

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Programa de Pós-Graduação em Ciências e
Tecnologia Agroindustrial



Dissertação

Identificação de pontos de contaminação por *Salmonella* spp. e por indicadores de qualidade higiênico-sanitária no abate e processamento de bovinos

Tatiane Kuka Valente Gandra

Pelotas, 2011



Identificação de pontos de contaminação por *Salmonella* spp. e por indicadores de qualidade higiênico-sanitária no abate e processamento de bovinos

Tatiane Kuka Valente Gandra 2011

TATIANE KUKA VALENTE GANDRA

Identificação de pontos de contaminação por *Salmonella* spp. e por indicadores de qualidade higiênico-sanitária no abate e processamento de bovinos

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial da Faculdade de Agronomia “Eliseu Maciel” da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências

Orientador: Prof. Dr. Wladimir Padilha da Silva

Co-orientador: Prof^a. Ana Eucares von Laer

Pelotas, 2011

Dados de catalogação na fonte:
(Marlene Cravo Castillo – CRB-10/744)

G195i Gandra, Tatiane Kuka Valente

Identificação de pontos de contaminação por *Salmonella* spp.
E por indicadores de qualidade higiênico-sanitária no abate e
Processamento de bovinos. / Tatiane Kuka Valente Gandra ;
orientador Wladimir Padilha da Silva ; co-orientador Ana
Eucares von Laer - Pelotas, 2011.-114f. ; il.- Dissertação (
Mestrado) –Programa de Pós-Graduação em Ciência e
Tecnologia Agroindustrial. Faculdade de Agronomia Eliseu
Maciel . Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, 2011.

1. *Salmonella* spp. 2. Carcaça bovina 3. Mesófilos aeróbios
4. Enterobacteriaceae I. Silva, Wladimir Padilha da (orientador) II
. Título.

CDD 664.94

Banca examinadora:

Prof. Dr. Wladimir Padilha da Silva (DCTA-FAEM-UFPeI)

Profª. Dra. Ângela Maria Fiorentini (DCTA-FAEM-UFPeI)

Prof. Dr. Cláudio Rafael Kuhn (IFSul - Rio Grandense - Campus Pelotas)

*Dedico ao Eliezer e ao Arthur,
minhas duas razões de viver.*

*"Por causa de vocês tenho lindos sonhos para sonhar
Por causa de vocês minha vida é preenchida
Por causa de vocês aprendi que não importa o que eu tenho na vida,
mas sim quem eu tenho na vida."*

AGRADECIMENTOS

A Deus pela força, perseverança e sabedoria para continuar o caminho da vida.

Ao meu grande amor, amigo e companheiro, Eliezer, pelo incentivo a cada passo dessa caminhada, pelos sonhos que sonhamos juntos e tornamos realidade.

Ao pequeno Áthur, pelo sorriso de todos os dias, pelo carinho e pelo sentido da minha existência.

A minha família, meus pais, Joel e Roseli, e minha vó Lucinda, onde mesmo nos momentos distantes, sempre encontrei conforto e segurança.

A minha sogra, Dulce (*in memorian*), pela disposição e ajuda para o início dessa jornada.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Wladimir Padilha da Silva, pela orientação e conhecimentos transmitidos.

As minhas colegas e amigas, Greici e Denise, por toda parceria, companheirismo e principalmente amizade.

As estagiárias, Simone, Janaína Schneider, Janaína Viana e Joline, pela ajuda, companheirismo e principalmente dedicação.

As colegas do Laboratório de Microbiologia de Alimentos, em especial, Márcia, Milena, Vanessa, Andréia, Massako, Élen, Vagna, Carol, Júlia e Kátia, pela ajuda, apoio nos momentos de dúvida e pelas palavras de incentivo.

A Ana Eucares, pela colaboração e conhecimentos transmitidos principalmente no início deste projeto.

A Secretaria da Agricultura, Pecuária e Agronegócio do Rio Grande do Sul e ao pessoal dos frigoríficos, que abriram as portas para que fosse possível a execução deste trabalho.

Ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo apoio financeiro.

Aos Laboratórios de Parasitologia e Fitomelhoramento, e a todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho.

RESUMO

GANDRA, T. K. V. **Identificação de pontos de contaminação por *Salmonella* spp. e enumeração de micro-organismos indicadores (mesófilos aeróbios e *Enterobacteriaceae*) no abate e processamento de bovinos.** 2011. 116f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

A carne é um dos itens mais importantes da dieta alimentar da população brasileira e possui fundamental importância para a economia do País. Contudo, tanto para consolidação efetiva da exportação brasileira de carne bovina *in natura* e de seus derivados a outros mercados, como para oferecer ao mercado interno produtos com qualidade nutricional e segurança alimentar é indispensável à manutenção de uma vida útil adequada e de uma qualidade microbiológica aceitável para estes produtos. Neste contexto, este estudo foi realizado com intuito de verificar a qualidade microbiológica, através da pesquisa de *Salmonella* spp. e da quantificação de micro-organismos mesófilos aeróbios e de *Enterobacteriaceae*, em carcaças bovinas, provenientes de dois frigoríficos-matadouros com níveis de inspeção sanitária diferentes (estadual e federal), localizados na região sul do Rio Grande do Sul e, além destas, em cortes, superfícies de equipamentos, utensílios e mãos de manipuladores, no frigorífico de Inspeção Estadual. Foram avaliadas 60 carcaças bovinas nos dois frigoríficos, em quatro pontos da linha de abate (após a sangria, após a esfolagem, após a evisceração e após a lavagem pré-resfriamento), totalizando 240 amostras. No frigorífico com Inspeção Estadual, além das carcaças, foram amostradas superfícies do ambiente de abate e processamento (serra de abertura do esterno, serra de divisão das carcaças, mesa, faca e mãos dos manipuladores) e dois cortes (alcatra e filé) que totalizaram 52 amostras. Para avaliação estatística dos resultados realizou-se uma análise de variância seguida do teste de Tuckey e determinaram-se coeficientes de correlação entre as concentrações microbianas verificadas nos pontos amostrados. Dentre os pontos avaliados verificaram-se maiores concentrações de micro-organismos mesófilos aeróbios e de *Enterobacteriaceae*, bem como a presença de *Salmonella* spp. no ponto de coleta após a sangria, indicando que o couro de bovinos é fonte de introdução de micro-organismos no ambiente de abate para dois frigoríficos, e que as operações de higiene e sanitização do couro de bovinos que antecedem o abate não foram efetivas para impedir entrada destes micro-organismos no ambiente de abate. A partir das contagens das superfícies do ambiente constatou-se que as mãos dos manipuladores são um ponto importante de contaminação de mesófilos aeróbios e de *Enterobacteriaceae* no frigorífico de Inspeção Estadual. *Salmonella* spp. foi encontrada no couro dos bovinos, nos dois Frigoríficos avaliados, entretanto, não foi detectada em nenhum outro ponto de amostragem da linha de abate, do ambiente e nem nos cortes cárneos, demonstrando que as operações de abate foram efetivas para o controle da contaminação da carcaça e dos cortes cárneos, por esse micro-organismo. Os frigoríficos com diferentes níveis de inspeção sanitária apresentaram elevados coeficientes de correlação para a concentração de micro-organismos mesófilos aeróbios ($R=0,97$) e *Enterobacteriaceae* ($R=0,91$), e em relação à presença de *Salmonella* spp. não apresentaram diferença significativa, indicando que as formas de contaminação das carcaças durante as operações de abate para estes micro-organismos são provavelmente as mesmas.

Palavras-chave: carcaça bovina, mesófilos aeróbios, *Enterobacteriaceae*, *Salmonella* spp.

ABSTRACT

GANDRA, T. K. V. **Identificação de pontos de contaminação por *Salmonella* spp. e enumeração de micro-organismos indicadores (mesófilos aeróbios e *Enterobacteriaceae*) no abate e processamento de bovinos.** 2011. 116f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

Meat is one of the most important population diet items and has fundamental importance for the economy of the country. However, both for effective consolidation of Brazilian fresh beef exports to other markets, such as to offer domestic products with nutrition quality and food security is essential for maintaining an adequate shelf life and an acceptable microbiological quality of these products. In this context, this study was carried out to verify the microbiological quality by *Salmonella* spp., mesophilic aerobic microorganisms and *Enterobacteriaceae* quantification on bovine carcasses from two abattoirs-slaughterhouses with different levels of sanitary inspection (federal and state), located in southern Rio Grande do Sul and beyond, curtilments, equipment surfaces, utensils, and hands of food handlers, in the slaughterhouse for state inspection. Sixty cattle carcasses were evaluated two abattoirs-slaughterhouses, in four points in the slaughter line (after bleeding, after skinning, after evisceration, after washing and before cooling), totaling 240 samples. In the state inspection slaughterhouse the carcasses were sampled environmental surface slaughtering and processing (sawing open the breastbone, sawing the division of carcasses, table, knife and handlers) and two cuts (loin and fillet) totaling 52 samples. For statistical evaluation of results was carried out an analysis of variance followed by Tukey test and determining the correlation coefficients between microbial concentrations recorded in the sampled points. Among the points studied showed higher concentrations of mesophilic aerobic micro-organisms and *Enterobacteriaceae* as well as the presence of *Salmonella* spp. at the collection point after bleeding, indicating that the leather of cattle is a introduction source of microorganisms in the environment two abattoirs-slaughterhouses, and that the operations of hygiene and sanitation leather cattle before slaughter were not effective for prevent entry of these microorganisms in the environment of slaughter. From the scores of environmental surfaces found that the handlers are an important point of contamination in the state inspection slaughterhouse considering that showed significantly higher concentrations of mesophilic bacteria and *Enterobacteriaceae* in comparison with other items of the environment. *Salmonella* spp. was found in the leather of cattle, in the two abattoirs-slaughterhouses, however, was not detected in any other sample point of the slaughter line or in the environment and cuts, showing that the culling operations were effective to control contamination carcass and meat cuts for that microorganism. Finally, the slaughterhouses with different levels of sanitary inspection showed high correlation coefficients for the concentration of micro-organisms and aerobic mesophile ($R=0,97$) *Enterobacteriaceae* ($R=0,91$), and for the presence of *Salmonella* spp. no significant differences, indicating that the forms of contamination of carcasses during slaughter operations for these microorganisms are probably the same.

Keywords: bovine carcass, aerobic mesophilic, *Enterobacteriaceae*, *Salmonella* spp.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1– Participação dos tipos de produtos nas exportações de carne bovina no Brasil, do período de janeiro a dezembro de 2010.....	21
Figura 2 – Casos de surtos associados a <i>S. Thyphimurium</i> nos Estados Unidos, por estado, no período de 2008 a 2009.....	29
Figura 3 – Número de pessoas infectadas com <i>S. Montevideo</i> em surto associado a salame italiano nos Estados Unidos, por Estado, no período de 2009 a 2010.....	30
Figura 4 –Surtos alimentares com agente etiológico definido ocorridos no Brasil no período de 1999 a 2010	31
Figura 5 - Fluxograma do abate de bovinos indicando os Pontos de Coleta das amostras de superfície das carcaças nos Frigoríficos-matadouros A e B.....	38
Figura 6 – Esquema representativo indicando os pontos (*) onde realizou-se o esfregaço em superfície na carcaça inteira e após a divisão da meia-carcaça.....	40
Figura 7 – Representação esquemática da metodologia empregada para detecção de <i>Salmonella</i> spp., conforme a metodologia descrita no <i>International Organization for Standardization</i> (ISO 6579:2002) (2002), com modificações	44
Figura 8 - Esquema representativo da metodologia empregada para enumeração de micro-organismos mesófilos aeróbios, conforme AOAC® 990.12 (2011), modificado por Machado et al. (2010)	46
Figura 9 - Esquema da metodologia empregada para enumeração <i>Enterobacteriaceae</i> , conforme AOAC® 2003.01 (2011)	48
Figura 10 - Presença de <i>Salmonella</i> spp (%) em carcaças bovinas em quatro Pontos de Coleta dos Frigoríficos A e B.....	50
Figura 11 - Presença de <i>Salmonella</i> spp (%) no couro de carcaças bovinas por período do ano no Frigorífico A.....	51
Figura 12 - Presença de <i>Salmonella</i> spp (%) no couro de carcaças bovinas por período do ano no Frigorífico B.....	52
Figura 13 – Média das enumerações de micro-organismos mesófilos aeróbios nas superfícies das carcaças bovinas nos Pontos de Coleta das operações de abate do Frigorífico A.....	58

Figura 14 - Média das enumerações de micro-organismos mesófilos aeróbios em carcaças bovinas em quatro Pontos de Coleta das operações de abate do Frigorífico B	59
Figura 15 - Média das enumerações de <i>Enterobacteriaceae</i> nas superfícies das carcaças bovinas nos quatro Pontos de Coleta das operações de abate do Frigorífico A	62
Figura 16 - Média das enumerações de <i>Enterobacteriaceae</i> nas superfícies das carcaças bovinas em quatro Pontos de Coleta das operações de abate do Frigorífico B	63
Figura 17 - Média das enumerações de micro-organismos mesófilos aeróbios em carcaças bovinas dos Frigoríficos A e B.....	65
Figura 18 - Média das enumerações de <i>Enterobacteriaceae</i> em carcaças bovinas dos Frigoríficos A e B	65
Figura 19 - Correlação entre as médias dos Pontos de Coleta dos Frigoríficos A e B em relação a enumeração de micro-organismos mesófilos aeróbios.....	66
Figura 20 – Correlação entre as médias dos Pontos de Coleta dos Frigoríficos A e B em relação a enumeração de <i>Enterobacteriaceae</i>	67
Figura 21 – Média das enumerações de micro-organismos mesófilos aeróbios no ambiente de abate; no ambiente da sala de cortes (antes do início e durante o processo de cortes) e dos cortes de alcatra e filé mignon, no Frigorífico A	71
Figura 22 – Média das enumerações de <i>Enterobacteriaceae</i> no ambiente de abate, no ambiente da sala de cortes (antes do início e durante o processo de cortes) e nos cortes de alcatra e filé mignon do Frigorífico A	74

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Produção mundial de carne bovina em 2009	20
Tabela 2 – Exportação mundial de carne bovina em 2009.....	21
Tabela 3 – Características diferenciais das espécies e subespécies de <i>Salmonella</i>	27
Tabela 4 - Número máximo de amostras positivas para <i>Salmonella</i> spp. permitidas por amostra fixada para os EUA e para países exportadores ao mercado norte- americano.....	32
Tabela 5 – Número de carcaças/amostras avaliadas na linha de abate em dois Frigoríficos-matadouros (A e B) com diferentes níveis de inspeção	39
Tabela 6 – Número de amostras avaliadas no ambiente de processamento e em cortes no Frigorífico de Inspeção Estadual	41
Tabela 7 – Presença de <i>Salmonella</i> spp.(%) nas carcaças em relação aos Pontos de Coleta dos Frigoríficos A e B.....	49
Tabela 8 – Enumeração de micro-organismos mesófilos aeróbios e <i>Enterobacteriaceae</i> nas carcaças do Frigorífico A	55
Tabela 9 – Enumeração de micro-organismos mesófilos aeróbios e <i>Enterobacteriaceae</i> nas carcaças do Frigorífico B	57
Tabela 10 - Enumeração de micro-organismos mesófilos aeróbios e de <i>Enterobacteriaceae</i> no ambiente de abate, no ambiente da sala de cortes (antes do início e durante o processo de cortes) e nos cortes de alcatra e filé mignon no Frigorífico A.....	68

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABIEC - Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne

AC - contagem de mesófilos aeróbios por Petrifilm™

ANOVA - análise de variância

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

AOAC - *Official Methods of Analysis*SM of Association of Official Analytical Chemists

AP - Água Peptonada 0,1%

APHA - *American Public Health Association*

APS – Água Peptonada 0,1% Salina 0,85%

APT - Água Peptonada Tamponada

ASSOCON – Associação Nacional dos Confinadores

BEPA - Boletim Epidemiológico Paulista

BPF - Boas Práticas de Fabricação

CC, HSCC – contagem de coliformes por Petrifilm™

CDC - *Center of Disease Control and Prevention*

CEVS/RS- Centro Estadual de Vigilância em Saúde do Rio Grande do Sul

CISPOA - Serviço de Inspeção Estadual da Coordenadoria de Inspeção de Produtos de Origem Animal

CVE - Centro de Vigilância Epidemiológica Alexandre Vranjac

DCTA/FAEM/UFPel - Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel da Universidade Federal de Pelotas

DTA - Doenças Transmitidas por Alimentos

EB - contagem de *Enterobacteriaceae* por Petrifilm™

EC - contagem de coliformes totais e *E. coli* por Petrifilm™

EU – European Union

FAO - *Food and Agriculture Organization of the United Nations*

(H) - antígenos flagelares

HACCP - *Hazard Analysis of Critical Control Points*

ICMSF - *International Commission on Microbiological Specifications for Foods*

ISO - *International Organization for Standardization*

LIA - ágar Lisina Ferro

logUFC - logaritmo de unidades formadoras de colônias

MAPA - Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento
MKTTn - Caldo Tetrionato Muller-Kauffmann com novobiocina
MLCB - ágar Manitol Lisina Cristal Violeta Verde Brilhante
(O) - antígenos somáticos
OMC - Organização Mundial do Comércio
OMS - Organização Mundial da Saúde
PA – Portal do Agronegócio
PFGE - *Pulsed-field Gel Electrophoresis*
POP - Procedimento Operacional Padrão
PPHO – Procedimento Padrão de Higiene Operacional
PRP - Programa de Redução de Patógenos
RIISPOA - Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal
RSA - contagem de *Staphylococcus aureus* por Petrifilm™
SCVPH - *Scientific Committee for Veterinary Measures Relating to Public Health*
RVS - Caldo Rappaport-Vassiliadis com soja
SIC – Serviço de Informação da Carne
SIF - Serviço de Inspeção Federal
SVS/MS - Serviço Nacional de Saúde do Ministério da Saúde
TSI - ágar Tríplice Açúcar Ferro
UFC – Unidades Formadoras de Colônias
USDA - United States Department of Agriculture
(Vi) – antígenos capsulares
XLD - ágar Xilose Lisina Desoxicolato
WHO - *World Health Organization*
YM - contagem de bolores de leveduras por Petrifilm™

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 OBJETIVOS.....	18
3 REVISÃO DE LITERATURA	19
3.1 Cadeia produtiva de carne bovina e aspectos relacionados à segurança microbiológica	19
3.2 <i>Salmonella</i> spp.....	24
3.2.1 Classificação taxonômica e nomenclatura	24
3.2.2 Características fenotípicas	26
3.2.3 Características das doenças causadas por <i>Salmonella</i> spp.	27
3.2.4 Epidemiologia e relação com a indústria de alimentos de origem animal	28
3.3 Micro-organismos indicadores.....	33
3.3.1 Micro-organismos aeróbios mesófilos	34
3.3.2 Enterobactérias	35
3.3.3 Métodos rápidos para enumeração de micro-organismos indicadores	36
4 MATERIAIS E MÉTODOS	38
4.1 Coleta das amostras na linha de abate	38
4.2 Coleta das amostras no ambiente de processamento e em cortes.....	40
4.3 Preparo das amostras	41
4.4 Análises microbiológicas	42
4.4.1 Pesquisa de <i>Salmonella</i> spp.	42
4.4.2 Enumeração de micro-organismos mesófilos aeróbios.....	45
4.4.3 Enumeração de Enterobactérias (<i>Enterobacteriaceae</i>).....	47
4.5 Análise estatística.....	47
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	49
5.1 Avaliação das carcaças bovinas em relação a presença de <i>Salmonella</i> spp. nos Frigoríficos A e B.....	49
5.2 Avaliação do ambiente de processamento e dos cortes de alcatra e filé mignon em relação a presença de <i>Salmonella</i> spp. no Frigorífico A	53
5.3 Avaliação das carcaças bovinas em relação a enumeração de micro-organismos mesófilos aeróbios nos Frigoríficos A e B	55

5.4 Avaliação das carcaças bovinas em relação a enumeração de <i>Enterobacteriaceae</i> nos Frigoríficos A e B	61
5.5 Comparação entre as carcaças bovinas dos Frigoríficos A e B em relação a enumeração de micro-organismos mesófilos aeróbios e enumeração de <i>Enterobacteriaceae</i>	65
5.6 Avaliação do ambiente de processamento e dos cortes de alcatra e filé mignon em relação a enumeração de micro-organismos mesófilos aeróbios no Frigorífico A	67
5.7 Avaliação do ambiente de processamento e dos cortes de alcatra e filé mignon em relação a enumeração de <i>Enterobacteriaceae</i> no Frigorífico A.....	74
6 CONCLUSÕES	77
REFERÊNCIAS.....	78
APÊNDICES	89
ANEXOS	112

1 INTRODUÇÃO

A carne é um dos itens mais importantes da dieta alimentar da população brasileira e possui fundamental importância para a economia do País. Atualmente, o Brasil ocupa a segunda posição do ranking mundial em produção e a primeira em exportação (ABIEC, 2011).

Contudo, tanto para consolidação efetiva da exportação brasileira de carne bovina *in natura* e de seus derivados a outros mercados, como para oferecer ao mercado interno produtos com qualidade nutricional e segurança alimentar é indispensável à manutenção de uma vida útil adequada e de uma qualidade microbiológica aceitável para estes produtos (ASSOCON, 2011).

O nível de contaminação e a presença, tanto de bactérias deteriorantes como patogênicas, nas carcaças e nos cortes bovinos, são fatores primários que afetam a exportação da carne bovina do País (DICKSON et al., 1991).

Para minimizar os efeitos destes fatores é fundamental o monitoramento microbiológico das carcaças bovinas, tanto para garantia da segurança dos produtos obtidos a partir dessas carcaças, como para verificação da qualidade higiênico-sanitária dos procedimentos de abate na indústria. (SABA, 2006).

Os mercados importadores mais exigentes são os Estados Unidos e a União Européia - UE. Os Estados Unidos exigem a execução diária de testes microbiológicos para *E. coli* e *Salmonella* spp e, no caso da União Européia, são exigidas informações a respeito de indicadores de qualidade e segurança microbiológica, mais especificamente a enumeração de micro-organismos mesófilos aeróbios e de *Enterobacteriaceae*, além da pesquisa de *Salmonella* spp. (BRASIL, 2004; COMMISSION REGULATION -EU, 2005).

No Brasil, os padrões microbiológicos atuais da Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA (BRASIL, 2001) não fazem referência à enumeração de micro-organismos indicadores de higiene, porém, exigem para “carnes resfriadas, ou congeladas, *in natura*, de bovinos (carcaças inteiras ou fracionadas, quartos ou cortes), ausência de *Salmonella* spp.

Considerando que a principal fonte de contaminação da carne com micro-organismos deteriorantes e patogênicos é o próprio animal, o monitoramento de possíveis pontos de contaminação no abate e processamento da carne bovina,

aliado a implementação de programas de qualidade como Boas Práticas de Fabricação – BPF, Programa de Redução de Patógenos – PRP e o sistema de *Hazard Analysis of Critical Control Points* - HACCP durante os processos de abate, podem minimizar os riscos de contaminação, e dessa forma garantir a segurança do produto final.

Entretanto, mesmo para empresas que se preocupam com a segurança dos alimentos que produzem e que tenham sistemas HACCP implantados, é difícil correlacionar os limites estabelecidos com os impactos à saúde pública, principalmente em países com dados epidemiológicos precários.

Neste sentido, em 1995, a Organização Mundial do Comércio - OMC, através do Acordo Sanitário e Fitossanitário, e a Organização Mundial da Saúde - OMS, passaram a recomendar a aplicação de uma nova ferramenta para avaliar o impacto de micro-organismos contaminantes de alimentos na saúde da população, chamada Análise de Risco (CODEX ALIMENTARIUS, 1999).

Na maioria dos países, inclusive no Brasil, avaliações de risco microbiológico são difíceis de serem realizadas devido às inúmeras lacunas, com destaque para a fragilidade dos dados quantitativos a respeito de pontos de contaminação e prevalência dos micro-organismos patogênicos de relevância na cadeia produtiva de carnes, bem como dados sobre o seu comportamento durante as etapas de abate e sua disseminação nas plantas de processamento (SANT'ANA e FRANCO, 2009).

Nesse contexto, o monitoramento da concentração de micro-organismos indicadores, tais como mesófilos aeróbios e *Enterobacteriaceae*, no abate e processamento de produtos de origem animal, mais do que denotar informações referentes à alteração dos alimentos e sua provável vida útil, indicam condições favoráveis para multiplicação de micro-organismos potencialmente patogênicos como *Salmonella* spp. (MENDONÇA e GRANADA, 1999; CUNHA e SILVA, 2006).

Bactérias do gênero *Salmonella* são a principal causa de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA) em todo o mundo. Geralmente são transmitidas aos seres humanos através do consumo de alimentos contaminados, principalmente os de origem animal como carnes, aves, ovos e leite. Em virtude disso, *Salmonella* spp. é um dos micro-organismos patogênicos de maior relevância na carne bovina e sua presença indica risco ao consumidor. (WHO, 2011b).

