	4,00	0,90	4,0
19	13,33	1,12	3,67	0,95	8,0
20	13,33	0,84	2,67	0,77	6,0
MÉDIA	13,42	1,11	3,52	0,88	2,56

Os níveis de cloro residual na água do *chiller* aumentaram gradativamente ao longo das 20 coletas, sendo o mínimo observado de 0,5 ppm, durante as primeiras sete coletas e o máximo de 6 e 8 ppm nas últimas duas semanas, respectivamente, sendo a média de 2,6 ppm (Tabela 1). Embora a maioria dos resultados verificados apresentaram-se dentro do que determina a legislação, o sistema manual de cloração e a

inexistência de um protocolo utilizado pela Empresa, pode ter prejudicado o processo de cloração.

No período da realização da pesquisa os valores do fluxo de água (Tabela 1) foram inferiores aos exigidos pela legislação, sendo as médias aferidas para o *pré-chiller* de 1,11L por carcaça e de 0,88L para o *chiller*.

Das 120 carcaças pesquisadas, duas foram positivas para *Salmonella* spp, sendo que uma carcaça foi coletada antes do *pré-chiller* e a outra

após o *chiller*. O sorovar identificado nas duas carcaças foi *Salmonella* O8, 20: z₄,z₂₃ (Tabela 2).

Tabela 2. Frequência de isolamento de *Salmonella* spp. e sorovares identificados em amostras de carcaças de frangos antes e após o processo de resfriamento em um frigorífico avícola de pequeno porte localizado no norte do Estado do Paraná, Brasil.

Nº/ Coleta	Ponto de amostragem	Isolamento <i>Salmonella</i> / n(%)	Sorovares
5	Após o <i>Chiller</i>	1/6 (16,6%)	S. 08, 20:z ₄ ,z ₂₃
11	Antes do <i>pré-chiller</i>	1/6 (16,6%)	S. 08, 20:z ₄ ,z ₂₃

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA-RDC n.º 12/2001) aprovou o Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos, e somente estabeleceu que *Salmonella* spp. deve estar ausente em 25g de carnes resfriadas, ou congeladas, “*in natura*”, de bovinos, suínos e outros mamíferos (carcaças inteiras ou fracionadas, quartos ou cortes), carnes moídas; miúdos de bovinos, suínos e outros mamíferos, ovos e derivados (BRASIL, 2001). Observa-se que a resolução exclui a carne de frango, mas a ANVISA através da RDC n.º 39/2002 (BRASIL, 2002) aprovou o Regulamento técnico para Instruções de Uso, Preparo e Conservação na Rotulagem de Carnes de Aves e seus Miúdos Crus, Resfriados ou Congelados com instruções mínimas obrigatórias para que auxiliem o consumidor no controle do risco associado ao consumo destes alimentos nos quais a *Salmonella* spp. pode estar presente.

Resultados diferentes dos observados no presente trabalho foram verificados por Almeida e Silva (1992) que observaram uma maior ocorrência de *Salmonella* spp. após o resfriamento das carcaças de frango em um abatedouro com evisceração mecânica (4/12), o qual apresentava temperatura de 21°C e 6°C e zero de cloro residual nos dois tanques de resfriamento e um outro com evisceração manual (2/12), o qual apresentava 21°C e 2°C e cloro residual acima de 5ppm nos dois tanques de resfriamento. Os autores discutem a possibilidade da água dos tanques de pré-resfriamento, ter participação na contaminação cruzada das carcaças por salmonelas.

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

Dickel et al. (2005) analisaram 60 carcaças coletadas antes e depois da passagem pelo *chiller* em um abatedouro de tecnologia semi-automatizada com abate diário de 20 mil aves e um de tecnologia totalmente automatizada e abate diário de 380 mil aves no Rio Grande do Sul. Os autores não encontraram *Salmonella* spp. no primeiro abatedouro, mas no segundo verificaram uma elevada frequência de salmonela (70%, antes do *chiller* e 20% depois do *chiller*). Pode-se inferir que as altas velocidades nas linhas de abate, equipamentos desregulados, desuniformidade no tamanho das aves, temperaturas inadequadas no *pré-chiller* e *chiller* e cloração deficiente, possibilitaram a contaminação cruzada com enterobactérias, entre elas, as salmonelas paratíficas.