Uma vez que *Salmonella* spp. mantêm-se viável por meses no meio ambiente, pode tornar-se endêmica em plantas de processamento de produtos de

origem animal através da formação de biofilmes e adesão em superfícies utilizadas na indústria (TIMONEY et al., 1988; OLIVEIRA, 2006).

Considerando a relevância de *Salmonella* spp. para a indústria cárnea nos Estados Unidos e em países exportadores para o mercado norte-americano, como o Brasil, institui-se a obrigatoriedade do Programa de Redução de Patógenos, onde um dos quatro componentes principais são os chamados “Padrões de Desempenho para *Salmonella*”. A escolha deste componente especificamente para *Salmonella* spp. foi fundamentada no fato que a redução da porcentagem de carcaças com *Salmonella* spp. implicará na redução de outros patógenos (FIGUEIREDO, 2002).

Assim, processos de obtenção de produtos de origem animal, pelas características intrínsecas da matéria-prima favoráveis ao crescimento microbiano, apresentam maior risco microbiológico à contaminação de *Salmonella* spp. e exigem metodologias de controle e monitoramento mais efetivas durante as operações de abate e processamento.

A determinação de possíveis pontos favoráveis à contaminação nas operações de abate e processamento de bovinos, por micro-organismos potencialmente patogênicos, em especial *Salmonella* spp. e por micro-organismos indicadores de qualidade higiênico-sanitária, vem a contribuir de forma significativa com a implantação de medidas preventivas e de monitoramento em programas de qualidade e, conseqüentemente, com a redução de riscos à saúde do consumidor.

Dessa forma, para consolidação do País como produtor e exportador de carne e produtos cárneos faz-se necessário a implementação de estudos quantitativos e qualitativos relacionados à segurança microbiológica, principalmente em relação à micro-organismos indicadores e patogênicos durante as operações de abate e processamento de carne e produtos cárneos.

Neste contexto, este estudo foi realizado com intuito de verificar a qualidade microbiológica, através da pesquisa de *Salmonella* spp. e da quantificação de micro-organismos mesófilos aeróbios e de *Enterobacteriaceae*, em carcaças bovinas, provenientes de dois frigoríficos-matadouros com níveis de inspeção sanitária diferentes (estadual e federal), localizados na região sul do Rio Grande do Sul e, além destas, em cortes, superfícies de equipamentos, utensílios e mãos de manipuladores, no frigorífico de Inspeção Estadual.

2 OBJETIVOS

- Verificar a ocorrência e o nível de contaminação de carcaças bovinas por *Salmonella* spp., na linha de abate em dois frigoríficos-matadouros, com diferentes níveis de inspeção sanitária, localizados na região sul do Rio Grande do Sul;
- Quantificar micro-organismos mesófilos aeróbios e *Enterobacteriaceae* em carcaças bovinas na linha de abate em dois frigoríficos-matadouros, com diferentes níveis de inspeção sanitária, localizados na região sul do Rio Grande do Sul;
- Correlacionar estatisticamente os dados microbiológicos encontrados nos dois frigoríficos-matadouros com diferentes níveis de inspeção sanitária;
- Verificar a ocorrência de *Salmonella* spp. e a concentração de mesófilos aeróbios e *Enterobacteriaceae* no ambiente processamento e em cortes no frigorífico-matadouro de Inspeção Estadual;
- Identificar os principais pontos de contaminação por *Salmonella* spp. e por micro-organismos indicadores de higiene na linha de abate e no ambiente de processamento de carne bovina.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Cadeia produtiva de carne bovina e aspectos relacionados à segurança microbiológica

Segundo ZEN (2011) a carne bovina é um dos itens mais importantes da dieta alimentar da população brasileira. O seu consumo no Brasil segue as disparidades da renda existentes no País: pessoas de renda elevada têm taxas de consumo semelhantes às dos maiores consumidores mundiais, com mais de 50 kg/habitante/ano, enquanto as camadas de baixa renda consomem menos de 10 kg/habitante/ano.

A disponibilidade do mercado nacional atual situa-se em torno de 34 kg/habitante/ano, entretanto, este mercado apresenta um dos maiores potenciais de crescimento na atualidade, decorrente principalmente, da melhoria do poder de compra dos consumidores brasileiros e do aumento da capacidade da cadeia produtiva em se adequar ao consumo (ZEN, 2011).

Em 2009, segundo dados da Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne - ABIEC (2011), a produção mundial de carne bovina processada pela indústria frigorífica no mundo foi de 57 milhões de toneladas. Deste total, 9,2 milhões de toneladas (16%) foram processadas pelo Brasil, que ocupa a segunda colocação do ranking global (Tabela 1).

Tabela 1 - Produção mundial de carne bovina em 2009

País	Produção 2009 (Ton.)	%
EUA	11.816.000	21
Brasil	9.180.000	16
UE-27	8.000.000	14
China	5.764.000	10
Argentina	3.200.000	6
Índia	2.660.000	5
Austrália	2.100.000	4
México	1.625.000	3
Canadá	1.300.000	2
Rússia	1.20.000	2
Outros países	9.700.000	17
Total	57.027.000	100

Fonte: USDA, 2011.

Segundo o último relatório divulgado pela *Food and Agriculture Organization of the United Nations* – FAO, o mundo irá dobrar a sua produção de alimentos até 2050 e a pecuária tem papel fundamental para atender a demanda da população que deve saltar dos atuais 6,5 bilhões para 9,1 bilhões de habitantes. Neste contexto, o Brasil desponta como importante potência econômica emergente e com forte potencial para se consolidar como fornecedor regular de carne bovina e seus derivados para o mundo (Tabela 2 e Figura 1) (ASSOCON, 2011).

Tabela 2 – Exportação mundial de carne bovina em 2009

País	Exportação 2009 (Ton.)	%
Brasil	1.926.000	27
Austrália	1.390.000	19
EUA	785.000	11
Índia	675.000	9
Argentina	560.000	7
Nova Zelândia	525.000	7
Canadá	475.000	6
Uruguai	310.000	4
Paraguai	210.000	3
UE – 27	160.000	2
Outros países	365.000	5
Total	7.106.000	100

Fonte: USDA, 2011

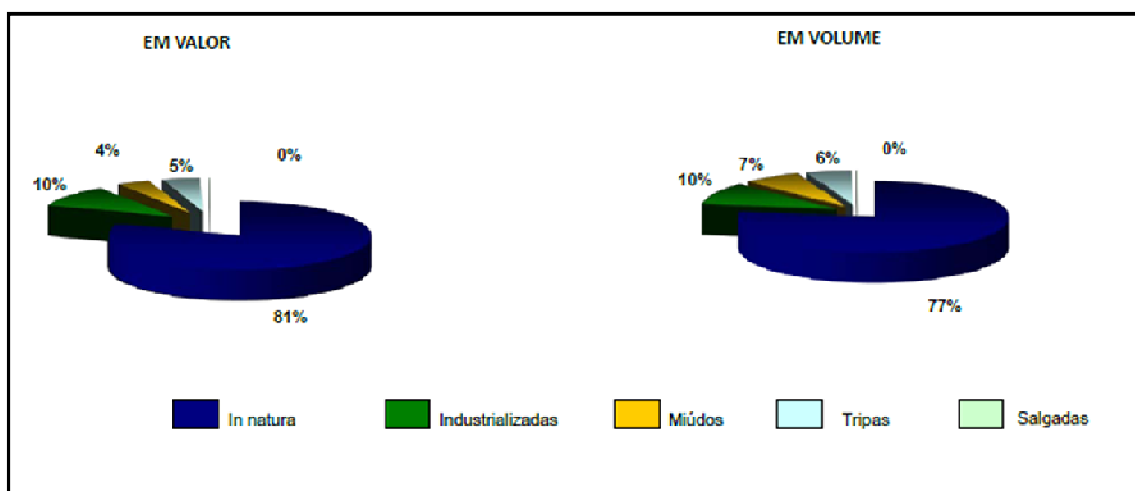


Figura 1– Participação dos tipos de produtos nas exportações de carne bovina no Brasil, do período de janeiro a dezembro de 2010

Fonte: ABIEC, 2011

Os principais destinos da carne brasileira *in natura* são a Rússia, Irã, Hong Kong, Egito, Venezuela e Argélia. Já a carne industrializada, é comercializada principalmente para EUA, Reino Unido, Itália, Holanda e Japão (OLIVO, 2006; PA, 2011).

Entretanto, para consolidação da exportação brasileira de carne bovina *in natura* e seus derivados a outros mercados, é fundamental que o produto tenha vida útil adequada e segurança microbiológica aceitável. O nível de contaminação e a presença tanto de bactérias deteriorantes como patogênicas nas carcaças e cortes bovinos são fatores primários que afetam o mercado importador da carne bovina brasileira. O controle destas características depende fundamentalmente do monitoramento microbiológico de toda a cadeia produtiva de bovinos, principalmente nas operações de abate e processamento (DICKSON et al., 1991).

Segundo Saba (2006) no quesito qualidade microbiológica dos produtos de origem animal, os mercados importadores mais exigentes são os Estados Unidos e a União Européia - UE. As legislações vigentes destes mercados exigem a execução de testes microbiológicos em carcaças de bovinos, a garantia da segurança dos produtos obtidos a partir dessas carcaças e a verificação da qualidade higiênico-sanitária dos procedimentos de abate na indústria.

Os Estados Unidos exigem a execução diária de testes microbiológicos para *E. coli* e *Salmonella* spp e, no caso da União Européia, são exigidas informações a respeito de indicadores de qualidade e de segurança microbiológica, mais especificamente a enumeração total de micro-organismos aeróbios e de *Enterobacteriaceae*, além da pesquisa de *Salmonella* spp. (BRASIL, 2004; COMMISSION REGULATION, 2005).

No Brasil, os padrões microbiológicos atuais da Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA (BRASIL, 2001) não fazem referência à enumeração de micro-organismos indicadores de higiene, porém, exigem para “carnes resfriadas, ou congeladas, *in natura*, de bovinos (carcaças inteiras ou fracionadas, quartos ou cortes), ausência de *Salmonella* spp.

Relacionado à estas exigências, nas últimas décadas, uma variedade de riscos microbiológicos detectados nos alimentos, aliada a um aumento da consciência dos consumidores em relação aos seus direitos, aumentou a cobrança das autoridades pela implantação de novos conceitos de segurança alimentar (SANT’ANA e FRANCO, 2009).

Neste sentido, em 1995, a Organização Mundial do Comércio - OMC, através do Acordo Sanitário e Fitossanitário, e a Organização Mundial da Saúde - OMS, passaram a recomendar a aplicação de uma nova ferramenta para avaliar o

impacto de micro-organismos contaminantes de alimentos na saúde da população, chamada Análise de Risco (CODEX ALIMENTARIUS, 1999).

A análise de risco instrumentaliza os processos de tomada de decisão, contribuindo para a definição de metas e de estratégias para a redução da ocorrência das doenças transmitidas por alimentos e água, com embasamento científico; planejamento e implementação de intervenções adequadas, bem como o monitoramento de resultados (FAO e WHO, 2005).

Segundo o Codex Alimentarius (1999), a avaliação de risco microbiológico é um processo de base científica, que se inicia com a determinação da combinação patógeno-alimento a ser considerada e é constituído das etapas: (i) identificação do perigo microbiológico; (ii) caracterização deste perigo; (iii) avaliação da exposição e (iv) caracterização do risco.

Para identificar o perigo microbiológico a ser considerado em um dado tipo de alimento, de acordo com seu envolvimento como agente de doenças nos consumidores, é preciso basear-se em informações epidemiológicas e quantitativas pertinentes ao patógeno e aos alimentos avaliados (WOOLDRIDGE, 2008).

Na maioria dos países, inclusive no Brasil, avaliações de risco microbiológico são difíceis de serem realizadas devido às inúmeras lacunas, com destaque para a fragilidade dos dados quantitativos a respeito da prevalência dos micro-organismos patogênicos de relevância na cadeia produtiva de carnes, bem como dados sobre o seu comportamento durante as etapas de abate e sua disseminação nas plantas de processamento (SANT'ANA e FRANCO, 2009).

No abate e processamento de produtos de origem animal, como os bovinos, os animais carregam um vasto e variado número de micro-organismos proveniente do ambiente de criação, da alimentação, do solo e da água. Estes micro-organismos colonizam a pele, pêlos e o trato intestinal, os quais são introduzidos no matadouro-frigorífico e constituem fontes de contaminação da carne durante a sua obtenção (GIL, 2000; SCVPH, 2001, SABA, 2006).

Dessa forma, considerando que a principal fonte de contaminação da carne com micro-organismos deteriorantes e patogênicos é o próprio animal, a carga microbiana da carne está diretamente relacionada com a implementação de programas de qualidade como Boas Práticas de Fabricação – BPF, Programa de Redução de Patógenos – PRP e o sistema de *Hazard Analysis of Critical Control*

Points – HACCP, durante os processos de abate, os quais podem minimizar os riscos de contaminação cruzada.

O controle e o monitoramento estrito de todas as operações, além de minimizar a contaminação microbiana das carcaças, pode evitar sérios danos à saúde do consumidor, garantir maior vida útil aos produtos e novos mercados às carnes produzidas no Brasil (DICKSON & ANDERSON, 1991; ROÇA & SERRANO, 1994; SABA, 2006).

Em relação à fiscalização por parte dos órgãos governamentais, atualmente, no Brasil, após a promulgação da Lei federal nº 7889, de 23 de novembro de 1989 (BRASIL, 1989), tem-se três competências legais nas quais se exercem os serviços de inspeção de produtos de origem animal:

- Serviço de Inspeção Federal: registram-se nesse serviço os estabelecimentos que comercializam produtos entre Estados e/ou para exportação;
- Serviço de Inspeção Estadual: nesse serviço são registrados os estabelecimentos que comercializam produtos para outro Município;
- Serviço de Inspeção Municipal: são registrados nesse serviço os estabelecimentos que comercializam produtos dentro do Município.

São competentes para realizar essas inspeções nos estabelecimentos produtores e no transporte o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento e as Secretarias Estaduais e Municipais de Agricultura. Já a fiscalização no varejo compete à Secretaria da Saúde, por intermédio da Vigilância Sanitária, serviço que pode ser estadual ou municipal. Dessa forma, em um estabelecimento de abate de bovinos, o animal é submetido a uma série de análises e exames antes e depois do abate para garantir ao consumidor final um produto de qualidade, denominados inspeção *ante mortem* e inspeção *post mortem* (SIC, 2011).

3.2 *Salmonella* spp.

3.2.1 Classificação taxonômica e nomenclatura

O gênero *Salmonella*, pertencente à família *Enterobacteriaceae*, possui uma classificação taxonômica complexa e diferentes sistemas podem ser empregados para seu estudo. Baseado em estudos genômicos, o gênero é dividido em duas

espécies: *S. enterica* e *S. bongori* (GRIMONT e WEILL, 2007), porém, em 2004 foi proposta a inclusão de uma terceira espécie denominada *S. subterranea*, isolada de uma região aquífera dos Estados Unidos (SHELOBOLINA et al., 2004; VAZ, 2007).

Salmonella enterica possui seis subespécies expressas por nomes e algarismos romanos, as quais apresentam diferenças bioquímicas e genômicas entre si: *S. enterica* subespécie *enterica* (I), *S. enterica* subespécie *salamae* (II), *S. enterica* subespécie *arizonae* (IIIa), *S. enterica* subespécie *diarizonae* (IIIb), *S. enterica* subespécie *houtenae* (IV), e *S. enterica* subespécie *indica* (VI). Enquanto que *S. bongori*, apresenta uma subespécie *bongori* (V) (GRIMONT e WEILL, 2007; ZUCON, 2008; GUIBOURDENCHE et al, 2010).

A classificação do gênero *Salmonella* está baseada atualmente no esquema de White-Kauffmann-Le Minor e envolve atualmente mais de 2500 sorovares de *Salmonella* identificados. Está relacionada à caracterização de seus antígenos de superfície, que são os antígenos somáticos (O) de parede e natureza lipopolissacarídica, os flagelares (H) de natureza protéica e os capsulares ligados à virulência (Vi). Os antígenos O são resistentes ao calor e ao álcool, os antígenos Vi resistentes ao calor e os antígenos H são formados por uma proteína denominada flagelina, que é termolábel, inativada lentamente pelo álcool e que pode existir tanto na forma simples (monomérica) ou em 2 formas separadas (difásica) (HOLT et al., 2000; FRANCO e LANDGRAF, 2004; MANDARINO, 2006; GRIMONT e WEILL, 2007; GUIBOURDENCHE et al, 2010; WHO, 2011a).

Em relação à nomenclatura do gênero *Salmonella*, o código Internacional de Nomenclatura Bacteriana adotada pelo *Center of Disease Control and Prevention* - CDC, descreve gênero, espécie, subespécie e sorovar, como por exemplo: *Salmonella enterica* (gênero e espécie), subespécie *enterica* (subespécie I) sorovar Typhimurium ou, apenas, *Salmonella* Typhimurium. Os sorovares das outras subespécies (II a VI) ou da espécie *bongori* (V) são designados unicamente pelas suas fórmulas antigênicas, por exemplo: *Salmonella* II 17: b: z 26; *Salmonella* IIIa 42: I, v: z (GRIMONT e WEILL, 2007; GUIBOURDENCHE et al, 2010).

Os nomes dos sorovares não são denominações de espécies ou subespécies, e dessa forma não são escritos em itálico. Os antígenos somáticos são os primeiros a serem descritos e designados por letras e números arábicos. Se estes números estiverem sublinhados significa que foram determinados por fago conversão, e se estiverem entre colchetes podem ou não estar presentes. Já os

antígenos flagelares são representados por letras minúsculas e algarismos arábicos, e se estiverem entre colchetes indicam sua presença em cepas selvagens. Como o número de antígenos flagelares é maior que as letras do alfabeto, a última letra (z) recebe expoente numéricos. A utilização de parênteses para fatores flagelares e somáticos denotam ser fracamente aglutináveis. Por fim, só existe um tipo imunológico de antígeno Vi, encontrado somente em *S. Typhi*, *S. Dublin* e *S. Hirschfeldii* (FRANCO e LANDGRAF, 2004; GRIMONT e WEILL, 2007; GUIBOURDENCHE et al, 2010).

3.2.2 Características fenotípicas

Bactérias do gênero *Salmonella* caracterizam-se por possuírem o formato de bacilos, não formarem esporos, serem Gram-negativas, anaeróbias facultativas, geralmente móveis por flagelos peritríquios e frequentemente possuírem fímbrias. Seu tamanho varia entre 0,3 a 1µm de comprimento. De maneira geral o gênero *Salmonella* cresce em uma faixa de temperatura de 5 a 45°C, com temperatura ótima de 37°C, com pH 6,5 a 7,5 e em alimentos com até 0,93 de atividade de água, tendo valores ótimos de 0,94 a 0,99 (CLARK e GYLES, 1993; LE MINOR 1994; MANDARINO, 2006; ZUCON, 2008).

A maioria das cepas possui a propriedade de produzir ácido e gás a partir da glicose (com exceção da *S. Typhi* e *S. Gallinarum*) e do manitol; eventualmente, do sorbitol e, raramente, da sacarose ou adonitol. A lactose não é fermentada a menos que a cepa possua um plasmídeo que codifique para a produção de lactase, como a *S. arizonae*. Produzem gás sulfídrico (H₂S) profusamente e descarboxilam a lisina. São vermelho de metila positivas, Voges-Proskauer negativas, não hidrolisam a uréia, não produzem indol, são catalase positivas, oxidase negativas, ornitina descarboxilase positivas e acetilmetilcarbinol negativas. Têm a capacidade de utilizar citrato como única fonte de carbono, produzem amônia e reduzem os nitratos a nitrito (HOLT et al., 2000; SILVA, 2000; FRANCO e LANDGRAF, 2004, SINGARINI, 2004; NUNES, 2006).

Algumas diferenças fenotípicas em relação às espécies e subespécies de *Salmonella* podem ser observadas na Tabela 3.

Tabela 3 – Características diferenciais das espécies e subespécies de *Salmonella*.

Espécies Subespécies	<i>S. enterica</i>						<i>S.</i>
	<i>enterica</i>	<i>salamae</i>	<i>arizonae</i>	<i>diarizonae</i>	<i>houtenae</i>	<i>indica</i>	<i>bongovi</i>
Características							
Dulcitol	+	+	-	-	-	d	+
ONPG (2h)	-	-	+	+	-	d	+
Malonato	-	+	+	+	-	-	-
Gelatinase	-	+	+	+	+	+	-
Sorbitol	+	+	+	+	+	-	+
Crescimento com KCN	-	-	-	-	+	-	+
L(+)-tartarato ^a	+	-	-	-	-	-	-
Galacturonase	-	+	-	+	+	+	+
γ -glutamilttransferase	+	+	-	+	+	+	+
β -glucuranidase	d	d	-	+	-	d	-
Mucase	+	+	+	- (70%)	-	+	+
Salicinato	-	-	-	-	+	-	-
Lactose	-	-	- (75%)	+	-	d	-
Lise por fago O1	+	+	-	+	-	+	d
Habitat usual	Animais de sangue quente		Animais de sangue frio e meio ambiente				

(a) = d-tartarato.

(*) = Typhimurium d, Dublin –.

+ = mais de 90 % das reações positivas.

– = mais de 90 % das reações negativas.

d = reações diferentes para diferentes sorovares.

Fonte: GRIMONT e WEILL, 2007

3.2.3 Características das doenças causadas por *Salmonella* spp.

Salmonella spp. é considerada uma bactéria entérica patogênica para homens e animais, entretanto, um número limitado de sorovares é associado à infecção em humanos. Segundo a OMS, o gênero *Salmonella* pode ser classificado em grupos de acordo com o grau de adaptação ao homem:

- Grupo 1: *S. Typhi*, *S. Paratyphi* (A, B e C) e *S. Sendai* - adaptados ao homem, causam febre entérica ou tifoide e normalmente não são patogênicos para animais; podem causar bacteremia e comprometimento do sistema retículo endotelial;

- Grupo 2: *S. Dublin* (bovinos), *S. Choleraesuis* (suínos), *S. Abortus-ovis* (ovinos), *S. Abortus-equi* (equinos), *S. Gallinarum* e *S. Pullorum* (aves) - causam doenças em alguns animais e mais raramente acometem o homem;
- Grupo 3: *S. Enteritidis* e *S. Typhimurium* - uma ampla variedade de sorovares que geralmente causam gastroenterites auto-limitantes, podendo ser mais graves em crianças, idosos e pessoas com deficiência imunológica (FRANCO e LANDGRAF, 2004; POPOFF e LE MINOR, 2005, GRIMONT e WEILL, 2007; COSTA, 2010).

O habitat natural da *Salmonella* se constitui no trato intestinal do homem e dos animais de sangue quente e frio. Os humanos e os animais representam, na cadeia epidemiológica, os papéis de reservatório, portador assintomático e enfermo com sinais clínicos (WALLACH e BOEVER, 1983; LE MINOR, 1994; JAY, 2005, NUNES, 2006;)

Segundo Jay (2005) a dose infectante de *Salmonella* pode variar de 10^7 a 10^9 célula.g⁻¹, dependendo do *status* imunológico do hospedeiro, da virulência do sorovar e da composição química do alimento carreador. Entretanto, já foi constatada a ocorrência de três surtos provocados por *Salmonella* spp em concentrações que variaram de 1 a $1,5 \times 10^3$ células.g⁻¹ (D'AOUST, 1997).

Os sintomas da infecção por *Salmonella* usualmente aparecem entre 12 e 72 horas após ingestão do alimento contaminado, e incluem febre, dor abdominal, diarreia, náuseas e vômitos ocasionais. A doença dura geralmente de 4 a 7 dias, e a maioria das pessoas se recupera sem tratamento. No entanto, nos casos em que a bactéria entra na corrente sanguínea, a antibioticoterapia pode ser necessária (WHO, 2011a).

Atualmente, os quadros epidêmicos podem ser acompanhados e controlados por técnicas muito refinadas como a análise dos plasmídios e a digestão dos genes cromossômicos por endonucleases, capazes de diferenciar mínimas diferenças nas estruturas cromossômicas das bactérias (GOMES, 2011).

3.2.4 Epidemiologia e relação com a indústria de alimentos de origem animal

Segundo o *World Health Organization* – WHO (2011b), as bactérias do gênero *Salmonella* são a principal causa de Doenças Transmitidas por Alimentos -

DTA em todo o mundo. As bactérias são geralmente transmitidas aos seres humanos através do consumo de alimentos contaminados, principalmente os de origem animal como carnes, aves, ovos e leite.

Nos Estados Unidos este micro-organismo é a causa mais comumente diagnosticada de infecções bacterianas intestinais. Aproximadamente 40.000 infecções por *Salmonella* são relatados ao CDC a cada ano, com um total de 1,4 milhões de casos estimados naquele País (CDC 2011a).

O sorotipo mais comum de *Salmonella* nos Estados Unidos é *S. Typhimurium* que responde por 19% de todas as infecções relatadas por essa bactéria em humanos, a partir de uma ampla variedade de fontes (Figura 2) (CDC, 2011a).

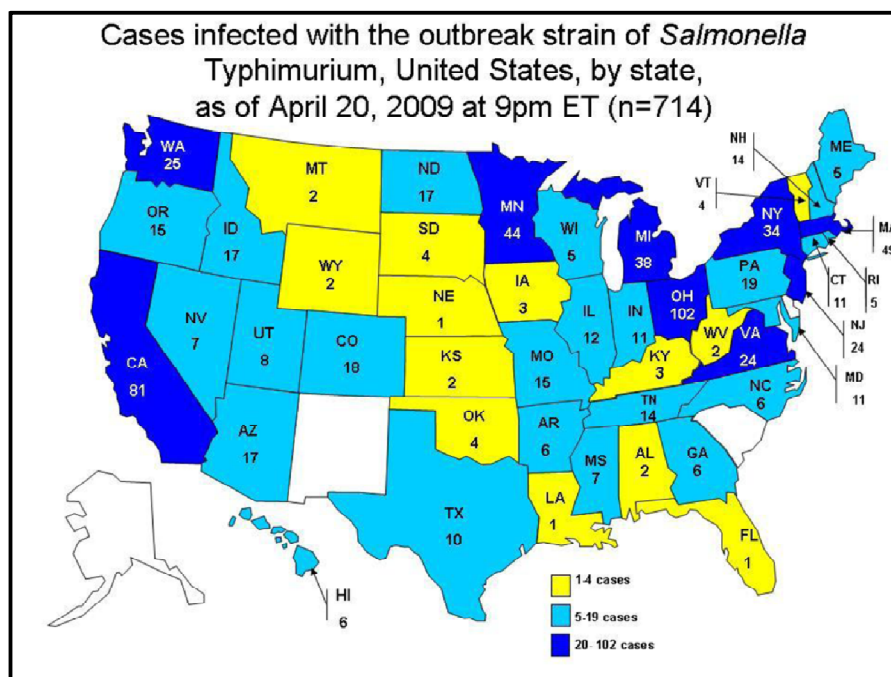


Figura 2 – Casos de surtos associados a *S. Typhimurium* nos Estados Unidos, por estado, no período de 2008 a 2009

Fonte: CDC (2011a)

No ano de 2010, em duas investigações recentes realizadas nos Estados Unidos, utilizando-se a técnica *Pulsed-field Gel Electrophoresis* – PFGE, produtos de origem animal foram relacionados a surtos de salmonelose. No primeiro, associaram-se cepas de *S. Montevideo*, isoladas de pimenta preta e vermelha utilizadas na produção de salame italiano, a 272 casos confirmados em 44 estados

e, no segundo, cepas de *S. Enteritidis*, foram associadas à 1.979 casos da doença, promovendo um *recall* no País de 380 milhões de ovos contaminados (Figura 3) (CDC, 2011b).

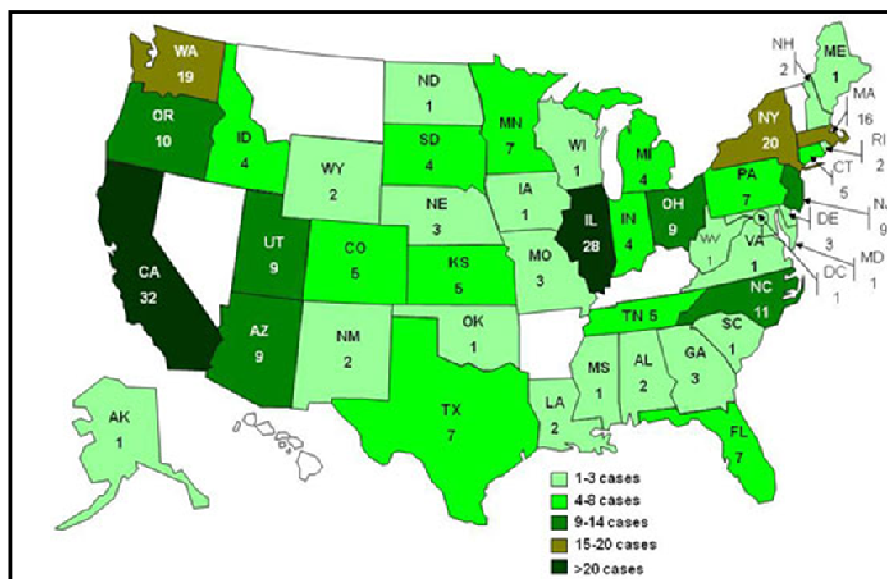


Figura 3 – Número de pessoas infectadas com *S. Montevideo* em surto associado a salame italiano nos Estados Unidos, por Estado, no período de 2009 a 2010

Fonte: CDC (2011b)

No Brasil no período entre 1999 e 2010, foram notificados ao Serviço Nacional de Saúde do Ministério da Saúde - SVS/MS 6.971 surtos, com 1.804.932 pessoas expostas e registro de 88 óbitos. Do total de surtos, 46,6% tiveram agente etiológico definido pelo critério laboratorial ou clínico-epidemiológico. Dentre estes, *Salmonella* spp. foi relacionada a 45,9% dos surtos (Figura 4). Em relação aos surtos com informações sobre o alimento envolvido, 11,6% foram ocasionados por carnes vermelhas (MS, 2011).

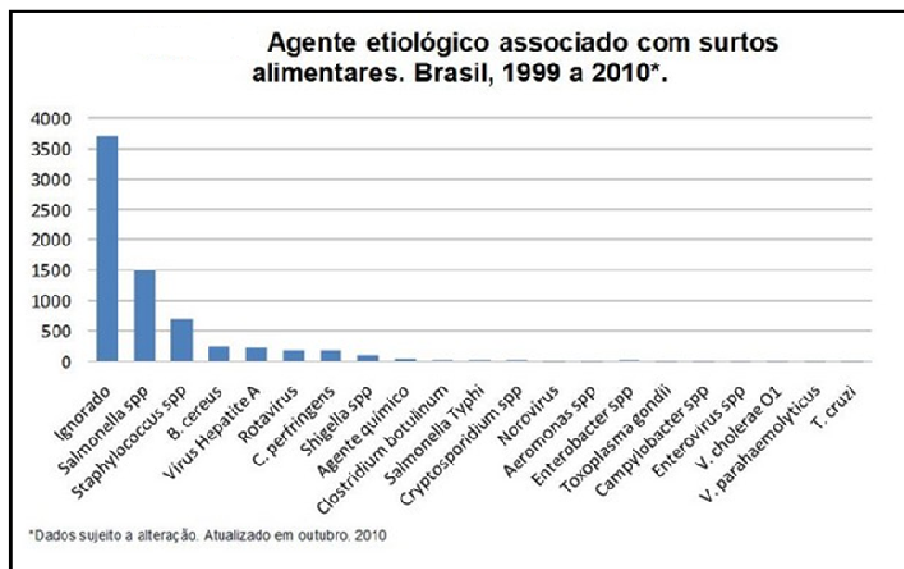


Figura 4 –Surtos alimentares com agente etiológico definido ocorridos no Brasil no período de 1999 a 2010

Fonte: MS (2011)

Em um estudo realizado por Eduardo et al. (2004), entre os anos de 1999 e 2003 foram notificados ao Centro de Vigilância Epidemiológica Alexandre Vranjac (CVE), em São Paulo, 1.024 surtos de diarreia, envolvendo 27.499 casos. Dos 459 surtos com etiologia identificada, 325 (70,8%) foram causados por bactérias e, destes, 140 (43,1%) foram devido à *Salmonella* spp., envolvendo 3.001 pacientes. Quanto aos alimentos, verificou-se que aves, carnes bovinas e suínas foram associadas à de 15% dos surtos por *Salmonella* spp.

No Rio Grande do Sul, segundo relatório do Centro Estadual de Vigilância em Saúde - CEVS, foram notificados 1.777 surtos de DTA no período entre 1999 e 2007. Destes, 37,6% dos casos foram atribuídos à *Salmonella* spp e, em relação aos alimentos envolvidos, a carne bovina ocupou o 3º lugar com mais de 50 surtos no Estado (CEVS, 2011).

Entre os sorovares causadores de DTA, *S. Enteritidis* é o mais comumente relacionado a surtos decorrentes do consumo de alimentos de origem animal no Brasil (EDUARDO et al., 2004).

Em virtude da transmissão de *Salmonella* spp. para o ser humano ser através da rota fecal-oral, a contaminação de produtos de origem animal e de carcaças pode ocorrer através de animais portadores ou de profissionais infectados,

associados à falhas nas práticas higiênico-sanitárias, durante as etapas de abate e processamento (CRUME et al., 2002)

Uma vez que *Salmonella* spp. mantêm-se viável por meses em fezes e no meio ambiente, pode tornar-se endêmica em plantas de processamento de produtos de origem animal através da formação de biofilmes e adesão em superfícies utilizadas nas indústrias de alimentos (GILLESPIE e TIMONEY, 1981; OLIVEIRA, 2006).

Biofilmes são estruturas altamente organizadas nas quais micro-organismos, como *Salmonella* spp., crescem e sobrevivem a ambientes adversos. Estes complexos ecossistemas microbianos são ligados por uma matriz de substâncias extracelulares aderidos à superfícies e tem grande importância no abate e processamento de produtos de origem animal, pois podem dificultar a higienização das superfícies que entram em contato com a carne, propiciando contaminação cruzada e corrosão de equipamentos (OLIVEIRA, 2006; MARIOT, 2010).

Considerando a relevância de *Salmonella* spp. para indústria cárnea nos Estados Unidos e em países exportadores para o mercado norte-americano, como o Brasil, institui-se a obrigatoriedade do Programa de Redução de Patógenos, onde um dos quatro componentes principais são os chamados “Padrões de Desempenho para *Salmonella*”. A escolha deste componente especificamente para *Salmonella* spp. foi fundamentada no fato que a redução da porcentagem de carcaças com *Salmonella* spp. implicará na redução de outros patógenos (FIGUEIREDO, 2002).

Os padrões de desempenho para *Salmonella* spp. para matadouros e plantas que processam carne moída são mostrados na Tabela 4.

Tabela 4 - Número máximo de amostras positivas para *Salmonella* spp. permitidas por amostra fixada para os EUA e para países exportadores ao mercado norte-americano

Produto	% amostras positivas	Número de amostras	Máximo de amostras positivas
Bois/bezerros	1,0	82	1
Vacas/búfalos	2,7	58	2
Carne Crua Moída	7,5	53	5

Fonte: FIGUEIREDO (2002)

Assim, processos de obtenção de produtos de origem animal, como o abate e processamento de bovinos, pelas características intrínsecas da matéria-prima favoráveis ao crescimento microbiano, apresentam maior risco microbiológico à contaminação por *Salmonella* spp. e exigem metodologias de controle e monitoramento mais efetivas.

3.3 Micro-organismos indicadores

As concentrações e os tipos de micro-organismos presentes nos alimentos podem ser utilizados para avaliar a qualidade microbiológica dos mesmos. A ausência ou presença de micro-organismos patogênicos ou de suas toxinas, a concentração microbiana presente e o tempo de controle ou destruição destes agentes podem determinar a segurança microbiológica dos produtos alimentícios (CUNHA e SILVA, 2006).

Indicadores gerais de contaminação microbiológica dos alimentos são grupos de micro-organismos que, quando presentes em números elevados nos alimentos, poderão causar deterioração e/ou ainda, indicar a possível presença de micro-organismos potencialmente patogênicos. As contagens podem fornecer informações gerais sobre o uso de insumo ou matérias-primas contaminadas e/ou condições insatisfatórias de higiene durante as operações de processamento do alimento. (FRANCO e LANDGRAF, 2004).

Assim, testes para micro-organismos indicadores podem também ser usados para inferir sobre a qualidade microbiológica e a segurança de um alimento, principalmente quando uma relação entre a ocorrência de um micro-organismo indicador e a provável presença de um patógeno ou toxina for estabelecida. Normalmente, os micro-organismos indicadores são associados a micro-organismos de origem intestinal, porém, outros grupos podem ser usados como indicadores em determinadas situações (MELLO, 2007).

Segundo Doyle e Beuchat, (2007) de forma geral, para sua definição, um micro-organismo indicador de segurança alimentar deve possuir algumas características importantes a serem consideradas:

- Ser facilmente distinguível de outros micro-organismos presentes no alimento;

- Não deve estar presente como contaminante natural do alimento, pois assim sua detecção não indicará, necessariamente, a presença de matéria de origem fecal ou de patógenos;
- Possuir um histórico de associações constantes e correlações com o patógeno cuja presença visa a indicar;
- Apresentar necessidades e velocidade de crescimento semelhantes às do patógeno;
- Ter velocidade de mortalidade que seja semelhante à do patógeno e, se possível, sobrevivência levemente superior à do patógeno;
- Estar ausente nos alimentos que estão livres do patógeno, ou estar presente em quantidades mínimas;
- Ter como hábitat exclusivo o trato intestinal do homem e outros animais;
- Apresentar resistência ao ambiente extra-enteral;
- Ser detectável de forma rápida, simples e precisa.

Segundo Prata (2009) os micro-organismos indicadores usualmente utilizados são:

- Bactérias aeróbias mesófilas;
- Coliformes totais e termotolerantes;
- *Escherichia coli*;
- *Enterobacteriaceae*;
- Enterococos;
- Streptococos fecais.

3.3.1 Micro-organismos aeróbios mesófilos

Micro-organismos aeróbios mesófilos são todos aqueles capazes de se multiplicar em temperaturas entre 5 e 45 °C com temperatura ótima de crescimento na faixa entre 35 e 37°C em condições de aerobiose. Segundo a *International Commission on Microbiological Specifications for Foods* - ICMSF a enumeração de micro-organismos aeróbios mesófilos em um alimento tem sido um dos indicativos microbiológicos de qualidade sanitária em alimentos mais comumente utilizados (NERO et al, 2000; ICMSF, 2005).

Mesmo que os patógenos estejam ausentes e que não tenham ocorrido alterações nas condições sensoriais do alimento, um número elevado de micro-organismos mesófilos aeróbios indica que este alimento é insalubre e que este resultado não deve ser subestimado. Uma das principais justificativas é que praticamente todas as bactérias patogênicas de origem alimentar são mesófilas, portanto, uma alta contagem de mesófilos, significa condições favoráveis para multiplicação de micro-organismos potencialmente patogênicos como *Salmonella* spp. e *E. coli* O157:H7 (NERO et al, 2000; FRANCO e LANDGRAF, 2004; MELLO, 2007).

A enumeração de mesófilos aeróbios totais pode indicar se a limpeza, a sanitização, transporte e armazenamento foram realizados de forma higiênica adequada. Esta determinação permite também obter informações referentes à alteração dos alimentos e sua provável vida útil, além do controle de possíveis desvios na temperatura durante o congelamento e refrigeração, principalmente no abate e processamento de produtos de origem animal (CUNHA E SILVA, 2006).

Segundo Zweifel e Stephan (2003) em produtos de origem animal, a quantificação da população de micro-organismos aeróbios mesófilos das superfícies das carcaças é comumente utilizada para fornecer dados que indiquem o grau de cuidados higiênico-sanitários durante as operações de abate, particularmente da esola e da evisceração.

3.3.2 Enterobactérias

Este grupo é composto por bactérias da família *Enterobacteriaceae*, inclui patógenos intestinais, importantes agentes de deterioração de alimentos e indicadores de higiene/segurança alimentar. São capazes de fermentar a lactose com produção de gás, quando incubados a 35/37°C, por 48h. Fazem parte desse grupo, predominantemente, as bactérias pertencentes aos gêneros *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter* e *Klebsiella* (JAY, 2005).

Silbernagel e Lindberg (2002) defendem que há razões para limitar a quantidade destes micro-organismos em produtos alimentícios, mesmo que a família *Enterobacteriaceae* possua membros que não sejam referidos como patogênicos. Os mesmos autores sugerem que a enumeração de um número mais amplo, como

Enterobacteriaceae, em vez de um grupo mais restrito, como o grupo coliformes, proporcionará uma avaliação mais profunda de um produto, pois em gêneros como *Salmonella* e *Yersinia*, a maioria das espécies não é capaz de fermentar a lactose. Dessa forma, estas espécies se ocultariam em um método padrão de Coliformes, mas seriam incluídos em um método de enumeração de *Enterobacteriaceae*.

Em alimentos de origem animal, a ocorrência de um número elevado de *Enterobacteriaceae* pode indicar manipulação sem cuidados de higiene e/ou armazenamento inadequado (MENDONÇA e GRANADA, 1999).

3.3.3 Métodos rápidos para enumeração de micro-organismos indicadores

Os métodos oficiais, comumente chamados de “tradicionais” ou “convencionais”, não satisfazem as necessidades atuais do mercado em ter resultados analíticos imediatos. Quando comparados a métodos rápidos para enumeração de micro-organismos indicadores, apresentam certas desvantagens, tais como o excesso de trabalho laboratorial, além da grande disponibilidade de tempo e de material necessários para a execução da análise (PRIEGO et al., 2000; PRATA, 2009).

Em virtude disso, os métodos rápidos vêm gradualmente substituindo a metodologia tradicional. Estes métodos são mais práticos e simples na execução, requerem pequena quantidade de material e fornecem resultados mais rapidamente. Entretanto, é importante que as vantagens para cada uma destas novas metodologias sejam avaliadas e consideradas para cada aplicação (NERO et al., 2000; ROSMINI et al., 2004).

Um dos métodos rápidos, que particularmente tem recebido grande aceitação por parte do mercado, tornando-se uma dos mais utilizados para detecção de micro-organismos indicadores em alimentos é sistema Petrifilm™, da 3M Company (PRATA, 2009).

O sistema Petrifilm™ é composto por um sistema de filme duplo: um filme que serve de base recoberto com nutrientes desidratados e um filme superior de polietileno, que contém um indicador de tetrazólio e agentes geleificantes (3M™ FOOD SAFETY, 2011b).

Várias versões do sistema Petrifilm™ estão disponíveis no mercado para análise microbiológica de alimentos: contagem de mesófilos aeróbios (AC), coliformes (CC, HSCC), contagem de coliformes totais e *E. coli* (EC), contagem de *Enterobacteriaceae* (EB), contagem de *Staphylococcus aureus* (RSA) e contagem de bolores de leveduras (YM) (3M™ FOOD SAFETY, 2011b).

Alguns países como Estados Unidos, Canadá, Austrália, Portugal, Noruega, Itália, entre outros, desenvolveram estudos colaborativos para avaliar a eficiência das placas Petrifilm™ e de outros métodos rápidos em relação aos métodos convencionais. Além disso, o uso das placas de Petrifilm™ possuem aprovações internacionais da *Association of Official Analytical Chemists* - AOAC e da *Association Française de Normalisation* - AFNOR para análises microbiológicas de alimentos (SILVA et al., 2006; 3M™ FOOD SAFETY, 2011a).

Park et al. (2001) compararam Petrifilm™ AC com a metodologia oficial convencional para enumeração de micro-organismos mesófilos aeróbios em 110 amostras de carne suína, 87 de carne de frango e em 107 de carne bovina encontrando coeficientes de correlação de 0,99, 0,95 e 0,94 respectivamente. Estes últimos autores sugerem que Petrifilm™ AC é uma alternativa viável aos métodos oficiais convencionais de enumeração de micro-organismos mesófilos aeróbios em carnes e produtos cárneos.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Coleta das amostras na linha de abate

A amostragem foi realizada em nove coletas, no período de abril de 2010 a janeiro de 2011, intercalando entre dois frigoríficos-matadouros localizados na região sul do Rio Grande do Sul. Um dos frigoríficos-matadouros amostrados possuía Serviço de Inspeção Estadual - Coordenadoria de Inspeção de Produtos de Origem Animal - CISPOA (Frigorífico A), habilitado para comércio de produtos no Estado do Rio Grande do Sul, e o outro Serviço de Inspeção Federal – SIF (Frigorífico B), habilitado para comercialização de produtos no País e para exportação (BRASIL, 1989).

Foram coletadas amostras de 60 carcaças bovinas em quatro pontos críticos da linha de abate, conforme exposto no fluxograma da Figura 5 e na Tabelas 5, para os dois frigoríficos-matadouros, totalizando 240 amostras. No Frigorífico A, a cada duas carcaças que entravam na linha de abate, uma era amostrada, já no Frigorífico B, a cada três carcaças que entravam na linha de abate, uma era amostrada, em função do número de animais abatidos em cada um dos estabelecimentos (Apêndice 1).



Figura 5 - Fluxograma do abate de bovinos indicando os Pontos de Coleta das amostras de superfície das carcaças nos Frigoríficos-matadouros A e B

Tabela 5 – Número de carcaças/amostras avaliadas na linha de abate em dois Frigoríficos-matadouros (A e B) com diferentes níveis de inspeção

Coletas	Carcaças		Amostras*	
	Frigorífico A	Frigorífico B	Frigorífico A	Frigorífico B
1	5	-	20	-
2	8	-	32	-
3	6	-	24	-
4	-	5	-	20
5	7	-	28	-
6	-	10	-	40
7	4	-	16	-
8	-	7	-	28
9	8	-	32	-
Total por frigorífico	38	22	152	88
Total avaliado	60		240	

* Amostras de carcaças em 4 pontos da linha de abate: após a sangria, após a esfolagem, após a evisceração e após a lavagem pré-resfriamento.

Em todas as coletas foram obtidas informações referentes ao número do lote, município de procedência, sexo e tipo de criação do animal abatido que deu origem a carcaça avaliada. Em relação às estas informações, conforme o formulário do Anexo 1, tem-se que 70% eram machos e 30% eram fêmeas, além disso, todos os animais eram alimentados exclusivamente no pasto, através da criação extensiva, e eram provenientes de vários municípios próximos da região dos frigoríficos-matadouros.

A amostragem das carcaças foi realizada de acordo com as recomendações vigentes na Comunidade Européia - *Commission Regulation* – CE (2007), utilizando-se a técnica de esfregaço em superfície (couro – 1º Ponto de Coleta, e carcaças – 2º, 3º e 4º Pontos de Coleta). Cada carcaça foi amostrada com um conjunto de quatro Esponjas 3M™, previamente umedecidas, e com o auxílio de moldes de 100cm² estéreis, segundo Andrews e Hammack (1998). As esponjas foram aplicadas na região do peito do animal totalizando uma área de 400cm², nas respectivas carcaças (1º e 2º Pontos de Coleta) e meias-carcaças (3º e 4º Pontos de Coleta), conforme representado na Figura 6, seguidas de acondicionamento em *bags* estéreis sob refrigeração para serem conduzidas ao laboratório.

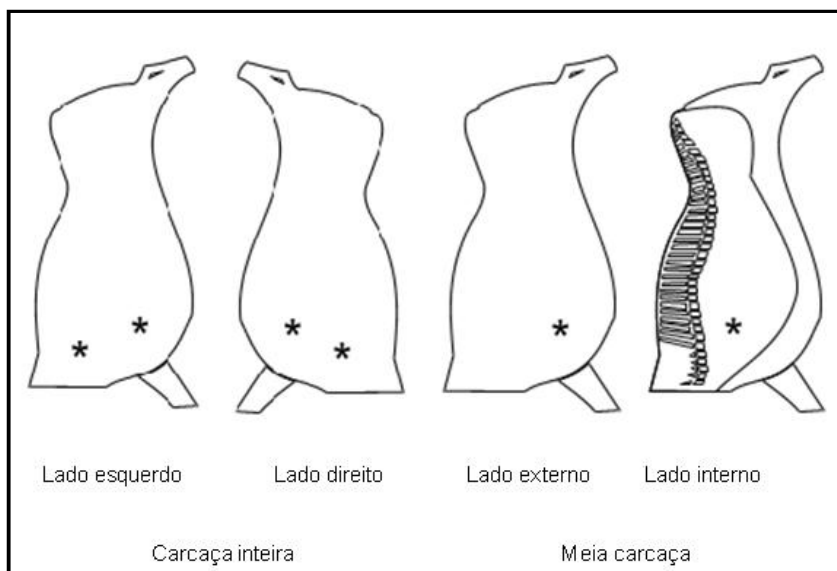


Figura 6 – Esquema representativo indicando os pontos (*) onde realizou-se o esfregaço em superfície na carcaça inteira e após a divisão da meia-carcaça

4.2 Coleta das amostras no ambiente de processamento e em cortes

Além das carcaças, no Frigorífico de Inspeção Estadual – CISPOA (Frigorífico A), foram coletadas amostras de superfície do ambiente de abate: serras de abertura do esterno e de divisão da carcaça; *pool* de amostras de superfícies do ambiente da sala de cortes (antes do início e durante o processo de cortes): mesas, facas de cortes, mãos dos manipuladores; e também cortes de alcatra e filé mignon; totalizando 52 amostras (Tabela 6 e Apêndice 2).