A contaminação cruzada observada no presente trabalho, também pode ser justificada pelo fato de o frigorífico estudado apresentar tecnologia automatizada, temperaturas inadequadas no *pré-chiller* e *chiller* e cloração deficiente.

O uso de apenas um meio de enriquecimento seletivo neste trabalho pode ter influenciado na

recuperação de um número baixo de *Salmonella* spp. Os meios de enriquecimento seletivo recomendados pela “Association of Official Analytical Chemist” (AOAC) e pela “Food and Drug Administration” (FDA) são os caldos selenito cistina (SC) e tetrionato (TT), enquanto que, a “International Organization for Standardization” (ISO) recomenda TT e Rappaport-Vassiliadis (RV) (RIPABELL et al., 1997). No Brasil, a legislação (BRASIL, 1995) sugere apenas o uso de TT ou SC. Vários estudos já foram realizados comparando a eficiência dos meios líquidos de enriquecimento seletivo. Ramalho, Lima e Silva (2000) obtiveram melhores resultados com a combinação entre TT e RV, sendo que das 30 amostras de carcaças de frango analisadas, 13 (43,3%) foram positivas para *Salmonella* spp. Resultados semelhantes foram encontrados por

Nogueira e Franco (1996) que detectou 46 amostras positivas em 100 analisadas.

Poucos são os trabalhos encontrados na literatura que analisaram a água dos tanques de pré-resfriamento atuando na contaminação cruzada de *Salmonella* spp. em carcaças de frangos.

Das 120 amostras de água analisadas neste trabalho, seis (5,0%) foram positivas para *Salmonella* spp. Todas as amostras foram coletadas da água do *pré-chiller*. Dos seis sorovares, cinco foram identificados como *Salmonella* O8, 20: z₄, z₂₃ e um como *S. Tennessee* (Tabela 3). *Salmonella* O8, 20: z₄,z₂₃ pertence ao grupo das salmonelas paratíficas que são representadas por, aproximadamente, 1500 sorovares podendo ser encontrados em aves e mamíferos clinicamente saudáveis, sendo de grande relevância para a saúde pública.

Tabela 3. Frequência de isolamento de *Salmonella* spp. e sorovares identificados em amostras de água do *pré-chiller* em um frigorífico avícola de pequeno porte localizado no norte do Estado do Paraná, Brasil.

Nº/ Coleta	Amostras positivas/ n (%)	Sorovares
8	1/6 (16,6%)	<i>S. Tennessee</i>
	2/6 (33,3%)	<i>Salmonella</i> O8, 20:z ₄ ,z ₂₃
9	1/6 (16,6%)	<i>Salmonella</i> O8, 20:z ₄ ,z ₂₃
11	2/6 (33,3%)	<i>Salmonella</i> . O8, 20:z ₄ ,z ₂₃

Lillard (1990) isolou *Salmonella* spp em 52,8% de um total de 54 amostras de água analisadas do tanque de resfriamento, e observou que o tanque é um local que favorece a contaminação cruzada.

O sorovar Tennessee já esteve presente entre os mais frequentes isolados em episódios de infecção alimentar em humanos no Brasil (CAUDURO; MEZZANI; DIAS, 1986). Pesquisas mostram que esse sorovar tem sido isolado de leite em pó destinado ao consumo de crianças (CENTER FOR DISEASES CONTROL, 1993), matérias-primas e ração para aves (HOFER; SILVA FILHO; REIS, 1997), em fezes e linfonodos mesentéricos de suínos abatidos em frigoríficos do Rio Grande do Sul (BESSA;

COSTA; CARDOSO, 2004) e em abatedouros de aves (DICKEL et al., 2005). *S. Tennessee* pode ser introduzida em uma granja através da compra de aves, água, ração ou equipamentos contaminados ou pelo homem.

As médias logarítmicas de CT nas carcaças de frango variaram de 3,24 NMP/g a 4,04 NMP/g no *pré-chiller*. A variação para os frangos que saíram do *chiller* foi de 1,85 NMP/g a 3,69 NMP/g. Não houve diferença significativa (p>0,05) entre as médias logarítmicas do número mais provável de CT em relação a entrada e a saída dos tanques, em um mesmo dia de coleta (Tabela 4).

Tabela 4. Médias logarítmicas, desvio padrão e contagens mínimas e máximas de coliformes totais, coliformes termotolerantes (\log_{10} NMP/g), psicrotróficos e aeróbios mesófilos (\log_{10} UFC/g) das amostras de carcaças frango coletadas antes do *pré-chiller* e após a passagem pelo *chiller* das 20 coletas em um frigorífico avícola de pequeno porte localizado no norte do Estado do Paraná, Brasil.

Padrão Microbiológico	Antes do Pré-chiller (n=60)		Após o Chiller (n=60)	
	Intervalo de contagem	Média de contagem	Intervalo de contagem	Média de contagem
CT	2,3 - 4,40	3,74	0,0 - 4,04	3,10
CTT	2,3 - 4,04	3,65	0,0 - 4,04	3,00
MP	2,0 - 6,63	4,21	2,0 - 5,74	3,66
AM	4,0 - 8,41	6,4	4,0 - 8,05	5,60

CT: Coliformes Totais

CTT: Coliformes Termotolerantes

MP: Microrganismos Psicrotróficos

AM: Aeróbios Mesófilos

Para CTT a legislação (BRASIL, 2001) estabelece um limite máximo de 10^4 UFC/g em carnes resfriadas ou congeladas de aves. As médias logarítmicas de CTT nas carcaças de frango variaram de 3,24 NMP/g a 3,91 NMP/g no *pré-chiller* e de 1,73 NMP/g a 3,69 NMP/g no *chiller*, variações abaixo do limite máximo estabelecido pela legislação brasileira. Não houve diferença significativa ($p>0,05$) entre as médias logarítmicas (Tabela 4).

De acordo com a literatura, níveis de contaminação por AM de 10^2 a 10^5 UFC/cm² em carnes podem indicar condições higiênicas adequadas no abate e contagens acima de 10^5 podem significar condições inadequadas (GILL, 1998). Contaminações de carne em torno de 10^6 UFC/cm² podem indicar início do processo de deterioração com produção de odor desagradável e comprometimento da vida de prateleira. Com contagens iguais ou superiores a 10^7 UFC/cm² limosidade já pode ser evidenciada (GILL, 1998; FRANCO; LANDGRAF, 2002). Apesar da legislação atual não estabelecer limites para AM e MP, as contagens obtidas sugerem deficiência durante o processamento das carcaças.

Na Tabela 4 constam os resultados das contagens de AM e MP, respectivamente. As médias logarítmicas mais elevadas obtidas antes da entrada das carcaças no *pré-chiller* foram de 7,42 NMP/g para AM e 5,73 NMP/g para MP. Após o *chiller* as

médias logarítmicas mais elevadas foram de 6,62 NMP/g a 5,32 NMP/g, para AM e MP, respectivamente. Não houve diferença significativa ($p>0,05$) entre as médias logarítmicas do número mais provável de CT do *pré-chiller* e *chiller*. As médias logarítmicas variaram de 2,69 NMP/100mL a 5,20 NMP/100mL no *pré-chiller* e de 0,84 NMP/100mL a 5,04 NMP/100mL no *chiller*. Nas amostras de água do *pré-chiller* e *chiller* também não apresentaram diferença significativa ($p>0,05$) com relação às médias de CTT que variaram de 2,41 log NMP/100mL a 5,20NMP/100mL no *pré-chiller* e de 0,84 NMP/100mL a 5,04 NMP/100mL no *chiller*. As médias logarítmicas das contagens de MP não apresentaram diferença significativa ($p>0,05$) na água do *pré-chiller* e *chiller* (Tabela 5).

Os resultados deste trabalho mostram que, no frigorífico estudado, a passagem das carcaças de frangos pelos tanques de pré-resfriamento não diminuiu de maneira significativa a contaminação das carcaças. Trabalhos publicados por Ritter e Bergman (2003), Thomson et al. (1975) e Thomson, Cox e Bailey (1976) também demonstraram que os tanques de resfriamento não foram eficazes na redução da contaminação bacteriana em carcaças. Porém, Smith, Cason e Berrang (2005), Soares, Rezende e Srebernich (2005), Reiber et al. (1990), Campbell et al. (1983) e Surkiewicz et al. (1969), afirmaram que os tanques foram eficazes na higienização das carcaças.