As superfícies do ambiente de abate e de processamento de cortes foram amostradas segundo o protocolo proposto por Silva (2010) com modificações. Para a amostragem das superfícies das serras de abertura do esterno, de divisão das carcaças, das mesas e facas, utilizou-se a técnica de esfregaço em superfície com o auxílio de *swabs* estéreis previamente umedecidos, em uma área de 25cm². As mãos dos manipuladores foram amostradas pela técnica da lavagem superficial com 200mL de APS – Água Peptonada 0,1% Salina 0,85%. Já os cortes foram encaminhados em sua embalagem original, sob refrigeração, ao laboratório para serem amostrados através da técnica de esfregaço em superfície utilizando um conjunto de quatro Esponjas 3M™, previamente umedecidas, onde cada peça foi

amostrada em quatro pontos distintos com auxílio de moldes de 100cm² estéreis, totalizando 400cm².

Tabela 6 – Número de amostras avaliadas no ambiente de processamento e em cortes no Frigorífico de Inspeção Estadual

Coletas	Amostras	
	Ambiente [*]	Cortes ^{**}
1	8	2
2	-	2
3	8	2
4	-	-
5	8	2
6	-	-
7	8	2
8	-	-
9	8	2
Total	40	12
ambiente/cortes		
Total avaliado	52	

* Amostras de superfícies do ambiente de abate: da serra de abertura do esterno e da serra de divisão da carcaça; e de superfícies do ambiente de processamento (antes do início e durante o processo de cortes): das mesas, das facas de cortes e das mãos dos manipuladores

** Amostras dos cortes de alcatra e de filé mignon

4.3 Preparo das amostras

Todas as amostras foram acondicionadas em caixas isotérmicas e conduzidas ao Laboratório de Microbiologia de Alimentos do Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel da Universidade Federal de Pelotas - DCTA/FAEM/UFPel para a realização das análises microbiológicas de enumeração de mesófilos aeróbios, *Enterobacteriaceae* e pesquisa de *Salmonella* spp. (Apêndice 3 e 4).

No laboratório, cada conjunto de esponjas, foi adicionado de 200mL de APS e agitados em homogeneizador peristáltico tipo *Stomacher*. Em seguida, duas alíquota de 40mL das amostras das superfícies das carcaças, dos cortes e das águas de lavagem das mãos foram transferidas para tubos tipo *Falcon*, que foram

centrifugados a uma velocidade de 1000xg por 15min a 5°C. Após a centrifugação, o sobrenadante foi descartado e os *pellets* obtidos foram submetidos às respectivas análises microbiológicas.

As demais amostras obtidas, referentes às superfícies do ambiente de abate e processamento de cortes seguiram diretamente para as análises microbiológicas, sem sofrerem centrifugação.

4.4 Análises microbiológicas

4.4.1 Pesquisa de *Salmonella* spp.

A pesquisa de *Salmonella* spp. nas amostras foi realizada seguindo a metodologia descrita no *International Organization for Standardization* (ISO 6579:2002) (2002), com modificações (Figura 7). Em todas as análises foram utilizada como controle positivo cepas de *Salmonella* Typhimurium ATCC 14028.

Após a centrifugação, relativa ao preparo das amostras, os *pellets* foram ressuspensos em 10mL de Água Peptonada Tamponada – APT (Oxoid®) e homogeneizadas em vórtex, seguido de incubação a $37 \pm 1^\circ\text{C}$ por $18 \pm 2\text{h}$ para um pré-enriquecimento

Após esse período, realizou-se um enriquecimento seletivo. Para isso, transferiu-se 1mL de cada homogeneizado para tubos contendo 10mL de Caldo Tetrationato Muller-Kauffmann com novobiocina – MKTTn (Oxoid®) e 0,1mL para tubos contendo 10 mL de Caldo Rappaport-Vassiliadis com soja – RVS (Oxoid®). Os tubos foram incubados por $24 \pm 3\text{h}$ a $37 \pm 1^\circ\text{C}$ e $41,5 \pm 1^\circ\text{C}$, respectivamente. Alíquotas de cada tubo foram estriadas, por esgotamento, em dois meios seletivos diferenciais: ágar Xilose Lisina Desoxicolato – XLD (Oxoid®) e ágar Manitol Lisina Cristal Violeta Verde Brilhante – MLCB (Oxoid®), seguido de incubação a $37 \pm 1^\circ\text{C}$ por $24 \pm 3\text{h}$.

As colônias que apresentaram características típicas de *Salmonella*, ou seja, que não apresentaram alteração na cor do meio, com ou sem produção de gás sulfídrico (H_2S) no ágar XLD e que apresentaram produção de gás sulfídrico (H_2S) em ágar MLCB, foram submetidas à confirmação bioquímica. Para isso, foram semeadas em ágar Tríplice Açúcar Ferro – TSI (Acumedia®) inclinado, ágar Lisina

Ferro – LIA (Acumedia®) inclinado e caldo Uréia (Synth®) e, após incubação por $37 \pm 1^\circ\text{C}$ por $24 \pm 3\text{h}$, observou-se se os meios apresentaram características típicas para crescimento de *Salmonella* spp. As características típicas são: formação de uma base ácida (amarela) com gás, formados a partir da fermentação da glicose, e bisel (rampa) alcalino com produção de H_2S (identificado pelo escurecimento do meio) para o meio TSI; para o meio LIA cor inalterada, permanecendo púrpura, com ou sem produção de H_2S ; e para o caldo Uréia, cor inalterada permanecendo ácido.

As cepas que apresentaram reações bioquímicas características para *Salmonella* spp. em pelo menos dois dos três testes realizados foram submetidas a teste sorológico de aglutinação rápida. Este consistiu em suspender uma alçada retirada do cultivo proveniente do ágar TSI, em uma lâmina de vidro, acrescentando uma gota de solução salina a 0,85%. Imediatamente, adicionou-se uma gota de Soro Polivalente Anti-*Salmonella* Somático (Probac®), que contém anticorpos contra antígenos O dos grupos A, B, C, D, E e contra o antígeno Vi, homogeneizou-se e, após 1 a 2 minutos, verificou-se se ocorreu aglutinação.

Todos os isolados que apresentaram resultados positivos foram submetidos a outro teste sorológico utilizando uma gota de Soro Polivalente Anti-*Salmonella* Flagelar (Probac®), que contém anticorpos contra os antígenos H:a; b; c; d; i; 1, 2, 5. Os isolados foram confirmados como *Salmonella* spp. quando apresentaram bioquimismo característico e reação sorológica positiva, pelo menos, frente ao Soro Polivalente Anti-*Salmonella* Somático (BRASIL, 2003). Na Figura 7 é mostrada uma representação esquemática da metodologia empregada para detecção de *Salmonella* spp.

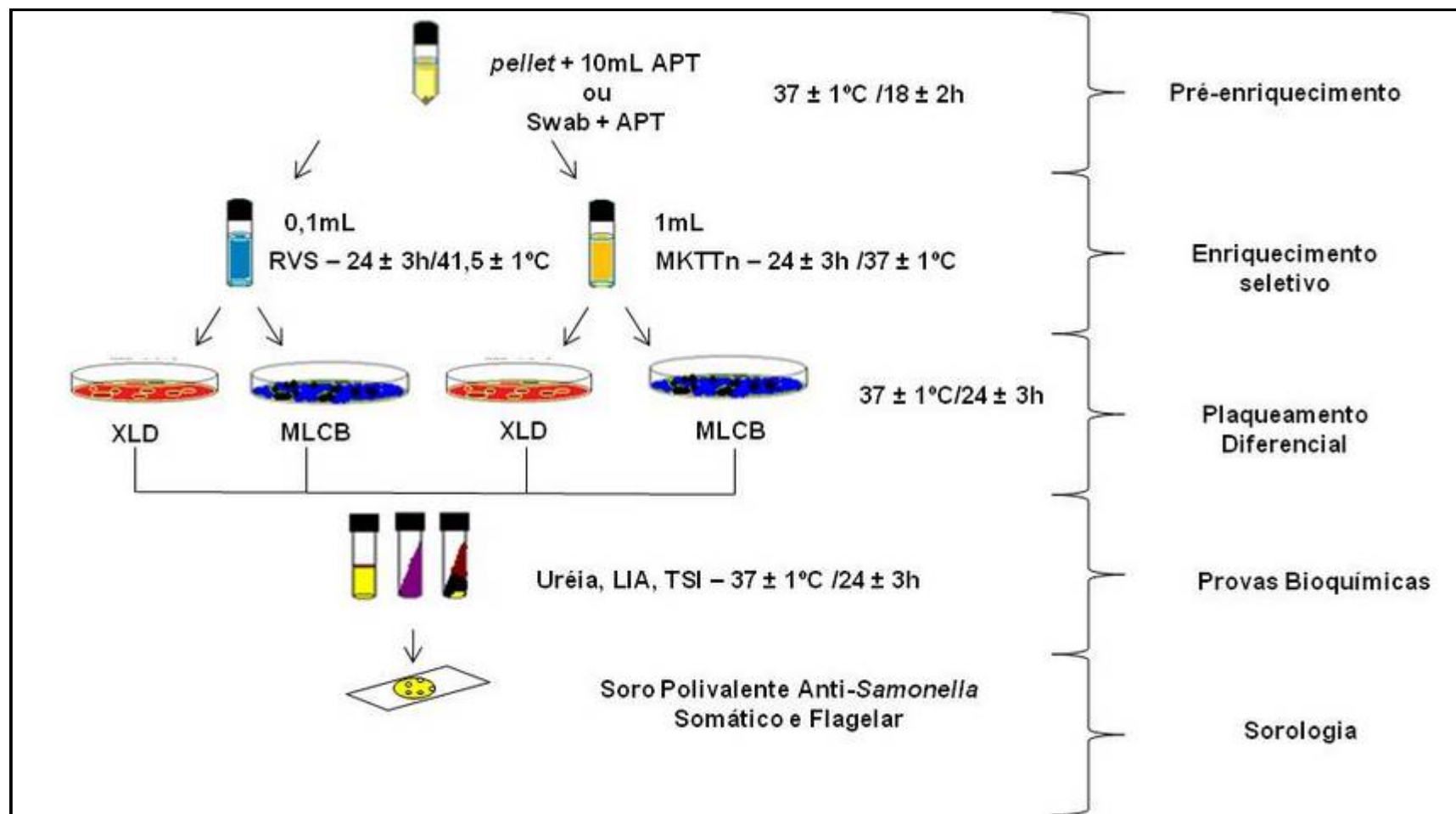


Figura 7 – Representação esquemática da metodologia empregada para detecção de *Salmonella* spp., conforme a metodologia descrita no *International Organization for Standardization* (ISO 6579:2002) (2002), com modificações

4.4.2 Enumeração de micro-organismos mesófilos aeróbios

Para a contagem de mesófilos aeróbios em placas, foi utilizado o *Official Methods of Analysis*SM - Association of Official Analytical Chemists - AOAC® 990.12 (2011), com modificações sugeridas por Machado et al. (2010), conforme é mostrado na Figura 8. Decorrido o período de centrifugação, relativo ao preparo das amostras, os *pellets* foram ressuspensos em 10mL de APS, para posterior realização de diluições seriadas decimais em Água Peptonada 0,1% - AP.

A partir das amostras do 1º Ponto de Coleta (Figura 5) do processo de abate, retirou-se alíquotas de 1mL das diluições 10^{-2} , 10^{-3} e 10^{-4} (uma alíquota por diluição) que foram inoculadas em placas 3MTM PetrifilmTM para Contagem de Aeróbios – AC. Já para os demais Pontos de Coleta do abate, ambiente de processamento e cortes, inoculou-se alíquotas das diluições 10^{-1} , 10^{-2} , e 10^{-3} (uma alíquota por diluição). Depois de realizado este processo estas foram incubadas a $35 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24h.

Enumerou-se as unidades formadoras colônias (UFC) e os resultados calculados, conforme proposto por Silva (2010), foram logaritimizadas para aproximar os resultados das contagens de uma distribuição normal, diminuindo assim o desvio padrão e possibilitando a análise estatística dos dados. Dessa forma, estes foram expressos em logaritmo de unidades formadoras de colônias por centímetro quadrado ($\log\text{UFC.cm}^{-2}$) para as amostras de superfície e $\log\text{UFC.mão}^{-1}$ para a amostragem das mãos dos manipuladores.

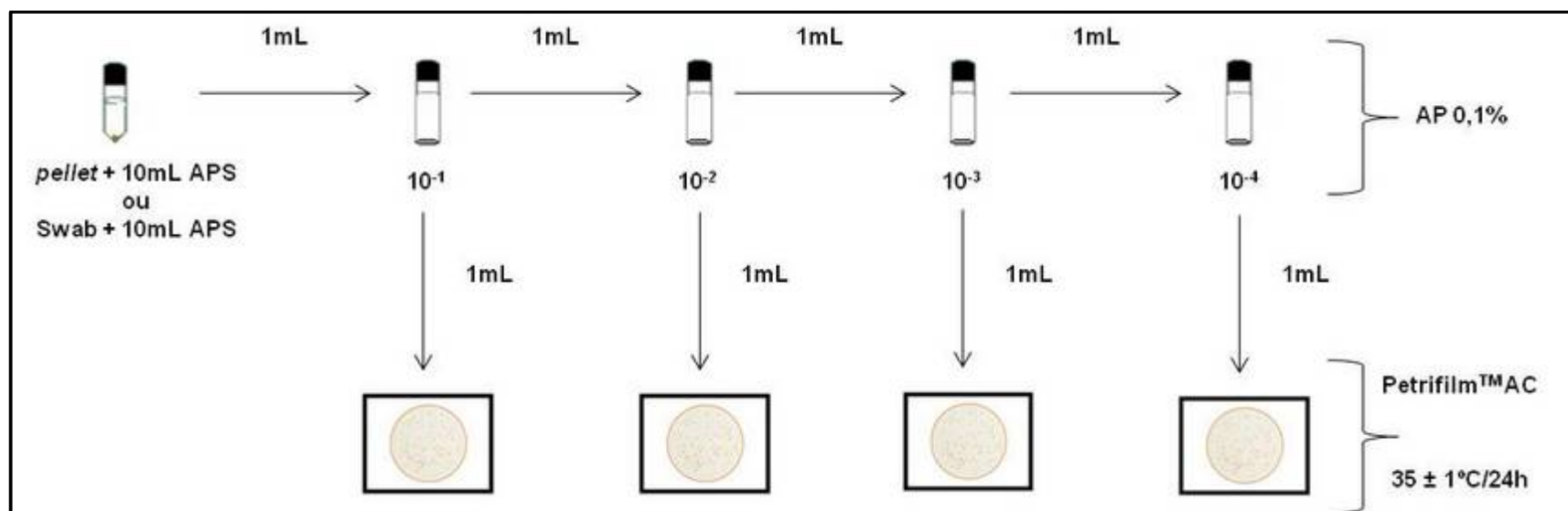


Figura 8 - Esquema representativo da metodologia empregada para enumeração de micro-organismos mesófilos aeróbios, conforme AOAC® 990.12 (2011), modificado por Machado et al. (2010)

4.4.3 Enumeração de Enterobactérias (*Enterobacteriaceae*)

Para a contagem de *Enterobacteriaceae* foi utilizado o *Official Methods of Analysis*SM - AOAC® 2003.01 (2011), conforme mostrado na Figura 9.

Decorrido o período de centrifugação, relativo ao preparo das amostras, os *pellets* foram ressuspensos para posterior realização de diluições seriadas decimais como descrito anteriormente para a enumeração de micro-organismos mesófilos aeróbios.

Assim como no caso da enumeração de micro-organismos mesófilos aeróbios, a partir das amostras do 1º Ponto de Coleta 1 (Figura 5) do processo de abate, retirou-se alíquotas de 1mL das diluições 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} (uma alíquota por diluição) que foram inoculadas em placas, 3MTM PetrifilmTM para Contagem de *Enterobacteriaceae* – EB. Já para os demais Pontos de Coleta do abate, ambiente de processamento e cortes inoculou-se alíquotas das diluições 10^{-1} e 10^{-2} . Depois de realizado este processo, estas foram incubadas a $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 24h.

Para a enumeração foram consideradas enterobactérias as colônias vermelhas com halos amarelos e/ou colônias vermelhas com produção de gás, com ou sem halos amarelos. Os resultados calculados, conforme proposto por Silva (2010), assim como para a enumeração de micro-organismos mesófilos aeróbios, foram logaritimizados para posterior análise estatística. Dessa forma, estes também foram expressos em logUFC.cm⁻² para as amostras de superfície e logUFC.mão⁻¹ para a amostragem das mãos dos manipuladores.

4.5 Análise estatística

Para verificar se existiam diferenças significativas entre os frigoríficos-matadouros e os Pontos de Coleta avaliados em relação à contaminação microbiológica, foi realizada uma análise de variância (ANOVA) seguida do teste de Tuckey e além destas, para verificar se existiam similaridades calculou-se o coeficiente de correlação a fim de comparar os dois frigoríficos e os Pontos de Coleta, utilizando o software Statistica 5.1 (STATSOFT, 1998), segundo os critérios propostos por Arango (2001).

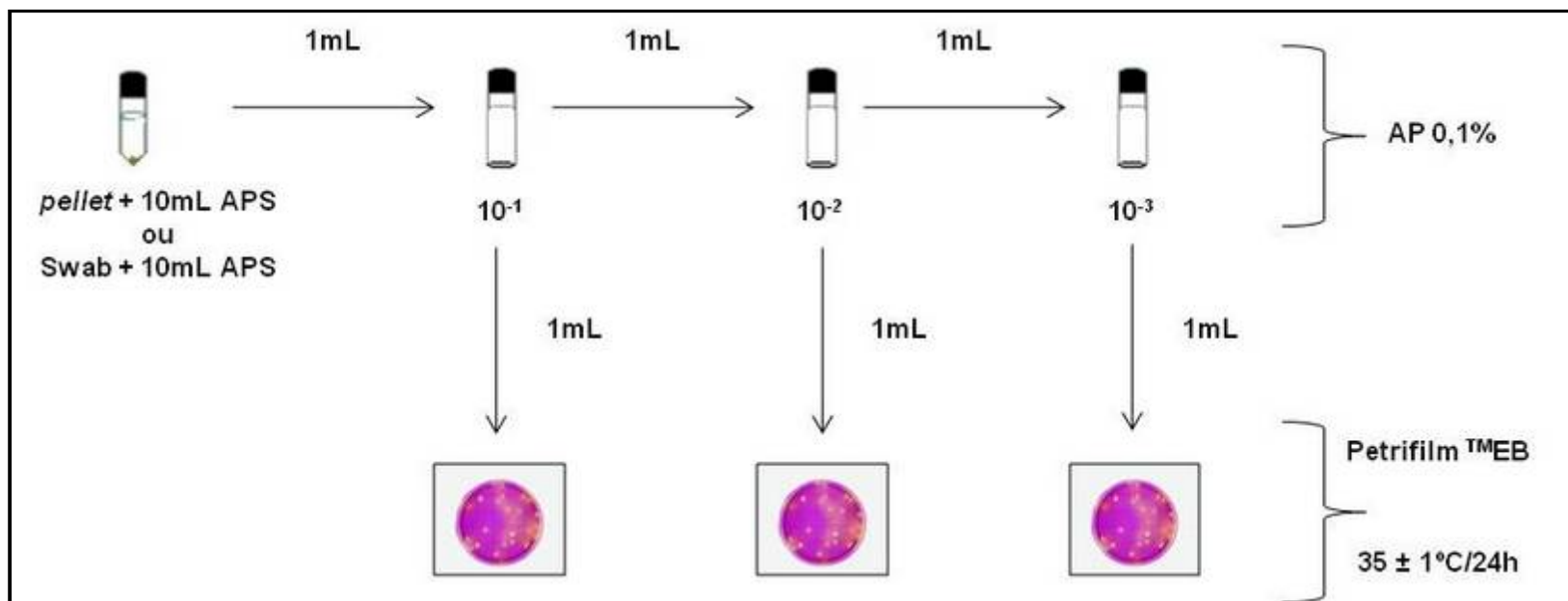


Figura 9 - Esquema da metodologia empregada para enumeração *Enterobacteriaceae*, conforme AOAC® 2003.01 (2011)

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Avaliação das carcaças bovinas em relação a presença de *Salmonella* spp. nos Frigoríficos A e B

Os resultados encontrados na pesquisa de *Salmonella* spp. nas carcaças do Frigorífico A e do Frigorífico B estão apresentados na Tabela 7.

Tabela 7 – Presença de *Salmonella* spp.(%) nas carcaças em relação aos Pontos de Coleta dos Frigoríficos A e B

Pontos de Coleta	Frigorífico A (n=38)	Frigorífico B (n=22)
1º Ponto – após a sangria	5,26%	4,54%
2º Ponto – após a esfolagem	0,00%	0,00%
3º Ponto – após a evisceração	0,00%	0,00%
4º Ponto – após a lavagem pré-resfriamento	0,00%	0,00%

Verificou-se que não houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre os Frigoríficos A e B em relação a presença de *Salmonella* spp (%) (Apêndice 5).

Entretanto, observou-se diferença significativa ($p < 0,05$, Apêndice 6) entre os Pontos de Coleta dos dois Frigoríficos, o 1º Ponto de Coleta diferiu significativamente ($p < 0,05$) em relação aos outros para a presença desse micro-organismo (Figura 10, Apêndice 7).

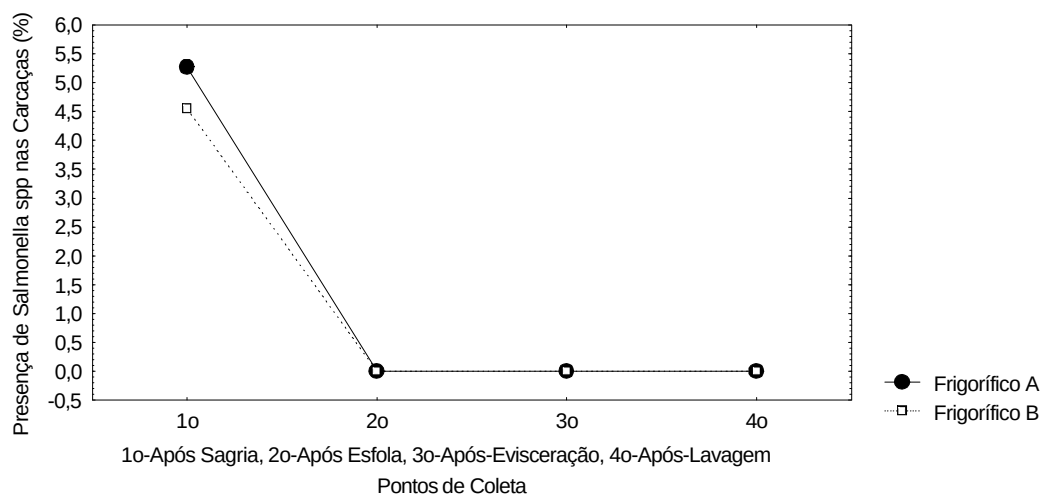


Figura 10 - Presença de *Salmonella* spp (%) em carcaças bovinas em quatro Pontos de Coleta dos Frigoríficos A e B

Nos dois Frigoríficos houve presença de *Salmonella* spp. no primeiro Ponto de Coleta (após a sangria), cuja amostragem foi realizada no couro do animal. No Frigorífico A, duas carcaças (5,26%) apresentaram contaminação por esse patógeno, enquanto no Frigorífico B, isolou-se *Salmonella* spp. em uma carcaça (4,54%).

Os resultados encontrados nos Frigoríficos A e B são importantes, primeiro porque micro-organismos que colonizam a pele, pêlos e o trato intestinal, quando introduzidos no ambiente de matadouros-frigoríficos constituem fontes de contaminação da carne durante a sua obtenção (GIL, 2000; SCVPH, 2001, SABA, 2006). Segundo, porque animais, como bovinos, carregam um vasto e variado número de micro-organismos, deteriorantes e patogênicos, provenientes do ambiente de criação, da alimentação, do solo e da água, que podem ou não serem eliminados ou inibidos no processamento, dependendo do nível de higiene adotado nas operações de abate e armazenamento das carcaças, podendo ocorrer variações de resultados até mesmo dentro do mesmo lote (RHOADES et al. 2009; e COSTA, 2010).

Dessa forma, a introdução de *Salmonella* spp. no ambiente de abate e processamento pode ocasionar a contaminação da carne bovina por este patógeno, além disso, falhas durante o processo, particularmente da esfola e evisceração, podem levar à disseminação de *Salmonella* spp em toda planta de abate e processamento (FONTOURA 2006). Além disso, a contaminação cruzada, aliada à

falhas nas práticas higiênico-sanitárias utilizadas, dificultam a imediata identificação da fonte de contaminação (COSTA, 2010).