Tabela 5. Médias logarítmicas, desvio padrão e contagens mínimas e máximas de coliformes totais, coliformes termotolerantes (\log_{10} NMP/g), psicrotróficos e aeróbios mesófilos (\log_{10} UFC/g) da água do *pré-chiller* e do *chiller* das 20 coletas em um frigorífico avícola de pequeno porte localizado no norte do Estado do Paraná, Brasil.

Padrão Microbiológico	Antes do Pré-chiller (n=60)		Após o Chiller (n=60)	
	Intervalo de contagem	Média de contagem	Intervalo de contagem	Média de contagem
CT	0,30 – 5,38	4,00	0,30 – 5,20	2,81
CTT	2,23 – 5,20	3,81	0,30 – 5,20	2,73
MP	2,30 – 6,60	4,40	2,00 – 7,28	4,13

CT: Coliformes Totais

CTT: Coliformes Termotolerantes

MP: Microrganismos Psicrotróficos

Vários fatores podem influenciar nas contagens de microrganismos em carcaças imersas nos tanques de pré-resfriamento, como o fluxo de água (L/carcaça), temperatura, cloração, grau de contaminação das carcaças antes do *pré-chiller* e higienização dos equipamentos. Neste trabalho o fluxo insuficiente de água, a contaminação das carcaças antes da passagem pelo *pré-chiller* e a higienização inadequada dos equipamentos podem ter influenciado a ineficácia dos tanques de pré-resfriamento na diminuição da contaminação das carcaças. Houston (1985) e Mead (1974) verificaram que a eficácia da higienização das carcaças no *chiller* depende, essencialmente, da quantidade de água usada. Volume e fluxo inadequados de água podem propiciar um acúmulo de microrganismos no *chiller* aumentando os níveis de contaminação das carcaças.

Neste trabalho observou-se que não houve diferença significativa nas médias das contagens de microrganismos nos frangos, antes e após a passagem pelos tanques, assim como na água do *pré-chiller* e *chiller*. Isto poderia ser explicado pela contaminação elevada das carcaças antes do pré-resfriamento, higienização inadequada dos equipamentos, fluxo de água insuficiente e temperaturas da água dos tanques de pré-resfriamento acima das preconizadas pela legislação em algumas aferições.

Os resultados obtidos nesta pesquisa indicaram que no frigorífico pesquisado: os tanques de pré-

resfriamento não foram eficazes em reduzir a carga microbiana das carcaças, pois não foi verificada diferença significativa entre as médias de microrganismos indicadores nas carcaças antes e após o resfriamento; a presença de *Salmonella* spp. em duas (2/120) carcaças de frango, sendo uma após o resfriamento, e em seis (5/120) amostras de água do *pré-chiller* representam risco à saúde pública; os sorovares encontrados nas carcaças e água (*S. Tennessee* e *Salmonella* O8, 20: z_4, z_{23}) pertencem ao grupo das salmonelas paratíficas.

Estes resultados reforçam a necessidade de continuar a busca de procedimentos de controle que visem a redução dos níveis de contaminação de carcaças de frango por *Salmonella*, e conseqüentemente reduzir o risco potencial de transferência destes microrganismos para humanos através do consumo de alimentos preparados a base de produtos de origem animal contaminados. Tais procedimentos incluem necessariamente a implantação de programas de análise de risco e controle de pontos críticos, envolvendo desde a criação do animal até o preparo do alimento pelo consumidor, passando especialmente pelo processamento do produto na planta industrial. Isto permitirá uma melhoria na qualidade microbiológica do produto final.

Referências

- ALMEIDA, P. F.; SILVA, E. N. Estudos sobre a disseminação bacteriana em carcaças de frangos de abatedouros industriais. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, Belo Horizonte, v.44, n.2, p.105-120, 1992.
- BESSA, M. C.; COSTA, M.; CARDOSO, M. Prevalência de *Salmonella* em suínos abatidos em frigoríficos do Rio Grande do Sul. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, Rio de Janeiro, v.24, n.2, p.80-84, 2004.
- BRASIL. Fundação Nacional de Saúde. *Manual prático de análise de água*. Brasília: Fundação Nacional de Saúde, 2004.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Abastecimento e Reforma Agrária. Portaria n.101, de 17.de agosto de 1993. *Método de análise microbiológica para alimentos*. 1991-1992. Brasília: Ministério da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária, 1993.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Divisão de Produtos de Origem Animal. Portaria n.210 de 10 de novembro de 1998. *Regulamento técnico de inspeção tecnológica e higiênico-sanitária de carne de aves*. Brasília: M.A.A., 1998.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria n.8, de 23 de Janeiro de 1995. *Método analítico de carcaças de aves e pesquisa de Salmonella*. Brasília: Ministério da Agricultura, 1995.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC n.39 de 8 de fevereiro de 2002. *Regulamento técnico para instruções de uso, preparo e conservação na rotulagem de carne de aves e seus miúdos crus, resfriados ou congelados*. Brasília: Ministério da Saúde, 2002.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC n.12 de 2 de janeiro de 2001. *Regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos*. Disponível em: <<http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=144>>. Acesso em: 22 out. 2005.
- CAMPBELL, D. F.; JOHNSTON, R. W.; CAMPBELL, G. S.; McCLAIN, D.; MACALUSO, J. F. The microbiology of raw, eviscerated chickens: a ten years comparison. *Poultry Science*, Champaign, v.68, n.5, p.656-662, 1983.
- CAUDURO, P. F.; MEZZANI, A.; DIAS, C. A. G. Isolamento de *Salmonella tennessee* em fezes humanas no Rio Grande do Sul. *Revista de Microbiologia*, São Paulo, v.17, n.2, p.113-119, 1986.
- CENTER FOR DISEASES CONTROL. *Salmonella serotype Tennessee in powdered milk products and infant formula*. Canadá, 1993. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/00021081.htm>>. Acesso em: 22 out. 2005.
- DICKEL, E. L.; SANTOS, L. R.; RODRIGUES, L. B.; VALLE, S. F.; CECATTI, D. Ocorrência de *Salmonella* em abatedouros de aves com tecnologia totalmente automatizada (grande porte), semi automatizada (médio porte) e semi automatizada (pequeno porte). *Higiene Alimentar*, São Paulo, v.19, n.131, p.62-67, 2005.
- EISEL, W. G.; LINTON, R. H.; MURIANA, P. M. A survey of microbial levels for incoming raw beef, environmental souces, and ground beef in a red meat processing plant. *Food Microbiology*, London, v.14, p.273-282, 1997.
- FIRSTENBERG-EDEN, R. S.; NOTERMANS, S.; SCHOTHORST, M. Attachment of certain bacterial strains to chicken and beef meat. *Journal of Food Safety*, Westport, v.1, p.217-228, 1978.
- FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. *Microbiologia dos alimentos*. São Paulo: Atheneu, 2002.
- GILL, C. O. Microbiological contamination of meat during slaughter and butchering of cattle, sheep and pigs. In: DAVIES, A.; BOARD, R. *The Microbiology of Meat and Poultry*. London: Blackie Academic and Professional, 1998. p.118-157.
- GILL, C. O.; MCGINNIS, J. C.; BADONI, M. Use of total or *Escherichia coli* counts to assess the hygienic characteristics of a beef carcass dressing process. *International Journal of Food Microbiology*, Amsterdam, v.31, n.1-3, p.181-196, 1996.
- HOFER, E.; SILVA FILHO, J. S.; REIS, E. M. F. Serovares de *Salmonella* isolados de matérias-primas e de ração para aves no Brasil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, Rio de Janeiro, v.17, p.55-62, 1997.
- HOUSTON, D. L. The overview of US department of agriculture requirements. *Poultry Science*, Champaign, v.64, n.3, p.481-484, 1985.
- JAMES, W. O.; PRUCHA, J. C.; BREWER, R. L. Cost-Effective techniques to control human enteropathogens on fresh poultry. *Poultry Science*, Champaign, v.72, p.1174-1176, 1993.
- JAY, J. M. Indicators of food microbiological quality and safety. In: _____. *Modern food microbiology*. 6.ed. Maryland: Aspen Publication, 2000. p.387-407.
- LILLARD, H. S. The impact of commercial processing procedures on the bacterial contamination and cross-contamination of broiler carcasses. *Journal Food Protection*, Des Moines, v.53, n.3, p.202-204, mar. 1990.