Diferentemente dos resultados encontrados nos Frigoríficos avaliados neste estudo, Akkaya (2008) encontrou alta prevalência de *Salmonella* spp. comparada à outros micro-organismos patogênicos, no período de março a agosto de 2005, em um frigorífico-matadouro localizado na Turquia. O autor amostrou 250 superfícies de carcaças bovinas, durante quatro etapas do abate e observou prevalência de *Salmonella* spp. em 10%; *Listeria monocytogenes* em 6,8% de e *E. coli* O157:H7 em 3,2%.

Esta diferença entre os valores encontrados neste estudo, com aqueles obtidos por Akkaya (2008), pode estar relacionada a outro fator, que pode ser considerado relevante para a presença de *Salmonella* spp., no couro dos animais, que é o período do ano em que os isolados foram obtidos. Conforme pode ser observado nas Figuras 11 e 12, as carcaças positivas para *Salmonella* spp. foram amostradas nos meses mais quentes no ano, denotando que as condições climáticas podem ter influenciado na presença deste micro-organismo.

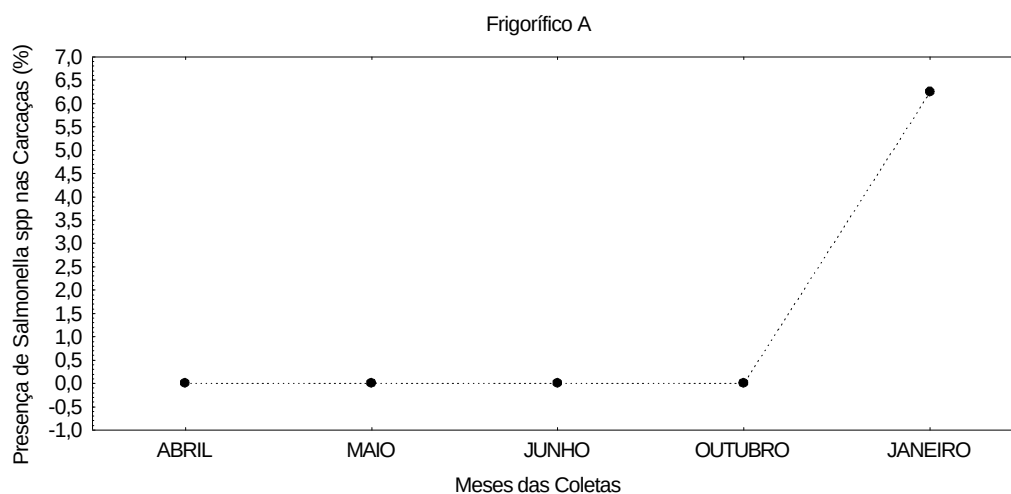


Figura 11 - Presença de *Salmonella* spp (%) no couro de carcaças bovinas por período do ano no Frigorífico A

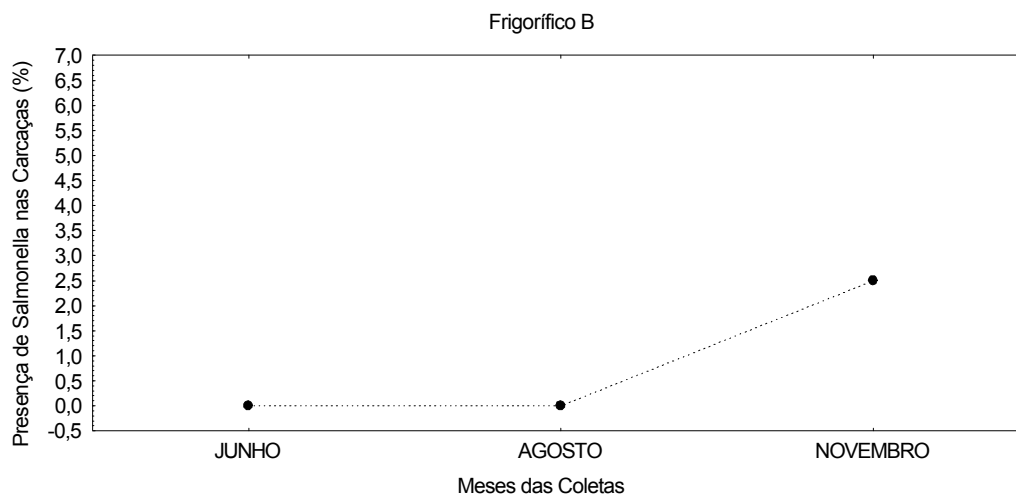


Figura 12 - Presença de *Salmonella* spp (%) no couro de carcaças bovinas por período do ano no Frigorífico B

Segundo autores como Rhoades et al. (2009) e Costa (2010) os dados de presença e prevalência de *Salmonella* spp. em carcaça bovina são bastante variáveis dependendo de uma série de fatores, tais como condições climáticas, forma de manejo do gado, condições de abate e armazenamento das carcaças. Nas fezes de bovinos a ocorrência do micro-organismo pode variar de 0,2 a 5,5%, entretanto, em amostras de couro de bovinos já foram observadas frequências de até 97,7%, dependendo do período do ano.

Barkocy-Gallagher et al. (2003) observaram diferenças na ocorrência de *Salmonella* spp. em couro de bovinos no decorrer das estações do ano: 91,6% no verão, 97,7% no outono, 27,7% no inverno e 61,4% na primavera.

Rivera-Betancourt et al. (2004) detectaram *Salmonella* spp. em 70,8% dos couros de 1033 bovinos amostrados em frigorífico-matadouro nos EUA, no período de maio a outubro (meses mais quentes), com a taxa a mais elevada detectada no mês de agosto, que é o verão norte-americano.

Nouichi e Hamdi (2009), com o objetivo de estudar o grau de contaminação superficial de 70 carcaças bovinas após a evisceração, observaram a presença deste micro-organismo em 10% das carcaças, com sorotipo predominante *S. Anatum* (76,9%).

Fontoura (2006) analisou a superfície de 40 meias-carcaças de bovinos, logo após a lavagem e em 24 horas após a refrigeração, em um matadouro-frigorífico de São Paulo, fiscalizado pelo Serviço de Inspeção Federal – SIF, no período de junho

a setembro de 2006 (meses mais frios), e não encontrou presença de *Salmonella* spp.

Estudos similares também foram conduzidos por Brichta-Harhay et al. (2008), que avaliaram 3040 carcaças de bovinos em etapas do processo de abate em quatro plantas de regiões geográficas distintas nos Estados Unidos, durante o período de julho de 2005 a abril de 2006. Os autores observaram presença de *Salmonella* spp. em 89,6% do couro, 50,2% na evisceração e 0,8% na etapa pós-evisceração, e enfatizaram que a prevalência do patógeno foi mais alta no verão.

5.2 Avaliação do ambiente de processamento e dos cortes de alcatra e filé mignon em relação a presença de *Salmonella* spp. no Frigorífico A

Não foi verificada a presença de *Salmonella* spp. em 52 itens avaliados do ambiente de abate, da sala de cortes e dos cortes de alcatra e filé mignon.

Resultados similares foram encontrados por André et al. (1999), que analisaram 34 amostras de utensílios que entram em contato com a carne bovina (facas, ganchos, cestas e bandejas plásticas) em salas de abate de matadouros de Goiânia, e não isolaram *Salmonella* spp. naquelas superfícies.

Em relação à *Salmonella* spp. em carne e produtos cárneos, a RDC nº12 preconiza, para “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”, ausência de *Salmonella* spp. em 25g (BRASIL, 2001).

Neste sentido, considerando que foi realizada a amostragem de superfície (400cm²) nos cortes de alcatra e filé mignon, e que a possível contaminação por esse micro-organismo patogênico em cortes de carne *in natura* seria superficial, denota-se que os cortes analisados estão em conformidade com a legislação vigente.

Da mesma forma que foi relatada para a presença de *Salmonella* spp. nas carcaças bovinas, a ocorrência desse micro-organismo em cortes e derivados cárneos é bastante divergente nas diferentes pesquisas, o que é reflexo de vários fatores, como condição climática, práticas higiênicas durante o processamento, etc.

Vários estudos têm sido conduzidos para avaliar a presença desse patógeno em cortes e derivados cárneos.

Sigarini (2004) analisou 80 peças de alcatra pela técnica de esfregaço em superfície, antes e após o processo de desossa, em dois estabelecimentos destinados a mercados consumidores diferentes, sendo um da periferia e outro da região central do município de Cuiabá. O autor observou a presença de *Salmonella* spp. em quatro amostras antes da desossa e em 10 amostras após o processo de desossa no estabelecimento da periferia, e presença em seis amostras antes e após a desossa, no estabelecimento central.

Chesca et al. (2010) avaliaram *Salmonella* spp. em carne bovina tipo exportação em um frigorífico-matadouro de Uberaba-MG, encontrando esse micro-organismo em 0,84% das amostras. Já Costa (2010) avaliou *Salmonella* spp. em 552 amostras de produtos cárneos (salsicha, linguiça, carne moída e coxa de frango) comercializados em São Paulo, detectando a presença deste micro-organismo em 5,8%.

Marchi (2006) analisou 60 amostras de carne bovina moída, provenientes de supermercados e açougues de Jaboticabal – SP, e não isolou *Salmonella* spp. Da mesma forma, Meyer et al. (2010), que avaliaram 1.366 amostras de carne e subprodutos provenientes de sete frigoríficos do sul da Alemanha, com licenciamento da União Européia não encontraram presença de *Salmonella* spp.

Conforme pode ser verificado, na maioria dos estudos, a frequência de isolamento de *Salmonella* spp. em carne fica abaixo de 10%. Segundo Mürmann et al. (2009) e Costa (2010) a prevalência deste micro-organismo é baixa em carne bovina, entretanto, a pesquisa de *Salmonella* spp. em produtos cárneos bovinos é relevante, pois surtos associados à esse patógeno continuam ocorrendo e, apesar da frequência ser baixa, a severidade das doenças ocasionadas por este patógeno pode ser alta.

Cabe também ressaltar que surtos atribuídos à *Salmonella* spp. e associados à carne e produtos cárneos, apresentam maior frequência no verão, período de maior proliferação deste micro-organismo (EDUARDO, 2004; CDC, 2011).

5.3 Avaliação das carcaças bovinas em relação a enumeração de micro-organismos mesófilos aeróbios nos Frigoríficos A e B

Os resultados encontrados na enumeração de micro-organismos mesófilos aeróbios e de *Enterobacteriaceae* nas carcaças do Frigorífico A e do Frigorífico B, nos quatros pontos avaliados, estão expostos nas Tabelas 8 e 9, respectivamente.

Tabela 8 – Enumeração de micro-organismos mesófilos aeróbios e *Enterobacteriaceae* nas carcaças do Frigorífico A

Carcaça	Mesófilos aeróbios (logUFC.cm ⁻²)				<i>Enterobacteriaceae</i> (logUFC.cm ⁻²)			
	P1 [*]	P2 ^{**}	P3 ^{***}	P4 ^{****}	P1 [*]	P2 ^{**}	P3 ^{***}	P4 ^{****}
C-1A	4,78	3,53	3,52	2,54	2,88	1,35	2,77	1,30
C-2A	4,27	2,26	3,21	3,03	3,11	0,88	1,70	2,00
C-3A	6,10	2,98	1,97	2,78	2,40	1,54	1,30	0,88
C-4A	5,27	2,88	2,14	3,69	3,47	1,54	0,88	2,77
C-5A	5,83	3,85	2,36	2,81	3,49	1,35	1,10	1,18
C-6A	4,72	1,33	1,91	1,57	2,24	0,10	0,10	0,10
C-7A	4,05	1,27	2,07	1,18	1,88	0,40	1,21	0,10
C-8A	4,40	1,21	1,91	0,70	3,10	0,10	0,10	0,10
C-9A	4,53	1,83	2,57	2,34	3,37	0,10	1,40	0,10
C-10A	4,15	2,21	2,13	1,88	3,13	1,00	1,56	0,10
C-11A	4,15	1,18	1,65	2,35	3,71	0,40	0,57	0,80
C-12A	4,44	1,60	2,23	2,45	2,54	0,57	1,53	1,05
C-13A	3,28	1,35	2,19	2,88	2,87	0,40	1,59	0,57
C-14A	4,68	2,63	2,13	2,46	2,92	0,40	0,10	1,10
C-15A	5,09	1,82	2,60	2,64	3,28	0,57	1,27	1,14
C-16A	5,27	2,02	3,00	2,14	3,16	0,10	1,24	1,00
C-17A	5,51	2,77	2,57	3,20	3,40	0,70	1,67	1,38
C-18A	4,63	1,94	2,28	3,06	3,27	0,10	1,35	1,35
C-19A	3,62	1,10	2,51	2,83	2,27	1,38	1,05	0,40
C-20A	3,50	1,69	1,21	2,12	1,88	0,10	0,10	0,10
C-21A	3,25	1,99	2,07	1,76	2,27	0,10	1,33	0,10

Tabela 8 – Enumeração de micro-organismos mesófilos aeróbios e *Enterobacteriaceae* nas carcaças do Frigorífico A (continuação)

Carcaça	Mesófilos aeróbios (logUFC.cm ⁻²)				<i>Enterobacteriaceae</i> (logUFC.cm ⁻²)			
	P1 [*]	P2 ^{**}	P3 ^{***}	P4 ^{****}	P1 [*]	P2 ^{**}	P3 ^{***}	P4 ^{****}
C-22A	3,55	1,74	2,02	1,60	2,68	0,10	1,79	1,10
C-23A	3,49	1,38	1,05	1,18	2,00	0,40	0,10	0,10
C-24A	4,05	2,01	1,89	2,35	2,63	0,10	0,70	1,05
C-25A	4,30	3,22	2,07	1,89	3,20	0,57	1,68	0,70
C-26A	4,98	3,32	3,15	3,67	2,92	0,10	1,79	1,63
C-27A	5,83	3,15	2,11	1,99	5,18	1,70	0,80	0,88
C-28A	3,77	2,56	2,26	2,23	4,10	1,38	1,21	0,40
C-29A	2,79	1,88	2,71	1,85	2,28	0,10	1,10	0,40
C-30A	4,68	2,71	2,31	2,44	3,57	0,88	0,40	0,10
C-31A	3,78	1,75	1,97	2,10	2,67	0,40	1,14	1,33
C-32A	3,71	3,57	3,73	2,90	3,22	3,32	3,42	2,13
C-33A	3,76	2,33	4,57	0,80	3,40	2,28	0,10	0,10
C-34A	2,65	2,22	4,09	4,57	2,59	2,10	2,90	3,40
C-35A	6,01	4,57	4,57	2,52	4,40	0,10	0,10	1,00
C-36A	6,13	4,57	4,57	2,46	3,93	1,40	2,62	2,07
C-37A	6,03	1,91	2,18	2,02	2,44	1,14	1,24	1,56
C-38A	4,67	3,07	3,30	2,26	3,24	1,40	2,95	1,62
Médias	4,47^{1a}	2,35^{1b}	2,55^{1b}	2,35^{1b}	3,03^{2a}	0,81^{2b}	1,26^{2b}	0,98^{2b}

P1^{*} = 1º Ponto de Coleta – após a sangria

P2^{**} = 2º Ponto de Coleta – após a esfolagem

P3^{***} = 3º Ponto de Coleta – após a evisceração

P4^{****} = 4º Ponto de Coleta – após a lavagem pré-resfriamento

¹ = Médias referentes a enumeração de mesófilos aeróbios, seguidas de letras diferentes diferem significativamente pelo teste de Tukey (p<0,05) e de mesma letra não diferem estatisticamente.

² = Médias para a enumeração de *Enterobacteriaceae*, seguidas de letras diferentes diferem significativamente pelo teste de Tukey (p<0,05) e de mesma letra não diferem estatisticamente.

Tabela 9 – Enumeração de micro-organismos mesófilos aeróbios e *Enterobacteriaceae* nas carcaças do Frigorífico B

Carcaça	Mesófilos aeróbios (logUFC.cm ⁻²)				<i>Enterobacteriaceae</i> (logUFC.cm ⁻²)			
	P1 [*]	P2 ^{**}	P3 ^{***}	P4 ^{****}	P1 [*]	P2 ^{**}	P3 ^{***}	P4 ^{****}
C-1B	4,46	2,27	1,30	1,60	3,09	0,10	0,10	0,10
C-2B	3,69	1,72	0,80	2,71	1,10	0,10	0,10	0,57
C-3B	3,37	2,27	1,57	0,10	1,10	0,10	0,10	0,10
C-4B	2,79	1,76	0,88	1,62	1,10	0,10	0,10	1,10
C-5B	2,54	1,49	1,10	0,10	1,10	0,10	0,10	0,10
C-6B	4,49	2,53	1,56	1,88	2,06	1,38	0,10	1,10
C-7B	4,60	2,83	1,69	2,36	1,44	1,88	0,40	1,10
C-8B	5,99	3,67	2,06	2,44	1,84	2,42	0,40	0,10
C-9B	3,64	2,47	2,62	2,54	0,94	1,46	0,10	1,00
C-10B	5,92	2,89	2,30	1,94	1,75	1,33	0,57	0,10
C-11B	4,67	2,72	1,96	2,16	2,38	1,53	0,10	0,57
C-12B	5,44	2,87	2,50	3,15	2,54	1,60	0,10	1,14
C-13B	4,09	3,85	3,57	1,48	2,35	2,16	3,40	1,99
C-14B	4,07	3,52	3,57	2,78	3,33	2,91	3,40	2,48
C-15B	3,83	3,55	3,57	3,03	3,24	2,90	3,40	2,69
C-16B	4,19	3,03	3,57	3,28	3,51	2,68	3,40	3,07
C-17B	2,88	2,69	3,57	2,19	2,44	2,48	3,40	2,30
C-18B	4,09	3,19	3,57	2,53	1,77	2,65	3,40	2,51
C-19B	4,04	2,56	3,57	2,55	2,44	1,59	3,40	2,48
C-20B	2,49	3,70	3,88	3,59	1,88	3,22	3,57	3,40
C-21B	4,33	2,30	3,57	3,38	3,07	1,60	3,40	2,99
C-22B	5,52	3,57	3,88	3,81	1,71	3,40	3,40	3,40
Média	4,14^{1a}	2,79^{1b}	2,58^{1b}	2,33^{1b}	2,10^{2a}	1,71^{2a}	1,65^{2a}	1,56^{2a}

P1^{*} = 1º Ponto de Coleta – após a sangria

P2^{**} = 2º Ponto de Coleta – após a esfolia

P3^{***} = 3º Ponto de Coleta – após a evisceração

P4^{****} = 4º Ponto de Coleta – após a lavagem pré-resfriamento

¹ = Médias referentes a enumeração de mesófilos aeróbios, seguidas de letras diferentes diferem significativamente pelo teste de Tukey (p<0,05) e de mesma letra não diferem estatisticamente.

² = Médias para a enumeração de *Enterobacteriaceae*, seguidas de letras diferentes diferem significativamente pelo teste de Tukey (p<0,05) e de mesma letra não diferem estatisticamente.

Nos resultados da enumeração de micro-organismos mesófilos aeróbios do Frigorífico A verificou-se, para o 1º Ponto de Coleta, contagens variando de $2,65\log\text{UFC.cm}^{-2}$ a $6,13\log\text{UFC.cm}^{-2}$ (média $4,47\log\text{UFC.cm}^{-2}$); para o 2º Ponto de Coleta, contagens variando de $1,10\log\text{UFC.cm}^{-2}$ a $4,57\log\text{UFC.cm}^{-2}$ (média $2,35\log\text{UFC.cm}^{-2}$); para o 3º Ponto de Coleta, valores de $1,05\log\text{UFC.cm}^{-2}$ a $4,57\log\text{UFC.cm}^{-2}$ (média $2,55\log\text{UFC.cm}^{-2}$); e para o 4º Ponto de Coleta, observou-se valores na enumeração variando de $0,70\log\text{UFC.cm}^{-2}$ a $4,57\log\text{UFC.cm}^{-2}$ (média $2,35\log\text{UFC.cm}^{-2}$).

Foram constatadas diferenças significativas ($p < 0,05$) entre o 1º Ponto de Coleta e os demais pontos amostrados, porém, não se verificou diferenças significativas entre o 2º, 3º e 4º Pontos de Coleta (Apêndice 8).

A partir da análise realizada, pode-se inferir que a contaminação por mesófilos aeróbios foi significativamente superior no 1º Ponto de Coleta em relação aos demais Pontos de Coleta para o Frigorífico A (Figura 13 e Apêndice 9).

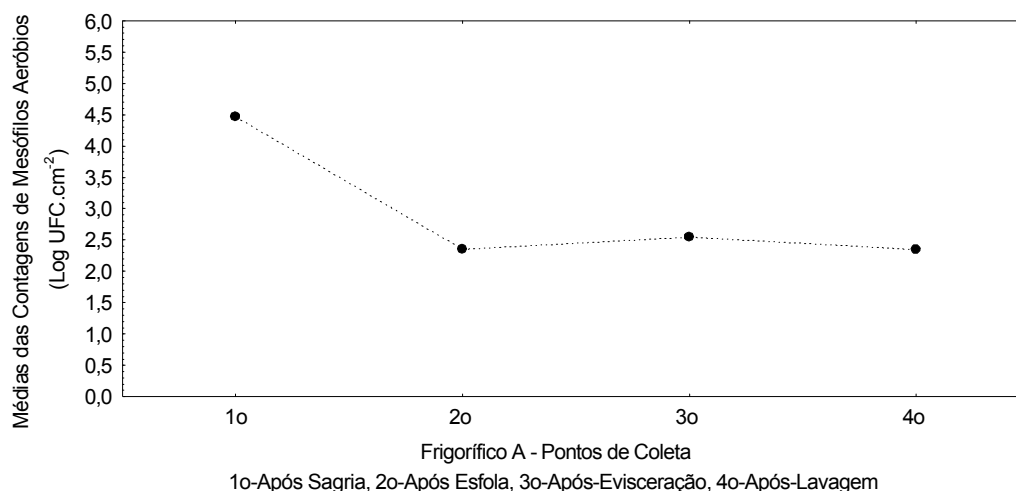


Figura 13 – Média das enumerações de micro-organismos mesófilos aeróbios nas superfícies das carcaças bovinas nos Pontos de Coleta das operações de abate do Frigorífico A

Em relação aos resultados da enumeração de micro-organismos mesófilos aeróbios no Frigorífico B verificou-se, para o 1º Ponto de Coleta, contagens variando de $2,49\log\text{UFC.cm}^{-2}$ a $5,99\log\text{UFC.cm}^{-2}$ (média $4,14\log\text{UFC.cm}^{-2}$); para o 2º Ponto de Coleta, contagens variando de $1,49\log\text{UFC.cm}^{-2}$ a $3,85\log\text{UFC.cm}^{-2}$ (média $2,79\log\text{UFC.cm}^{-2}$); para o 3º Ponto de Coleta, valores de $0,80\log\text{UFC.cm}^{-2}$ a

3,88logUFC.cm⁻² (média 2,58logUFC.cm⁻²); e para o 4º Ponto de Coleta, observou-se valores variando de 0,10logUFC.cm⁻² a 3,81logUFC.cm⁻² (média 2,33logUFC.cm⁻²).

Assim como foi efetuado para o Frigorífico A, realizou-se uma análise de variância ao nível de 5% ($p < 0,05$) para o Frigorífico B em relação a enumeração de micro-organismos mesófilos aeróbios nas superfícies das carcaças e meias-carcaças nos quatro Pontos de Coleta.

Verificou-se, como no caso do Frigorífico A, diferenças significativas entre o 1º Ponto de Coleta e os demais Pontos de Coleta ($p < 0,05$, Figura 14, Apêndice 10 e 11), porém, não ocorreram diferenças significativas entre 2º, 3º e 4º Pontos de Coleta.

Dessa forma, o 1º Ponto de Coleta apresentou contaminação significativamente superior ($p < 0,05$) aos demais pontos para os dois frigoríficos.

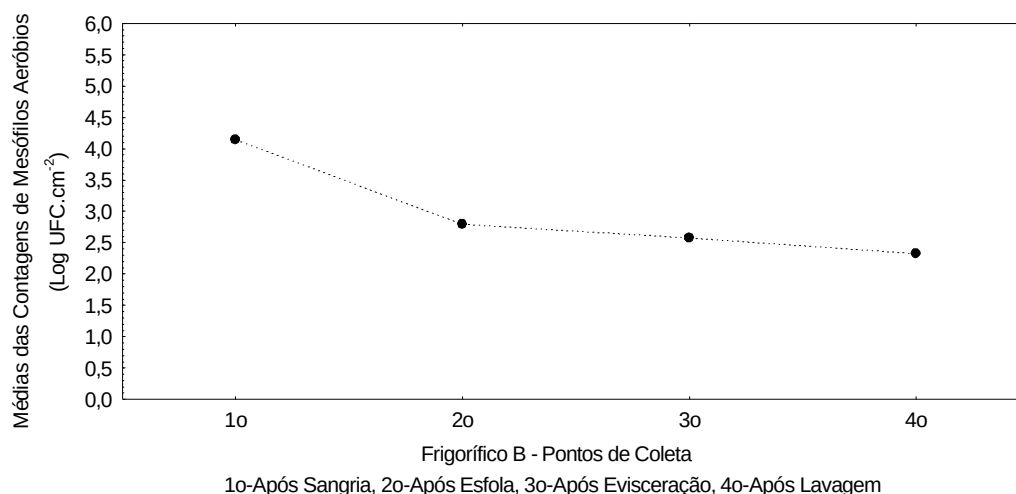


Figura 14 - Média das enumerações de micro-organismos mesófilos aeróbios em carcaças bovinas em quatro Pontos de Coleta das operações de abate do Frigorífico B

Esse resultado justifica-se pelo fato da amostragem de superfície ter sido realizada no couro, que é a maior fonte natural de contaminação das carcaças. Por ser carreador de fezes e demais sujidades o couro pode contribuir significativamente para a contaminação inicial ou aumento da carga microbiana superficial das carcaças, principalmente nas operações de esfolação (JARDIM et al., 2006; NOUCHI e HAMDI, 2009).

Segundo Jardim et al. (2006), o couro, o trato gastrointestinal e o trato respiratório são os reservatórios naturais dos micro-organismos nos bovinos e a presença de fezes no couro é importante fonte de patógenos para as carcaças.

Nouichi e Hamdi (2009) encontraram resultados próximos aos verificados neste estudo, ao avaliarem a contaminação superficial do couro, em 20 carcaças de bovinos, provenientes de fazendas da área central da Argélia, obtendo uma média de $4,48\log\text{UFC.cm}^{-2}$ para mesófilos aeróbios, similar às aquelas encontradas no 1º Ponto de Coleta dos Frigoríficos A e B (média $4,47\log\text{UFC.cm}^{-2}$ e $4,14\log\text{UFC.cm}^{-2}$, respectivamente).

Jardim et al. (2006) também encontraram resultados semelhantes aos obtidos neste estudo, avaliando 40 carcaças de bovinos abatidos em frigoríficos-matadouros sob Serviço de Inspeção Federal, no Estado de Minas Gerais. As contagens médias de mesófilos aeróbios encontradas por aqueles autores foram: antes da esfolagem $3,72\log\text{UFC.cm}^{-2}$; após a esfolagem $1,89\log\text{UFC.cm}^{-2}$, e após a lavagem $2,19\log\text{UFC.cm}^{-2}$. Os mesmos autores também evidenciaram que as médias das contagens no couro diferiram significativamente ($p<0,05$), quando comparadas aos demais pontos analisados.

Operações de abate posteriores à sangria, como esfolagem e lavagem, devem minimizar ou reduzir a contaminação microbiana da carcaça, se forem realizadas de maneira adequada do ponto de vista higiênico. Considerando que houve diferença significativa ($p<0,05$) das enumerações de mesófilos aeróbios do 1º Ponto de Coleta em relação aos demais pontos, pode-se inferir que o processo de esfolagem foi realizado de maneira higiênica nos dois frigoríficos, tendo em vista que ocorreu uma redução média de $1,74\log\text{UFC.cm}^{-2}$ entre o 1º e 2º Ponto de Coleta (após a sangria e após a esfolagem, respectivamente).

Considerando que a lavagem da carcaça é a última operação de abate que poderia minimizar a contaminação carregada nas operações anteriores, esta pode ser considerada como um dos pontos principais de avaliação higiênica da carcaça, sendo fundamental para a sua segurança microbiológica.

Após o processo de lavagem das carcaças, no 4º Ponto de Coleta, a enumeração de mesófilos aeróbios apresentou uma redução média de $0,22\log\text{UFC.cm}^{-2}$ em relação ao 3º Ponto de Coleta (após a evisceração), não verificando-se diferenças significativas entre estes pontos. Através desse resultado pode-se inferir que a operação de lavagem da carcaça não foi efetiva na redução da

concentração microbiana, demonstrando que há necessidade de um maior controle desta etapa nos dois frigoríficos, como por exemplo, a implementação de um monitoramento efetivo da qualidade microbiológica da água, da concentração de cloro, da temperatura e pressão utilizadas.

Neste sentido, Saba (2006) coletou 100 amostras de superfícies de meias-carcaças de bovinos, no período de julho a outubro de 2005, com o objetivo verificar a influência da temperatura e pressão da água de lavagem de carcaças bovinas sobre a população de mesófilos aeróbios. O autor observou que, nas amostras submetidas a lavagem, de acordo com a legislação vigente para o estado de São Paulo e de acordo com as normas técnicas do CISPOA – RS (2011), com pressão de 3atm e temperatura de 42°C, houve redução ($0,35\log\text{UFC.cm}^{-2}$) das populações microbianas, de $1,79\log\text{UFC.cm}^{-2}$ para $1,44\log\text{UFC.cm}^{-2}$.

Para analisar de maneira mais ampla os resultados de mesófilos aeróbios presentes nas carcaças, pode-se utilizar os critérios de Gil (2000), que indicam más condições de higiene na operação de abate quando o número médio de micro-organismos viáveis na superfície de carcaças de bovinos ultrapassa a 10^5UFC.cm^{-2} ($5\log\text{UFC.cm}^{-2}$), classificação na qual não se enquadraria os frigoríficos avaliados, já que os valores médios encontrados para ambos os frigoríficos nas operações de abate foram inferiores a esse valor.

5.4 Avaliação das carcaças bovinas em relação a enumeração de *Enterobacteriaceae* nos Frigoríficos A e B

Na enumeração de *Enterobacteriaceae* no Frigorífico A obteve-se, para o 1º Ponto de Coleta, contagens variando de $1,88\log\text{UFC.cm}^{-2}$ a $5,18\log\text{UFC.cm}^{-2}$ (média $3,03\log\text{UFC.cm}^{-2}$); para o 2º Ponto de Coleta, contagens variando de $0,10\log\text{UFC.cm}^{-2}$ a $3,32\log\text{UFC.cm}^{-2}$ (média $0,81\log\text{UFC.cm}^{-2}$); para o 3º Ponto de Coleta, valores de $0,10\log\text{UFC.cm}^{-2}$ a $3,42\log\text{UFC.cm}^{-2}$ (média $1,26\log\text{UFC.cm}^{-2}$); e para o 4º Ponto de Coleta, observou-se contagens variando de $0,10\log\text{UFC.cm}^{-2}$ a $3,40\log\text{UFC.cm}^{-2}$ (média $0,98\log\text{UFC.cm}^{-2}$).

Ocorreram diferenças significativas entre o 1º Ponto de Coleta e os demais Pontos de Coleta ($p < 0,05$, Apêndice 12 e 13), porém, não foi observada diferenças significativas entre o 2º, 3º e 4º Pontos de Coleta, denotando que a contaminação por membros da Família *Enterobacteriaceae* foi significativamente superior no 1º

Ponto de Coleta em relação aos demais pontos (Figura 15), assim como ocorreu com os micro-organismos mesófilos aeróbios.

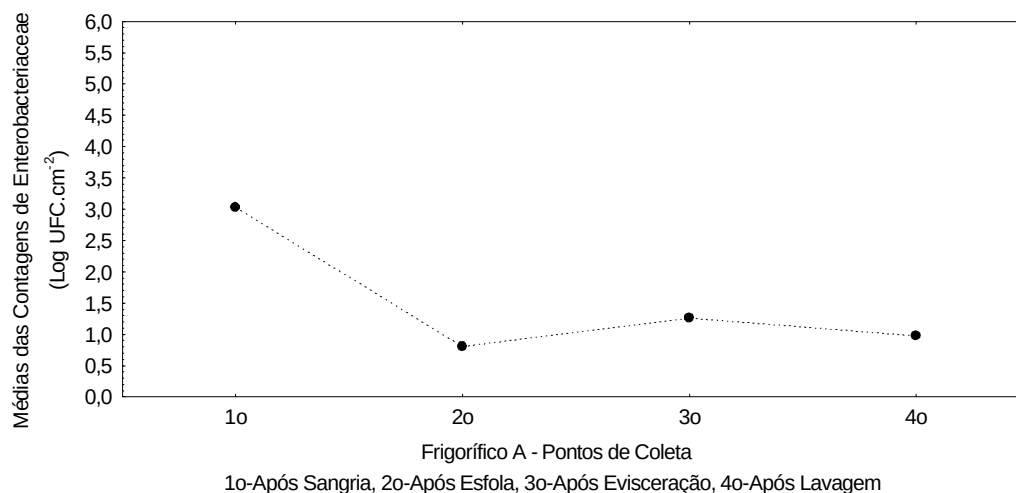


Figura 15 - Média das enumerações de *Enterobacteriaceae* nas superfícies das carcaças bovinas nos quatro Pontos de Coleta das operações de abate do Frigorífico A

Em relação aos resultados da enumeração de *Enterobacteriaceae* no Frigorífico B obteve-se, para o 1º Ponto de Coleta, enumerações variando de 0,94logUFC.cm⁻² a 3,51logUFC.cm⁻² (média 2,10logUFC.cm⁻²); para o 2º Ponto de Coleta, contagens variando de 0,10logUFC.cm⁻² a 3,40logUFC.cm⁻² (média 1,71logUFC.cm⁻²); para o 3º Ponto de Coleta, valores de 0,10logUFC.cm⁻² a 3,57logUFC.cm⁻² (média 1,65logUFC.cm⁻²); e para o 4º Ponto de Coleta, observou-se valores na enumeração variando de 0,10logUFC.cm⁻² a 3,40logUFC.cm⁻² (média 1,56logUFC.cm⁻²).

Novamente o 1º Ponto de Coleta foi o que apresentou, em média, as maiores concentrações de *Enterobacteriaceae* (Figura 16), porém, neste caso, não houve diferenças significativas ($p > 0,05$, Apêndice 14).

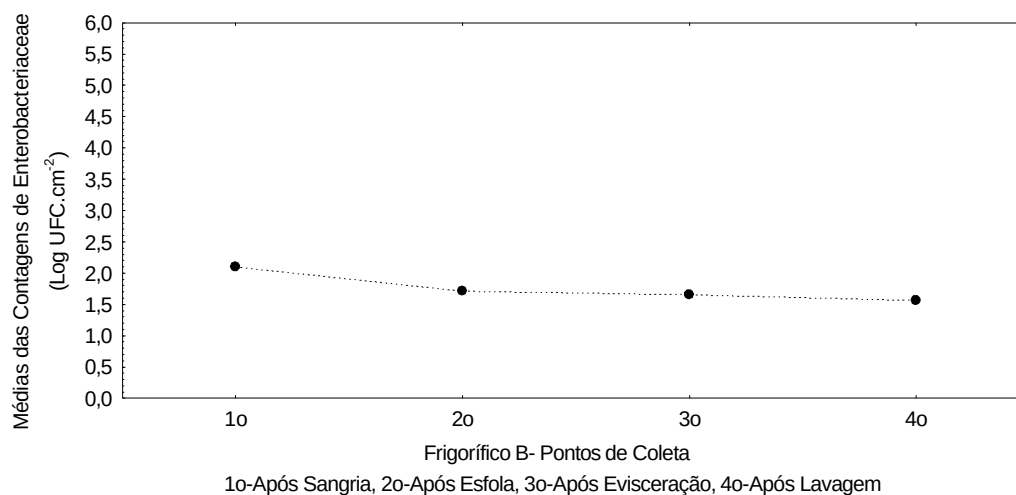


Figura 16 - Média das enumerações de *Enterobacteriaceae* nas superfícies das carcaças bovinas em quatro Pontos de Coleta das operações de abate do Frigorífico B

Considerando que a enumeração de *Enterobacteriaceae* é uma estimativa da contaminação por bactérias entéricas provenientes do trato gastrointestinal do animal, o período previsto de 24h para a dieta hídrica de bovinos no Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal - RIISPOA (1952) é importante para minimizar possíveis contaminações na etapa de evisceração durante o processo de abate. Em relação a isto, cabe ressaltar que as condições de higiene utilizadas na etapa de evisceração nos Frigoríficos A e B foram realizadas de forma efetiva e não contribuíram para o acréscimo da concentração de *Enterobacteriaceae* na carcaça durante o processo.

Um fato que corrobora esta justificativa é ausência de diferença significativa entre o 3º Ponto de Coleta (após a evisceração) e os demais pontos em ambos os Frigoríficos, bem como pela diferença significativa verificada ($p < 0,05$) no 1º Ponto de Coleta do Frigorífico A, em relação aos demais pontos.

Avaliando-se os resultados encontrados pode-se inferir que a contaminação com *Enterobacteriaceae* presente nas carcaças nos diferentes Pontos de Coleta, foram provenientes da superfície do couro. Em consonância com os resultados obtidos neste estudo, Arthur et al. (2004) avaliaram superfícies de 288 bovinos, provenientes de dois frigoríficos dos Estados Unidos, em várias etapas do processamento. Os autores verificaram contagens médias de *Enterobacteriaceae* no couro de $4,2 \log \text{UFC.cm}^{-2}$ e menores que $1 \log \text{UFC.cm}^{-2}$ na carcaça refrigerada.

Segundo Roça (2004), o couro de bovinos apresenta normalmente contagens variando entre $3,0\log\text{UFC.cm}^{-2}$ e $6,0\log\text{UFC.cm}^{-2}$ de membros da família *Enterobacteriaceae*. Charlebois et al. (1991) ressaltaram que o contato do tecido muscular subcutâneo na etapa de esfolagem com o material fecal presente no couro pode causar uma contaminação por coliformes e por membros da família *Enterobacteriaceae*, da ordem de 10^6 bactéria.cm⁻² ($6\log\text{bactéria cm}^{-2}$), sendo o suficiente para provocar uma contaminação cruzada em 10 carcaças sucessivas durante as operações de abate.

Neste estudo, apesar do 1º Ponto de Coleta apresentar concentração microbiana superior aos demais pontos, nenhuma carcaça apresentou valores iguais ou superiores a $6,0\log\text{UFC.cm}^{-2}$ nos quatro pontos avaliados, estando abaixo dos limites críticos propostos por Charlebois et al. (1991) e por Roça (2004).

Da mesma forma que para micro-organismos mesófilos aeróbios, seria de se esperar uma redução significativa da concentração de *Enterobacteriaceae* na etapa de lavagem da carcaça, contudo isso não ocorreu, reforçando o que se comentou no item anterior.

Segundo estudos conduzidos por Madden et al. (2004) com 100 carcaças bovinas para determinar os principais pontos de redução da concentração de *Enterobacteriaceae* durante o processo de abate, foi verificado que após a lavagem as carcaças apresentavam médias menores que $1,0\log\text{UFC.cm}^{-2}$, porém, as contaminações pré-existentes haviam se redistribuído para outros pontos da carcaça devido à falhas de temperatura e pressão. Novamente ressalta-se a importância da implementação de um monitoramento efetivo da qualidade da água, através de medidas frequentes da concentração de cloro, temperatura e pressão utilizadas.

Considerando-se as enumerações de *Enterobacteriaceae* para ambos os frigoríficos, principalmente em relação ao 1º Ponto de Coleta, é possível inferir que no Frigorífico B a higienização dos animais nos currais, antes do início do processo de abate para a retirada de sujidades e, principalmente, de resíduos de fezes foi realizada de maneira mais adequada e eficiente que no Frigorífico A, o que pode dever-se ao maior grau de exigência do mercado consumidor à que esse Frigorífico (B) se submete.

5.5 Comparação entre as carcaças bovinas dos Frigoríficos A e B em relação a enumeração de micro-organismos mesófilos aeróbios e enumeração de *Enterobacteriaceae*

Ao comparar os Frigoríficos A e B em relação as contagens de micro-organismos mesófilos aeróbios e de *Enterobacteriaceae* verificou-se que não existiam diferenças significativas ($p>0,05$, Apêndice 15, Figura 17, Apêndice 16, Figura 18).

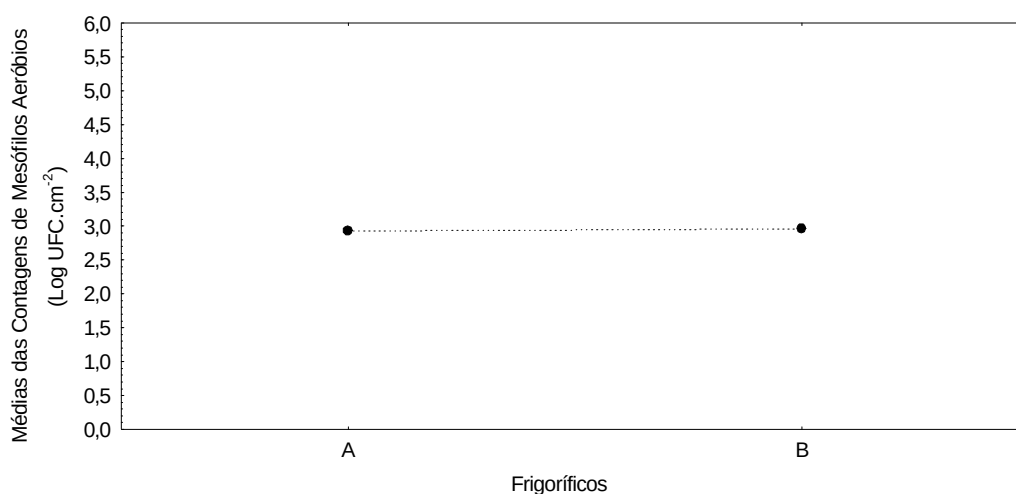


Figura 17 - Média das enumerações de micro-organismos mesófilos aeróbios em carcaças bovinas dos Frigoríficos A e B

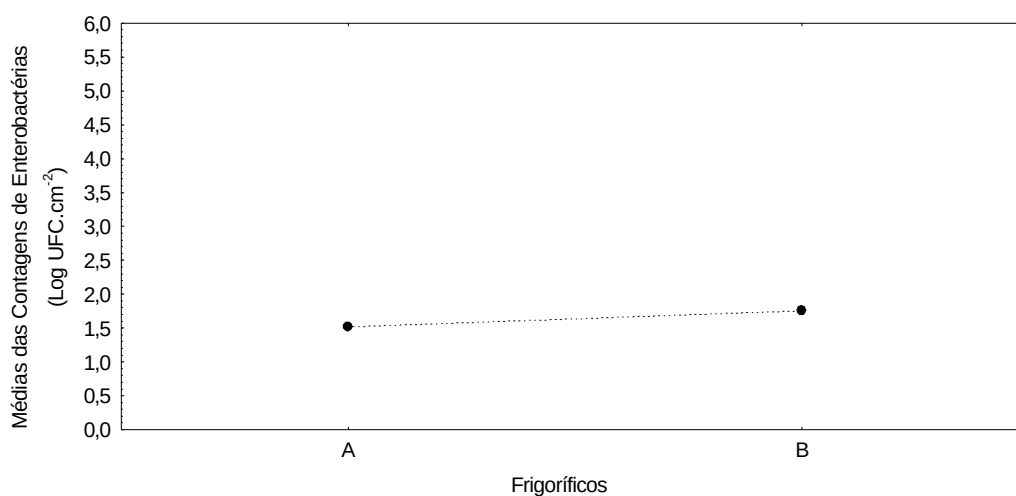


Figura 18 - Média das enumerações de *Enterobacteriaceae* em carcaças bovinas dos Frigoríficos A e B

Considerando estes resultados realizou-se uma análise de correção entre as enumerações encontradas nas carcaças nos Pontos de Coletas, a fim de mensurar o nível de similaridade entre os dois Frigoríficos. Para a obtenção do coeficiente de correlação (R) as análises foram realizadas com as médias obtidas nas enumerações para cada micro-organismo (mesófilos aeróbios e *Enterobacteriaceae*) em cada Ponto de Coleta (1º, 2º, 3º e 4º), pois os Frigoríficos A e B apresentavam números diferentes de amostras.

Como resultado verificou-se elevados coeficientes de correlação para ambos os micro-organismos. Para mesófilos aeróbios (Apêndice 17) obteve-se $R = 0,97$, conforme pode ser visualizado na Figura 19, e para *Enterobacteriaceae* (Apêndice 18), o coeficiente de correlação obtido foi $R = 0,91$, conforme a Figura 20.

Estes valores denotam que o comportamento dos micro-organismos indicadores de higiene (mesófilos aeróbios e *Enterobacteriaceae*) são muito similares nos dois frigoríficos, possibilitando inferir que as formas de contaminação das carcaças durante as operações de abate para estes micro-organismos são provavelmente as mesmas nos dois frigoríficos, mesmo que estes tenham níveis de inspeção diferentes.

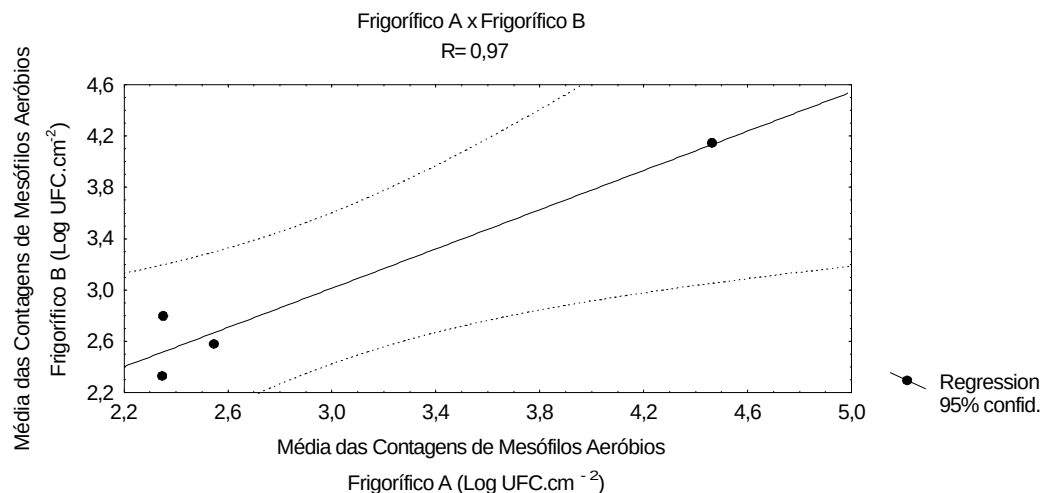


Figura 19 - Correlação entre as médias dos Pontos de Coleta dos Frigoríficos A e B em relação a enumeração de micro-organismos mesófilos aeróbios

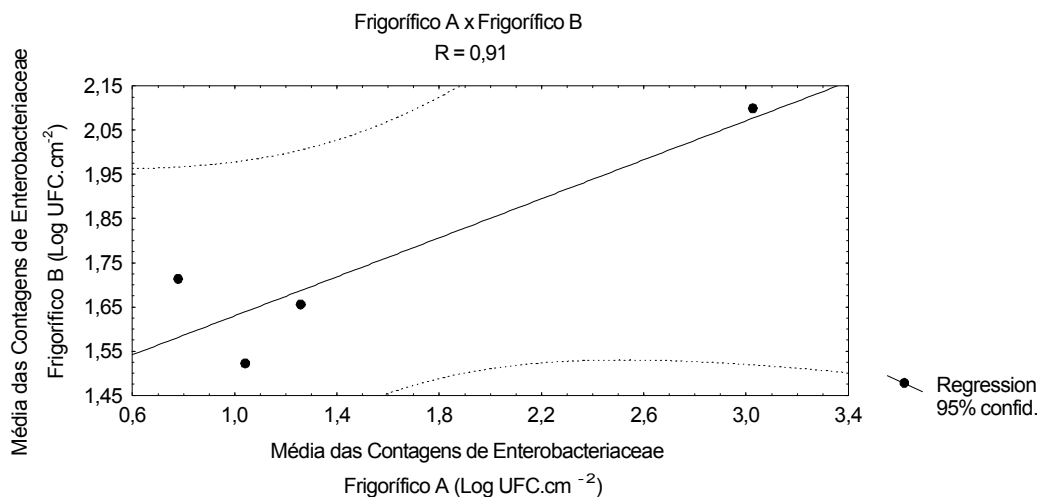


Figura 20 – Correlação entre as médias dos Pontos de Coleta dos Frigoríficos A e B em relação a enumeração de *Enterobacteriaceae*

Como o grau de exigência por parte dos órgãos fiscalizadores e do mercado consumidor são diferentes para o Frigorífico A (Serviço de Inspeção Estadual - CISPOA) e para o Frigorífico B (Serviço de Inspeção Federal – SIF), seria de se esperar diferenças significativas nas concentrações de micro-organismos mesófilos aeróbios e *Enterobacteriaceae*, entre os dois frigoríficos, fato que não foi observado. Isso reflete que embora o Frigorífico A seja submetido a menores exigências, tanto em nível de inspeção, quanto em nível de mercado comprador, seu controle de qualidade interno e o Serviço de Inspeção estão realizando controles similares ao Frigorífico B nas etapas de abate.