- McMEEKIN, T.; THOMAS, C. J. Retention of bacteria on chicken skin after immersion in bacterial suspensions. *Journal Applied Bacteriology*, Oxford, v.45, n.3, p.383-387, 1978.
- MEAD, G. C. Bacteriological control in the processing of poultry. *Veterinary Record*, London, v.95, n.25, p.569-572, 1974.
- NOGUEIRA, P. J. P. A.; FRANCO, B. D. G. M. Avaliação de diferentes meios de enriquecimento seletivo e plaqueamento na pesquisa de *Salmonella* spp. em carcaças de frango. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 15., 1996, Poços de Caldas. *Anais...* Poços de Caldas: SBCTA, 1996. p.69.
- RAMALHO, L. S.; LIMA, S. M.; SILVA, M. C. D. Avaliação de diferentes meios de isolamento na pesquisa de *Salmonella* spp. em carcaças de frango comercializadas em Maceió. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 17., 2000, Fortaleza. *Anais...* Fortaleza: Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2000. p.4-144.
- REIBER, M. A.; HIERHOLZER, R. E.; ADAMS, M. H.; COLBERG, M.; IZAT, A. L. Effect of litter condition on microbiological quality of freshly killed and processed broilers. *Poultry Science*, Champaign, v.69, n.12, p.2128-2133, 1990.
- RIPABELL, G.; SAMMARCO, M. L.; RUBERTO, A.; LANNITTO, G.; GRASSO, G. M. Immunomagnetic separation and conventional culture procedure for detection of naturally occurring *Salmonella* in raw pork sausages and chicken meat. *Letters in Applied Microbiology*, Oxford, v.24, p.493-497, 1997.
- RITTER, R.; BERGMAN, G. P. Eficácia do sistema de pré-resfriamento em carcaças de frangos. *Higiene Alimentar*, São Paulo, v.17, n.108, p.97-105, 2003.
- SILVA, J. A. Microrganismos patogênicos em carne de frangos. *Higiene Alimentar*, São Paulo, v.12, n.58, p.9-14, 1998.
- SMITH, D. P.; CASON, J. A.; BERRANG, M. E. Effect of fecal contamination and cross-contamination on numbers of coliform, *Escherichia coli*, *Campylobacter* and *Salmonella* on immersion-chilled broiler carcasses. *Journal of Food Protection*, Des Moines, v.68, n.7, p.1340-1345, 2005.
- SOARES, M. M. S. R.; REZENDE, A. C. B.; SREBERNICH, S. M. Análise microbiológica da água utilizada em diversas etapas do abate de aves. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 23., 2005, Santos. *Anais...* Santos: CBM, 2005. CDROM.
- SURKIEWICZ, B. F.; JOHNSTON, R. W.; MORAN, A. B.; KRUMM, G. W. A bacteriological survey of chicken eviscerating plants. *Food Technology*, Chicago, v.23, n.8, p.1066-1069, 1969.
- TALAMINI, D. J. D.; MARTINS, F. M.; NOVAES, M. Embrapa: produção de mercado nacional e internacional do frango. *Avicultura Industrial*, Porto Feliz, v.97, n.1140, p.20-25, 2005.
- THOMAS, C. J.; McMEEKIN, A. T.; PATTERSON, J. T. Prevention of microbial contamination in the poultry processing plant. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM. PREVENTION OF CONTAMINATION AND DESCONTAMINATION IN THE MEAT INDUSTRY, n., 1986, Zeist. *Proceedings...* Zeist: Elsevier Science, 1986. p.163-179.
- THOMSON, J. E.; COX, N. A.; WHITEHEAD, W. K.; MERCURI, A. J.; JUVEN, B. J. Bacterial counts and weight changes of broiler carcasses chilled commercially by water immersion and air-blast. *Poultry Science*, Champaign, v.54, n.5, p.1452-1460, 1975.
- THOMSON, J. E.; COX, N. A.; BAILEY, J. S. Choline, acid and heat treatments to eliminate *Salmonella* on broiler carcasses. *Poultry Science*, Champaign, v.55, n.4, p.1513-1517, 1976.
- UNIÃO BRASILEIRA DE AVICULTURA. *Relatório Anual 2005/2006*. Disponível em: <www.uba.org.br>. Acesso em: 26 maio 2007.