5.6 Avaliação do ambiente de processamento e dos cortes de alcatra e filé mignon em relação a enumeração de micro-organismos mesófilos aeróbios no Frigorífico A

O ambiente de abate (superfícies das serras de abertura do esterno e de divisão das carcaças), a sala de cortes (superfícies das mesas, facas e mãos dos manipuladores - antes do início e durante o processo de cortes), e dois tipos de cortes (alcatra e filé) foram avaliados em relação a enumeração de micro-organismos mesófilos aeróbios e de *Enterobacteriaceae*. Os resultados encontram-se na Tabela 10.

Tabela 10 - Enumeração de micro-organismos mesófilos aeróbios e de *Enterobacteriaceae* no ambiente de abate, no ambiente da sala de cortes (antes do início e durante o processo de cortes) e nos cortes de alcatra e filé mignon no Frigorífico A

Item Avaliado	Mesófilos aeróbios (superfícies logUFC.cm ⁻²) (mãos log UFC.mão ⁻¹)	<i>Enterobacteriaceae</i> (superfícies logUFC.cm ⁻²) (mãos log UFC.mão ⁻¹)
Serra Abertura - 1	2,85	0,90
Serra Abertura - 2	1,51	0,60
Serra Abertura - 3	2,96	1,38
Serra Abertura - 4	2,30	0,90
Serra Abertura - 5	4,89	3,31
Média	2,90	1,42
Serra Divisão - 1	1,83	0,60
Serra Divisão - 2	1,72	1,08
Serra Divisão - 3	0,90	0,60
Serra Divisão - 4	3,32	1,56
Serra Divisão - 5	2,58	2,26
Média	2,07	1,22
Mesa Antes - 1	0,60	0,60
Mesa Antes - 2	1,81	0,60
Mesa Antes - 3	2,97	1,38
Mesa Antes - 4	1,08	0,60
Mesa Antes - 5	2,81	1,20
Média	1,85	0,88
Mesa Durante - 1	0,60	0,60
Mesa Durante - 2	2,94	0,60
Mesa Durante - 3	3,21	0,60
Mesa Durante - 4	3,32	1,98
Mesa Durante - 5	2,81	0,90
Média	2,58	0,94
Faca Antes - 1	0,60	0,60
Faca Antes - 2	3,60	0,60
Faca Antes - 3	4,03	2,15
Faca Antes - 4	3,98	2,15
Faca Antes - 5	5,05	3,43
Média	3,45	1,79
Faca Durante - 1	0,60	0,60
Faca Durante - 2	2,73	1,20
Faca Durante - 3	2,39	0,60
Faca Durante - 4	1,51	0,60
Faca Durante - 5	3,19	1,88
Média	2,08	0,98

Tabela 10 - Enumeração de micro-organismos mesófilos aeróbios e de *Enterobacteriaceae* no ambiente de abate, no ambiente da sala de cortes (antes do início e durante o processo de cortes) e nos cortes de alcatra e filé mignon no Frigorífico A (continuação)

Item Avaliado	Mesófilos aeróbios (superfícies logUFC.cm ⁻²) (mãos log UFC.mão ⁻¹)	<i>Enterobacteriaceae</i> (superfícies logUFC.cm ⁻²) (mãos log UFC.mão ⁻¹)
Mão Antes - 1	4,80	4,70
Mão Antes - 2	3,33	2,10
Mão Antes - 3	4,98	2,88
Mão Antes - 4	5,35	2,70
Mão Antes - 5	4,11	2,10
Média	4,51	2,89
Mão Durante - 1	6,19	5,45
Mão Durante - 2	5,90	3,92
Mão Durante - 3	5,60	2,94
Mão Durante - 4	6,19	4,84
Mão Durante - 5	4,11	2,10
Média	5,60	3,85
Alcatra - 1	4,60	4,48
Alcatra - 2	3,87	0,88
Alcatra - 3	4,06	1,78
Alcatra - 4	2,40	0,57
Alcatra - 5	1,57	0,10
Alcatra - 6	5,98	0,10
Média	3,75	1,32
Filé - 1	4,40	3,08
Filé - 2	2,44	1,30
Filé - 3	4,35	3,35
Filé - 4	4,01	2,34
Filé - 5	3,11	0,88
Filé - 6	6,03	0,10
Média	4,06	1,84

Realizou-se uma análise de variância ao nível de 5% ($p < 0,05$) para os itens do ambiente de abate (serras de abertura do esterno e de divisão das carcaças), da sala de cortes (mesas, facas e mãos dos manipuladores, antes do início e durante o processo de cortes) e dos dois tipos de cortes (alcatra e filé) do Frigorífico A, em relação a contagem de micro-organismos mesófilos aeróbios e de *Enterobacteriaceae*.

Verificou-se que existiam diferenças significativas entre o item “mão do manipulador avaliada durante o processo” em relação aos demais itens ($p < 0,05$, Figura 21, Apêndice 19 e 20). Só não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre este item e o item “mão do manipulador antes de iniciar o processo”, denotando que provavelmente a contaminação das mãos não foi adquirida no processo, já estando presente antes de iniciar as atividades.

Verificou-se, também, diferença significativa entre o item “mão do manipulador antes de iniciar o processo” e o item “mesa antes de iniciar o processo”, o que ocorreu pelo fato da superfície da mesa antes de iniciar o processo ter sido o item com menor concentração microbiana de mesófilos aeróbios.

Não houve diferenças significativas entre os demais itens avaliados, porém, o fato da contaminação por micro-organismos mesófilos aeróbios ter sido significativamente superior nas mãos dos manipuladores de alimentos em relação aos demais pontos avaliados, denota a importância de um controle efetivo dos hábitos higiênicos dos manipuladores de alimentos através de ferramentas, tais como Boas Práticas de Fabricação (BPF), Procedimento Operacional Padrão (POP) e Procedimento Padrão de Higiene Operacional (PPHO).

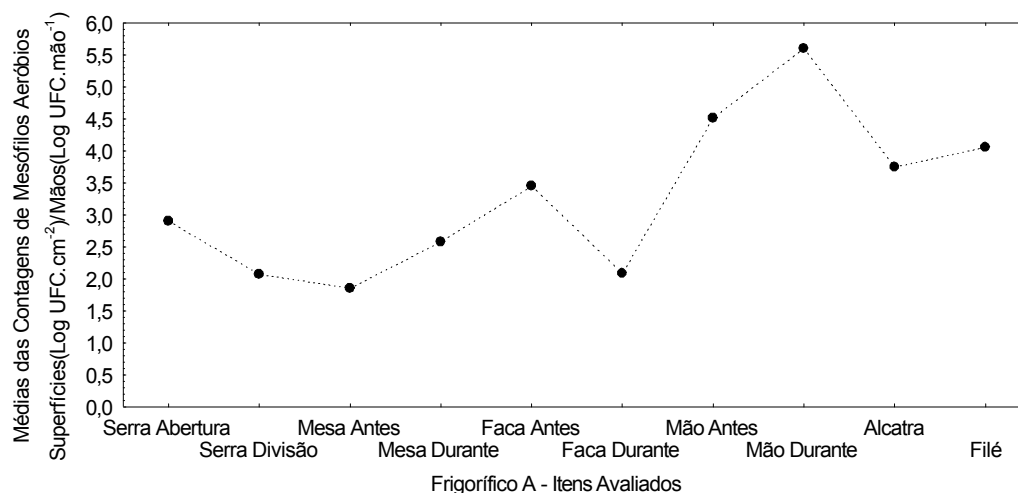


Figura 21 – Média das enumerações de micro-organismos mesófilos aeróbios no ambiente de abate; no ambiente da sala de cortes (antes do início e durante o processo de cortes) e dos cortes de alcatra e filé mignon, no Frigorífico A

Os padrões microbiológicos atuais da Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA (BRASIL, 2001) não fazem referência à concentração de micro-organismos mesófilos aeróbios, ou a qualquer outro tipo de micro-organismo indicador de higiene, para superfícies de equipamentos, mãos de manipuladores ou carne *in natura*.

Dessa forma, os resultados foram comparados com os padrões microbiológicos da Decisão 471 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento – MAPA (MAPA, 2002), que estabelece um limite de $1\log\text{UFC.cm}^{-2}$ para enumeração de mesófilos aeróbios, baseada na legislação do Mercado Comum Europeu e também com os padrões da *American Public Health Association* – APHA (2001), que estabelece, para superfícies, um limite de $0,30\log\text{UFC.cm}^{-2}$ para enumeração de mesófilos aeróbios.

Levando-se em consideração esses parâmetros, tem-se uma situação preocupante no Frigorífico A em relação a higienização de superfícies que entram em contato direto com o produto durante o processo, pois 83% das superfícies amostradas estavam acima do limite máximo estabelecido pela Decisão 471 do MAPA, e 100% acima do limite estabelecido pela APHA.

Resultados similares são relatados por outros autores em outras regiões do País. Menezes et al. (2007), ao analisarem a superfície de 36 equipamentos em um matadouro-frigorífico de bovinos, localizado no Estado de Mato Grosso, observaram

valores para micro-organismos mesófilos aeróbios, variando de $1,6\log\text{UFC.cm}^{-2}$ a $3,6\log\text{UFC.cm}^{-2}$. Marra (2009) avaliou as superfícies de mesas e facas, durante a jornada de trabalho em uma sala de desossa de um frigorífico, localizado em Goiânia, e verificou contagem média de mesófilos antes do início do trabalho, de $2,67\log\text{UFC.cm}^{-2}$, e durante a execução do processo de cortes, média de $1,44\log\text{UFC.cm}^{-2}$. Já para a superfície das facas o valor médio foi de $1,0\log\text{UFC.cm}^{-2}$ antes do início do processo de cortes e valor médio $<1\log\text{UFC.cm}^{-2}$ durante a execução da desossa. Os resultados obtidos nas diferentes pesquisas no País, incluindo este estudo, denotam que contagens acima dos padrões propostos pela Decisão 471 do MAPA são comuns nos frigoríficos brasileiros, explicitando a necessidade urgente de medidas corretivas.

As superfícies de equipamentos e utensílios que entram em contato direto com os alimentos durante o processamento são importantes veículos de micro-organismos deteriorantes e patogênicos, assim, é fundamental que os ambientes de processamento sejam corretamente higienizados antes, após o uso e em intervalos regulares. Neste contexto, é possível atribuir, as concentrações de micro-organismos mesófilos aeróbios encontradas, à provável inexistência de procedimentos de higienização durante os intervalos da jornada de trabalho e à falhas no processo de sanitização das superfícies no Frigorífico A.

Outra relação interessante que pode ser estimada a partir dos valores encontrados nas superfícies das serras de abertura do esterno e de divisão das meias-carcaças, é que estes equipamentos não contribuíram de forma significativa para o aumento da contaminação por mesófilos aeróbios nas carcaças entre as etapas de esfolagem e evisceração. Esta estimativa pode ser justificada pela ausência de diferença significativa no teste de Tukey entre estes dois Pontos de Coleta, onde aqueles equipamentos estão situados no processo de abate.

As mãos dos manipuladores apresentaram as maiores concentrações de micro-organismos mesófilos aeróbios, com valor médio de $4,51\log\text{UFC.mão}^{-1}$ antes do início do processo de cortes e de $5,60\log\text{UFC.mão}^{-1}$ durante a execução dos cortes.

Considerando-se a inexistência de padrões ou especificações para contagens microbianas de mesófilos aeróbios nas mãos dos manipuladores, foi utilizado para comparação o limite proposto por Andrade et al (2003), de $1\log\text{UFC.mão}^{-1}$, limite utilizado como padrão em diversos estudos (MELLO, 2007;

MELLO e SILVA., 2009; OLIVEIRA et al, 2008; COELHO et al, 2010). Utilizando este limite pode-se observar que as mãos dos manipuladores encontravam-se com qualidade higiênico-sanitária insatisfatória, mesmo antes do início da manipulação. Resultados semelhantes foram verificados por Oliveira et al. (2008), que ao avaliarem 25 manipuladores do processo de moagem de carne, em estabelecimentos comerciais do município de Lavras, encontraram uma enumeração média de $5,44\log\text{UFC.mão}^{-1}$.

A diferença significativa apresentada pelas concentrações de mesófilos aeróbios nas mãos dos manipuladores com os demais itens avaliados e a ausência de diferença significativa entre as mãos antes do início das atividades e durante a execução dos cortes, denotam a necessidade de treinamentos frequentes de manipuladores em procedimentos de higienização pessoal, preconizados pelos programas de Boas Práticas e Fabricação (BPF), segundo a Portaria 368 de 04 de setembro de 1997, de Procedimentos Operacionais Padronizados (POP), segundo a RDC 275 de 21 de outubro de 2002, e de Procedimentos Padrões de Higiene Operacional (PPHO), segundo a Resolução 10 de 22 de maio de 2003 (BRASIL, 1997; BRASIL, 2002; BRASIL, 2003).

Em relação as concentrações de mesófilos aeróbios nos cortes de filé e alcatra, observou-se contagens médias de 4,06 e $3,75\log\text{UFC.cm}^{-2}$, respectivamente. Estes valores são similares aos encontrados por Oliveira et al. (2008), que obtiveram um valor médio de $4,85\log\text{UFC.cm}^{-2}$ em cortes de patinho, e por Barros et al. (2007), que observaram concentrações médias de mesófilos aeróbios de $3,81\log\text{UFC.cm}^{-2}$, em cortes comerciais avaliados em 11 estabelecimentos no Paraná.

Cabe ressaltar, ainda, que as concentrações de mesófilos aeróbios encontradas nos cortes podem ser resultantes de contaminação cruzada pelo contato com as superfícies de utensílios e, principalmente, com as mãos dos manipuladores durante a execução dos cortes, devido ao intenso manuseio à que os cortes são submetidos.

5.7 Avaliação do ambiente de processamento e dos cortes de alcatra e filé mignon em relação a enumeração de *Enterobacteriaceae* no Frigorífico A

Verificou-se que existiam diferenças significativas na enumeração de *Enterobacteriaceae* entre o item “mão do manipulador avaliada durante o processo” em relação aos demais itens ($p < 0,05$, Figura 22, Apêndices 21 e 22), e neste caso, não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre este item e os itens “mão do manipulador antes de iniciar o processo”, “faca antes de iniciar o processo” e “filé”.

Estes resultados possibilitam inferir novamente que a contaminação das mãos provavelmente não foi adquirida no processo e, que a faca antes do início do processo, bem como o filé, apresentavam contaminações com contagens próximas das encontradas nas mãos dos manipuladores. Não se verificaram diferenças significativas entre os demais itens avaliados.

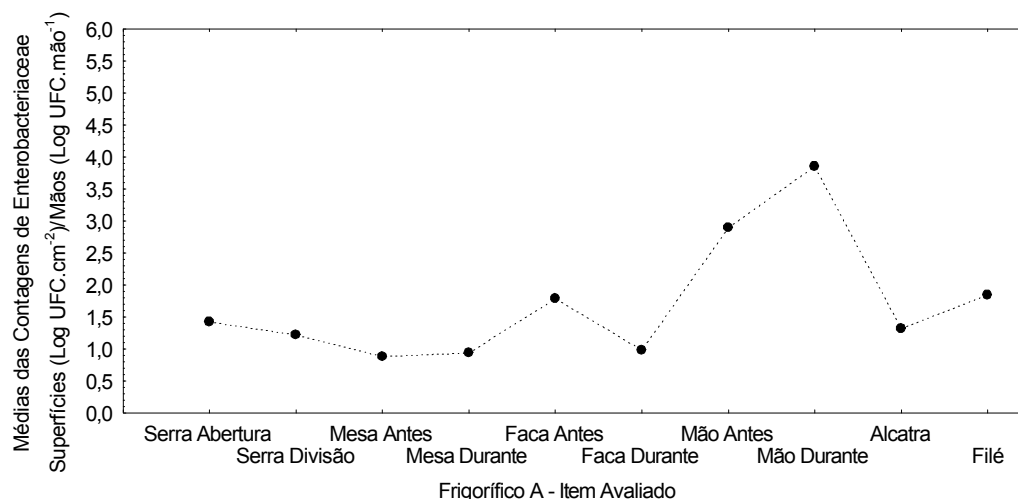


Figura 22 – Média das enumerações de *Enterobacteriaceae* no ambiente de abate, no ambiente da sala de cortes (antes do início e durante o processo de cortes) e nos cortes de alcatra e filé mignon do Frigorífico A

Os padrões microbiológicos utilizados para comparação das concentrações de *Enterobacteriaceae* foram os estabelecidos pela Decisão 471 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento – MAPA (MAPA, 2002), baseada na legislação do Mercado Comum Europeu, onde o limite máximo aceitável para superfícies são valores $< 1 \log \text{UFC.cm}^{-2}$. Utilizando-se este parâmetro, 43,33% das superfícies

amostradas estavam com valores acima do estabelecido, denotando condições higiênico-sanitárias insatisfatórias.

Marra (2009) também avaliou a concentração de *Enterobacteriaceae* nas superfícies de mesas e facas utilizadas em sala de desossa e obteve valores médios para ambas as superfícies $<1\log\text{UFC.cm}^{-2}$, porém, Menezes (2007), avaliou esse grupo microbiano em 36 superfícies de um matadouro-frigorífico e encontrou resultados semelhantes aos obtidos neste estudo, com concentrações variando de 0,3 a $2,72\log\text{UFC.cm}^{-2}$.

Em relação as superfícies das facas, que antes do início do processo de cortes apresentaram concentração média de *Enterobacteriaceae* de $1,79\log\text{UFC.cm}^{-2}$, e não foi determinada diferença significativa ($p<0,05$) com os itens de contaminação mais elevadas, pode-se inferir que possivelmente estes utensílios de contato direto com o produto acumulavam resíduos de matéria orgânica somada a possíveis falhas de sanitização, antes de iniciar as atividades.

Neste sentido, cabe ainda ressaltar, que a Portaria 210, de 10 de novembro de 1998 do MAPA (BRASIL, 1998), prevê, no abate e processamento, a utilização de esterilizadores para facas, chairas, ganchos e serras, com água circulante a uma temperatura mínima de 85°C , onde estes utensílios devem ser imersos, antes do início das atividades e periodicamente durante a jornada de trabalho.

Segundo o *Scientific Committee on Veterinary Measures* - SCVM (2001), da Comissão Européia, alguns métodos alternativos para a sanitização de facas também podem ser utilizados. Este Comitê cita que a água aquecida a 82°C elimina a maioria dos patógenos não esporulados e bactérias deteriorantes, entretanto, a presença de matéria orgânica na faca pode reduzir o efeito da temperatura da água sobre os micro-organismos. Dessa forma, o SCVM sugere que as facas sejam lavadas primeiramente com água a 60°C para a eliminação da matéria orgânica e, depois, se faça a sua sanitização com água a 82°C ou com a utilização de ácidos orgânicos (SABA, 2006).

Da mesma forma que foi observado para a contaminação por mesófilos aeróbios, pode-se estimar, a partir dos valores encontrados nas superfícies das serras de abertura do esterno e de divisão das meias-carcaças, que estes equipamentos não contribuíram de forma significativa para o aumento da contaminação por *Enterobacteriaceae* nas carcaças entre as etapas de esfolagem e evisceração. Esta estimativa também pode ser justificada pela ausência de diferença

significativa no teste de Tukey entre estes dois Pontos de Coleta, onde estes equipamentos estão situados no processo de abate.

Assim como para mesófilos aeróbios, o item avaliado que apresentou as maiores concentrações de *Enterobacteriaceae* foi “mãos do manipulador durante a execução dos cortes”, não diferindo significativamente ($p < 0,05$) da concentração microbiana antes de iniciar as atividades, enfatizando a possibilidade de falhas na higienização das mãos e denotando a necessidade de treinamentos constantes. Esta situação também é preocupante, pois, segundo Leite et al. (1989), a presença de enterobactérias nas mãos de manipuladores de alimentos é indicativa desses portarem espécies microbianas patogênicas.

Outro fator importante que pode ser destacado em relação aos manipuladores são os exames de saúde periódicos. Segundo Figueiredo (2002), o programa de qualidade PPHO-07 prevê a realização de controle de saúde clínico exigido pela Vigilância Sanitária, que objetiva a saúde do trabalhador e a sua condição para estar apto para o trabalho de manipulação de alimentos, não podendo ser portador de doenças infecciosas ou parasitárias. Para isso, exames médicos admissionais e periódicos são solicitados.

A concentração de *Enterobacteriaceae* verificada no filé mignon denota a necessidade de um controle efetivo no processo de cortes, pois podem estar presentes micro-organismos potencialmente patogênicos pertencentes à família *Enterobacteriaceae*, assim como verificado no trabalho de Cardoso et al. (2006), onde foram isolados 47,1% de *Escherichia coli*, e 11,8% de *Salmonella* spp. em 51 carcaças comercializadas em Fortaleza-CE.

6 CONCLUSÕES

- *Salmonella* spp. foi encontrada no couro dos bovinos, nos dois Frigoríficos avaliados, entretanto, não foi detectada em nenhum outro ponto de amostragem da linha de abate, demonstrando que as operações de abate foram efetivas para o controle da contaminação da carcaça por esse micro-organismo.

- As concentrações de mesófilos aeróbios foram significativamente superiores no ponto de coleta após a sangria em relação aos demais pontos avaliados no abate de bovinos, para ambos os frigoríficos, porém, as concentrações de *Enterobacteriaceae* foram significativamente superiores no ponto de coleta após a sangria somente para o frigorífico sob Serviço de Inspeção Estadual.

- Em relação à presença de *Salmonella* spp. os frigoríficos com diferentes níveis de inspeção sanitária não apresentaram diferença significativa, indicando que as formas de contaminação das carcaças durante as operações de abate para este micro-organismo são provavelmente as mesmas.

- Os frigoríficos com diferentes níveis de inspeção sanitária apresentaram elevados coeficientes de correlação para a concentração de micro-organismos mesófilos aeróbios e *Enterobacteriaceae* na linha de abate.

- *Salmonella* spp. não foi detectada no ambiente e nem nos cortes cárneos avaliados, entretanto, as mãos dos manipuladores apresentaram-se como um ponto importante de contaminação por micro-organismos mesófilos aeróbios e *Enterobacteriaceae* no ambiente de processamento de cortes.

- As concentrações de micro-organismos mesófilos aeróbios e de *Enterobacteriaceae*, bem como a presença de *Salmonella* spp. encontradas após a sangria indicaram que o couro de bovinos é fonte de introdução de micro-organismos no ambiente de abate de bovinos dos dois Frigoríficos.

REFERÊNCIAS

3M™ FOOD SAFETY BRASIL. **Placas petrifilm comparativo**. Disponível em: <http://multimedia.3m.com/mws/mediawebserver?mwsId=SSSSSu7zK1fslxtUnYtB58_Zev7qe17zHvTSevTSeSSSSSS--&fn=PlacasPetrifilmComp.pdf>. Acesso em: 23 de janeiro de 2011.

3M™ FOOD SAFETY BRASIL **Teste de microrganismos indicadores**. Disponível em: <http://solutions.3m.com.br/wps/portal/3M/pt_BR/Microbiology/FoodSafety/product-information/>. Acesso em: 23 de janeiro de 2011.

AKKAYA, L.; CETINKAYA, Z.; ALISARLI, M.; TELLI, R.; GÖK, V. The prevalence of *E. coli* O157/O157:H7, *L. monocytogenes* and *Salmonella* spp. on bovine carcasses in Turkey. **Journal of Muscle Foods**, v. 19, n. 4, p. 420-429, 2008.

ANDRADE, N. J.; SILVA, R. M. M.; BRABES, K. C. S. Avaliação das Condições Microbiológicas em Unidades Alimentação e Nutrição. **Ciências Agrotécnicas**, Lavras. v.27, n.3, p.590-596, 2003.

ANDRÉ, M. C. D. P. B.; SERAFINI, A. B.; VIEIRA, J. D. G.; CAMPOS, M. R. H.; CORREA, M. H. S. Aspectos higiênico-sanitários de utensílios utilizados em salas de abate de matadouros de Goiânia. **Higiene Alimentar**, v. 13, n.60, p.68-73, 1999.

ANDREWS, W.; HAMMACK, T.S. Food Sampling and Preparation of Sample Homogenate. In: FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Bacteriological Analytical Manual**. 8.ed. Gaithersburg: AOAC International, 1998 cap.1. Disponível em: <<http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM/default.htm>>. Acesso em: 30 de janeiro de 2011.

ARANGO, H. G. **Bioestatística Teórica e Computacional. Com Bancos de Dados Reais em Disco**. Rio de Janeiro: Guanabara KooGan, 2001. 236p.

ARTHUR, T. M.; BOSILEVAC, J. M.; NOU, X.; SHACKELFORD, S. D.; WHEELER, T. L.; KENT, M. P.; JARONI, D.; PAULING, B.; ALLEN, D. M.; KOOHMARAIE, M. *Escherichia coli* O157 Prevalence and enumeration of aerobic bacteria, *Enterobacteriaceae*, and *Escherichia coli* O157 at various seps in commercial beef processing plants. **Journal of Food Protection**, v. 67, n. 4, p. 658–665, 2004.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS EXPORTADORAS DE CARNE – ABIEC. **Exportações de carne bovina no Brasil**. Disponível em: <http://www.abiec.com.br/41_exportacao_ano.asp>. Acesso em: 31 de janeiro de 2011.

ASSOCIAÇÃO NACIONAL DOS CONFINADORES – ASSOCON. **Produção de carne bovina tem de dobrar até 2050 e solução passa pela melhor organização dos vários elos da atividade**. Disponível em: <<http://www.assocon.com.br/producao-de-carne-bovina-tem-de-dobrar-ate-2050-e-solucao-passa-pela-melhor-organizacao-dos-varios-elos-da-atividade/>>. Acesso em: 01 de fevereiro de 2011.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC® 990.12. **Official Methods of AnalysisSM**, 18th ed. Disponível em:< <http://www.eoma.aoac.org/methods/info.asp?ID=46762>>. Acesso em: 15 de janeiro de 2011.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC® 2003.01 **Official Methods of AnalysisSM**, 18th ed. Disponível em:< <http://www.eoma.aoac.org/methods/info.asp?ID=5639>>. Acesso em: 15 de janeiro de 2011.

BARKOCY-GALLAGHER, G.A., ARTHUR, T.M., RIVERA-BETANCOURT, M., NOU, X., SHACKELFORD, S.D., WHEELER, T.L., KOOHMARAIE, M., Seasonal prevalence of shiga toxin-producing *Escherichia coli*, including O157:H7 and non-O157 serotypes, and *Salmonella* in commercial beef processing plants. **Journal of Food Protection**, v 66, n.11, p.1978–1986, 2003.

BARROS, M. A. F.; NERO, L. N.; MONTEIRO, A. A.; BELOTI, V. Identification of main contamination points by hygiene indicator microorganisms in beef processing plants. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n.4, p.856-862, out.-dez. 2007.

BRASIL. Circular Nº 463, de 05 de agosto de 2004. **Programas de autocontroles de estabelecimento habilitados para os Estados Unidos (EUA) e para Estados-Membros da União Européia (UE)**. Disponível em: <www2.sag.gov.br/Pecuaria/...habilitados_exportar/.../circular_463_2004.doc>. Acesso em: 20 de janeiro de 2011.

BRASIL. Decreto n.30.691. 29 de mar. 1952, alterado pelos Decretos n.1255. 25 jun. 1962, n.1236. 02 set. 1994, n.1812. 08 fev. 1996, n.2244. 04 jun. 1997. **Regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal. Brasília** Disponível em:< http://www.agais.com/normas/riispoa/principal_riispoa.htm >. Acesso em: 30 de novembro de 2010.

BRASIL. Instrução Normativa Nº 62, de 26 de agosto de 2003. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasil, nº181-C, p. 14-51, 18 de setembro de 2003, seção 1.

BRASIL. LEI Nº. 7.889, de 23 de novembro de 1989. Dispõe sobre a inspeção sanitária e industrial dos produtos de origem animal, e dá outras providências. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasil, p. 21529, de 24 de novembro de 1989, seção 1.

BRASIL, Portaria 210, de 10 de novembro de 1998. Aprova o Regulamento Técnico da Inspeção Tecnológica e Higiênico-Sanitária de Carne de Aves. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasil, p. 226-232, 26 de novembro de 1998, seção 1.

BRASIL, Portaria 368 de 04 de setembro de 1997. Aprova o Regulamento Técnico sobre as Condições Higiênico-Sanitárias e de Boas Práticas de Fabricação para Estabelecimentos Elaboradores/ Industrializadores de Alimentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasil, nº 172, p. 49-51, 08 de setembro de 1997, seção 1.

BRASIL. Resolução 10 de 22 de maio de 2003. Institui o Programa Genérico de Procedimentos - Padrão de Higiene Operacional - PPHO, a ser utilizado nos Estabelecimentos de Leite e Derivados que funcionam sob o regime de Inspeção Federal, como etapa preliminar e essencial dos Programas de Segurança Alimentar do tipo APPCC (Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle). **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasil, nº101, p. 4-5, 28 de maio de 2003, seção 1.

BRASIL, Resolução RDC 12 de 02 de janeiro de 2001. Regulamento Teórico Sobre Padrões Microbiológicos Para Alimentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasil, nº 7-E, p. 46-53, 10 de janeiro de 2001, seção 1.

BRASIL RDC 275 de 21 de outubro de 2002. Aprova o Regulamento Técnico de Procedimentos Operacionais Padronizados aplicados aos Estabelecimentos Produtores/ Industrializadores de Alimentos e a Lista de Verificação das Boas Práticas de Fabricação em Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Alimentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasil, nº 206. p. 126-130, 23 de outubro de 2002, seção 1.

BRICHTA-HARHAY, D. M.; GUERINI, M. N.; ARTHUR, T. M.; BOSILEVAC, J. M.; KALCHAYANAND, N.; SHACKELFORD, S. D.; WHEELER, T. L.; MOHAMMAD KOOHMARAIE, M. *Salmonella* and *E. coli* O157:H7 contamination on hides and carcasses of cull cattle presented for slaughter in the United States – an evaluation of prevalence and load using immunomagnetic separation and direct plating methods. **Applied and Environmental Microbiology**, v.74, n.20, p.6289-6297, 2008.

CARDOSO, W. M.; OLIVEIRA, W. F.; ROMAO, J. M.; SAMPAIO, C. A. F.; MORAES, T. G. V.; TEIXEIRA, R. S. C.; CÂMARA, S. R.; SALLES, S. P. R.; SIQUEIRA, A. A.; NOGUEIRA, G. C. Enterobacteria isolation in broiler carcasses from commercial establishments in Fortaleza, Ceará State, Brazil. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.73, n.4, p.383-387, 2006.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION - CDC. **2008 – 2009 *Salmonella* Typhimurium outbreak response nov 2008 – march 2009**. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/salmonella/typhimurium/SalmonellaTyphimuriumAAR.pdf>>. Acesso em: 27 de janeiro de 2011.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION - CDC. **Investigation update: multistate outbreak of human *Salmonella* Montevideo infections**. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/salmonella/montevideo/index.html>>. Acesso em: 27 de janeiro de 2011.

CENTRO ESTADUAL DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE - RS – CEVS - RS. **Vigilância epidemiológica de doenças transmitidas por alimentos**. Disponível em: <

<http://www.saude.rs.gov.br/wsa/portal/index.jsp?menu=organograma&cod=354> >. Acesso em: 29 de janeiro de 2011.

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

CHESCA, A. C.; POLICARPO, A. C. F.; D'ANGELIS, C. E. M. *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* spp.: investigação em carne bovina tipo exportação. **Higiene Alimentar**, v. 24, n. 184/185, p. 133-137, 2010.

CLARK, R. C.; GYLES, C. L. *Salmonella*. In: GYLES, C. L.; CHARLES, O. T. **Patology bacterial infection animal**. 2 ed. Ames: Iowa State University, 1993. p. 133-53.

CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION - CAC. Joint FAO/WHO **Food Standards Programme. Codex Committee on Food Higiene. Principles and Guidelines for the Conduct of Microbiological Risk Assessment. Secretariat of the Joint FAO/WHO Food Standards Programme**. Rome: FAO. CAC/GL 30, 1999.

COELHO, A. M.; MILAGRES, R. C. R. M.; MARTINS, J. F. L.; AZEREDO, R. M. C.; SANTANA, A. M. C. Contaminação microbiológica de ambientes e de superfícies em restaurantes comerciais. **Ciência & Saúde Coletiva**, v.15, p.1597-1606, 2010.

COMMISSION REGULATION - EUROPEAN COMMISSION N° 1441/2007. Amending Regulation (EC) N° 2073/2005 On microbiological criteria for foodstuffs. **Official Journal of the European Union**, 18p., 5 December 2007.

COMMISSION REGULATION - EUROPEAN COMMISSION N° 2073/2005. On microbiological criteria for foodstuffs. **Official Journal of the European Union**, L338, p. 1-27, 15 november 2005.

COMMISSION REGULATION – EUROPEAN COMMISSION N°2001/471 The application of HACCP principles and microbiological testing in licensed meat plants **Official Journal of the European Union**, L165, 52p., 8 june 2001.

COORDENADORIA DE INSPEÇÃO SANITÁRIA DOS PRODUTOS DE ORIGEM ANIMAL DO RIO GRANDE DO SUL – CISPOA/RS. **Normas técnicas de instalações e equipamentos para entreposto de carnes e derivados**. Disponível em:< <http://www.saa.rs.gov.br/servicos.php?cod=30>> . Acesso em: 10 de fevereiro de 2011.

COSTA, C. A. R. **Avaliação da exposição do consumidor à *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp. e *Escherichia coli* produtora de toxina de Shiga em produtos cárneos refrigerados comercializados no município de São Paulo**. 2010. 127f. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo.

CRUME T. L., VARMA J.K., MARCUS R., STENZEL S.A., ANDERSON B.J, JOYCE K. Highly resistance *Salmonella* Newport – MDRA AMP C, transmitted through the domestic US food supply. A food net case-control study sporadic *Salmonella* Newport infections. **Journal of Infectious Diseases**, v. 194, n. 2, p. 222-230, 2002.

CUNHA, M. A.; SILVA, M. R. Métodos de detecção de microrganismos indicadores. **Saúde & Ambiente em Revista**, v.1, n.1, p.09-13, jan-jun 2006.

D'AUST, J. Y. *Salmonella* species. In: DOYLE, M. P.; BEUCHAT, L. R.; MONTVILLE, T. **Journal Food Microbiology**. Washington: ASM Press, 1997. p. 129-158.

DICKSON, J. S.; ANDERSON, M. E. Microbiological decontamination of food animal carcasses by washing and sanitizing systems: a review. **Journal of Food Protection**, Ames, v. 55, n. 2, p. 133-140, 1991.

DOYLE, M. P.; BEUCHAT, L. R.. **Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers**, 3 ed. Washington: Editora ASM Press, 2007. 1056p.

EDUARDO, M. B. P.; KATSUYA, E. M.; BASSIT, N. P.; MELLO, M. L. R. *Salmonella* Enteritidis - Uma Importante Causa de Surtos Bacterianos Veiculados por Alimentos e a Necessidade de uma Nova Regulamentação Sanitária para os Alimentos Implicados, São Paulo, Brasil, 1999-2003. **Boletim Epidemiológico Paulista – BEPA**, n. 8, 2004. Disponível em: <http://www.cve.saude.sp.gov.br/agencia/bepa8_salmo9903.htm>. Acesso em: 24 de janeiro de 2011.

EVANCHO GM, SVEUM WH, MOBERG LJ, FRANK JF. Microbiological Monitoring of the Food Processing Environment. In: DOWNES FP, ITO K. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4th ed. Washington: D.C, APHA, 2001. p. 25-36.

FIGUEIREDO, R. M. **Manual de Procedimentos e Desenvolvimento**. V.1 São Paulo: Manole, 2002. 164p.

FRANCO, B. D. G. M; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Ateneu, 2004. 182p.

FONTOURA, C. L. **Estudo microbiológico em carcaças bovinas e influência da refrigeração sobre a microbiota contaminante**. 2006. 78f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, WORLD HEALTH ORGANIZATION – FAO/WHO. **Food Safety Risk Analysis** Part I: An Overview and Framework Manual. Provisional edition. Rome: FAO/WHO, 2005. 86p.

GIL, J. A. S. I. **Manual de Inspeção Sanitária de carnes**. 3. ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2000. 660p.

GILLESPIE, J. H.; TIMONEY, J.F. Hagan and bruner's infectious diseases of domestic animals. In: **With reference to etiology, pathogenicity, immunity, epidemiology, diagnosis and biologic therapy**. 7th ed. USA: Comstock Publishing Associattes, p. 84-93p ,1981.

GOMES, M. J. P. **Enterobacteriáceas (*Salmonella* spp.)**. Disponível em:<<http://www.scribd.com/doc/27524416/>>. Acesso em: 26 de janeiro de 2011.

GRIMONT, P. A. D. e WEILL, F. X. Antigenic formulae of the *Salmonella* serovars, 9th ed. **World Health Organization Collaborating Centre for Reference and Research on Salmonella**. Paris, France: Pasteur Institute; 2007

GUIBOURDENCHE M, ROGGENTIN P, MIKOLEIT M, FIELDS PI, BOCKEMÜHL J, GRIMONT PA, WEILL FX. Supplement 2003-2007 (No. 47) to the White-Kauffmann-Le Minor scheme. **Research in Microbiology**, v. 161, nº 1, p. 26-29, jan-feb 2010.

HOLT, J. G.; KRIEG, N. R.; SNEATH, P. H. A.; STALEY, J. T.; WILLIAMS, S. T. **Bergey's Manual of Determinative Bacteriology**. 9th ed. Philadelphia, USA: Lippincott Williams e Wilkins, 2000. 789p.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS - ICMSF. **Microorganisms in Foods 6: Microbial Ecology of Food Commodities**. EUA: Kluwer Academic/Plenum Publishers v. 6, 2th ed., 2005. 736p.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. ISO 6579:2002. **Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp.**, 4th ed, 2002.

JARDIM, F. B. B.; SILVA, E. N.; OKURA, M. H.; RAMOS, M. A. Influência dos sistemas de pastagem e confinamento na contaminação microbiana de carcaças bovinas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.26, n.2, p. 277-282, abr.-jun. 2006.

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

LEITE, C. Q. F.; RADDI, M. S. G.; MENDONÇA, C. P. Bactérias entéricas nas mãos de manipuladores de alimentos da cidade de Araraquara – SP. **Alimentos e Nutrição**, v. 1, p.23-28, 1989.

LE MINOR, L. E. *Salmonella* In: **BERGEY'S MANUAL OF DETERMINATIVE BACTERIOLOGY**. 9th ed. Philadelphia: Williams &Wilks, 1994. p. 186-187.

MACHADO, R.; ABREU, C. F.; LIMA, R.; TASSINARI, A. **Comparison of 3M™Petrifilm™ Aerobic Plate results for raw and processed meat Sample after 24 x 48h Incubation**. Disponível em: http://solutions.3m.com/wps/portal/3M/en_US/Microbiology/FoodSafety/promotions/one/. Acesso em: 15 de janeiro de 2010

MADDEN, R.H.; MURRAY, K.A.; GILMOUR, A. Determination of the principal points of product contamination during beef carcass dressing processes in Northern Ireland. **Journal of Food Protection**, v.67, n.7, p.1494-1496, 2004.

MANDARINO, J. R. **Ocorrência de salmonelas em suínos abatidos no estado do Rio de Janeiro**. 2006. 67f. Dissertação (Mestre em Ciências Veterinárias) - Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica.

MARCHI, P. G. F. **Estudo comparativo do estado de conservação de carne moída através de métodos microbiológicos e físico-químicos**. 2006. 90f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

MARIOT, R. F. **Avaliação do Design Higiênico de Equipamentos que Contribuem para Contaminação de Carcaças na 1ª Etapa de Abate de Suínos**. 2010. 55f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente) – Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

MARRA, K. N. **Dinâmica da carga microbiana da sala de desossa em um matadouro-frigorífico de Goiânia-GO, durante a jornada de trabalho**. 2009. 68f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Escola Veterinária – Universidade Federal de Goiás, Goiânia.

MELLO, V. F. **Aplicação do sistema de gestão de segurança de alimentos em uma indústria de bebidas orgânicas**. 2007. 74f. Dissertação (Mestre em Ciência e Tecnologia dos Alimentos) - Instituto de Tecnologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica.

MELLO, V. F.; SILVA, A. T. Impacto da aplicação do sistema de análise de perigos e pontos críticos de controle em indústria de bebidas orgânicas. **Higiene Alimentar**, v. 23, n. 174/175, 2009.

MENDONÇA, C.; GRANADA, G. G. Coliformes em açougues de Pelotas-RS. *Revista Brasileira de Agrociência*, v.5, n.1, p. 76-77, 1999.

MENEZES, L. F.; MELLO, C. A.; JÚNIOR, J. C. G. Avaliação das condições higiênico-sanitárias de superfícies de equipamentos, em matadouro-frigorífico de bovinos no município de Várzea Grande, MT. **Higiene Alimentar**, v. 1, n.156, 2007.

MEYER, C.; THIEL, S.; ULLRICH, U.; STOLLE, A. *Salmonella* in raw meat and by-products from pork and beef. **Journal of Food Protection**, v. 73, n. 10, p. 1780–1784, 2010.

MINISTÉRIO DA SAÚDE – MS – BRASIL. **Informações Técnicas** Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/saude/profissional/visualizar_texto.cfm?idtxt=31758>. Acesso em: 27 de janeiro de 2011.

MÜRMANN, L.; SANTOS, M. C.; CARDOSO, M. Prevalence, genetic characterization and antimicrobial resistance of *Salmonella* isolated from fresh pork sausages in Porto Alegre, Brazil. **Food Control**, v.20, n.3, p. 191-195, 2009.

NERO, L. A.; LIBELOTI, V.; BARROS, M. A. F. Métodos rápidos e automatizados para enumeração de microrganismos indicadores em leite – utilização no Brasil. **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 21, n. 1, p. 115-126, 2000.

NOUICHI, S.; HAMDI, T. M. Superficial bacterial contamination of ovine and bovine carcasses at El-Harrach slaughterhouse (Algeria). **European Journal of Scientific Research**, v.38, n.3, p.474-485, 2009.

NUNES, F. F. V. **Limite mínimo de detecção de métodos de análise de *Salmonella* spp. para alimentos: uma contribuição metodológica**. 2006. 73f. Dissertação (Mestre em Nutrição) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife.

OLIVEIRA, K. M. P. **Adesão de *Salmonella* Enteritidis em superfícies de processamento de alimentos**. 2006. 66f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina.

OLIVEIRA, M. M. M.; BRUGNERA, D. F.; MENDONÇA, A. T.; PICCOLI, R. H. Condições higiênico-sanitárias de máquinas de moer carne, mãos de manipuladores e qualidade microbiológica da carne moída. **Ciências Agrotecnológica**, Lavras, v. 32, n. 6, p. 1893-1898, nov./dez., 2008.

OLIVO, N. **Mercado Mundial de Carnes**. Criciúma: Ed. do autor, 2006. 140p.

PARK, Y. H.; SEO, K. S.; AHN, J. S.; YOO, H. S.; KIM, S. P. Evaluation of the petrifilm plate method for the enumeration of aerobic microorganisms and coliforms in retailed meat samples. **Journal of Food Protection**, v. 64, n. 11, p. 1841-1843, 2001.

POPOFF, M. Y.; LE MINOR, L. E. The genus *Salmonella*. In: BRENNER, D. J.; KIERG, N. R.; STALEY, J. T. **Bergey's manual of systematic bacteriology**. 2 ed., v. 2. New York: Springer, 2005. p 764-799.

PORTAL DO AGRONEGÓCIO – PA. **Produção de carne bovina tem de dobrar até 2050**. Disponível em: <<http://www.portaldoagronegocio.com.br/conteudo.php?id=39080>>. Acesso em: 21 de janeiro de 2011.

PRATA, C. B. **Ocorrência de *Escherichia coli* O157:H7 em bovinos abatidos em estabelecimento habilitado à exportação na cidade de Barretos – SP, Brasil**. 2009. 89f. Dissertação (Mestre em Microbiologia Agropecuária) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

PRIEGO, R.; MEDINA, L. M.; JORDANO, R. Evaluation of Petrifilm series 2000 as a possible rapid method to count coliforms in foods. **Journal of Food Protection**, v. 63, n. 8, p. 1.137-1.140, 2000.

RIVERA-BETANCOURT, M., SHACKELFORD, S.D., ARTHUR, T.M., WESTMORELAND, K.E., BELLINGER, G., ROSSMAN, M., REAGAN, J.O., KOOHMARAIE, M. Prevalence of *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella* in two geographically distant commercial beef processing plants in the United States. **Journal of Food Protection**, v. 67, n. 2, p.295–302, 2004.

RHOADES, J. R.; DUFFY, G.; KOUTSOUMANIS, K. Prevalence and concentration of verocytotoxigenic *Escherichia coli*, *Salmonella enterica* and *Listeria monocytogenes* in the beef production chain: A review. **Food Microbiology**, v.26, p. 357–376, 2009.

ROÇA, R. O. **Microbiologia da Carne**. UNESP, Campus de Botucatu, 2004. Disponível em: <<http://www.fca.unesp.br/outros/tcarne/tecarne.htm#s5>>. Acesso em 22 de novembro de 2010.

ROÇA, R. O. e SERRANO, A. M. Operações de abate de bovinos. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 8, n. 34, p. 14-20, 1994.

ROSMINI, M. R.; SIGNORINI, M. L. SCHNEIDER R.; BONAZZA, J. C. Evaluation of two alternative techniques for counting mesophilic aerobic bacteria in raw milk . **Food Control**, v. 15, n. 1, p. 39-44, 2004.

SABA, R. Z. **Influência da pressão e temperatura da água de lavagem na população microbiana da superfície de carcaças bovinas**. 2006. 67f. Dissertação (Mestre em Medicina Veterinária) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

SANT'ANA, A. S.; FRANCO, B. D. G. M. Revisão: Avaliação quantitativa de risco microbiológico em alimentos: conceitos, sistemática e aplicações. **Brazilian Journal Food Technology**, v. 12, n. 4, p. 266-276, 2009.

SCIENTIFIC COMMITTEE FOR VETERINARY MEASURES RELATING TO PUBLIC HEALTH - SCVPH. EUROPEAN COMMISSION **Opinion on the cleaning and disinfection of knives in the meat and poultry industry. (adopted on 20-21, june. 2001)**. Disponível em: < http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scv/outcome_en.html>. Acesso em 22 de janeiro de 2011.

SERVIÇO DE INFORMAÇÃO DA CARNE – SIC. **Inspeção**. Disponível em: < <http://www.sic.org.br/inspecao.asp>>. Acesso em: 15 de janeiro de 2011.

SHELOBOLINA, E. S.; SULLIVAN, S. A.; O'NEILL, K. R.; NEVIN, K. P.; LOVLEY, D.R. Isolation, characterization and U (VI)-reducing potential of a facultatively anaerobic, acid-resistant bacterium from low-pH, nitrate and U (VI)-contaminated subsurface sediment and description of *Salmonella subterranea* sp. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 70, n 5, p 2950-2965, 2004.

SILBERNAGEL, K. M.; LINDBERG, K. G. Evaluation of the 3M Petrifilm *Enterobacteriaceae* Count Plate Method for the Enumeration of *Enterobacteriaceae* in Foods. **Journal of Food Protection**, v. 65, n. 9, p. 1452-1456, 2002.

SILVA, J. A. **Tópicos da tecnologia dos alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, 2000. 227p.

SILVA, M. P.; CAVALLI, D. R.; OLIVEIRA, T. C. R. M. Avaliação do padrão coliformes a 45°C e comparação da eficiência das técnicas dos tubos múltiplos e Petrifilm EC na detecção de coliformes totais e *Escherichia coli* em alimentos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.26, p. 352-359, 2006.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R. F. S.; GOMES, R. A. R. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 4 ed. São Paulo: Varela, 2010. 296p.

SINGARINI, C. O. **Avaliação bacteriológica da carne bovina desossada em estabelecimentos comerciais do município de Cuiabá – MT/Brasil**. 2004. 95f. Dissertação (Mestre em Medicina Veterinária) - Universidade Federal Fluminense, Niterói.

STATSOFT, **Statistica 5.1 for Windows, Computer Program Manual**. Tulsa: StatSoft, Inc., 1998

TIMONEY, J.; GILLESPIE, J. H.; SCOTT, F. W.; BARLOUGH, J. E. **Hagan and Bruner's Infectious diseases of domestic animals**, 8th ed. USA: Cornell University, 1988, 953p.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE – USDA. **Animal Production**. Disponível em: <<http://www.usda.gov/wps/portal/usda/!ut/p/c5/>>. Acesso em 17 de janeiro de 2011.

VAZ, C. S. L. **Determinação da diversidade fenotípica e genotípica de *Salmonella enterica* subsp *enterica* sorovar Enteretidis no Rio Grande do Sul**. 2007. 137f. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) - Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

WALLACH, J. D. e BOEVER, W. J. **Diseases of Exotic Animal: Medical and Surgical Management**. Philadelphia: WB Saunders Company, 1983, 1159p.

WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO. **Drug-resistant *Salmonella***. WHO, n. 139, 2005. Disponível em: <<http://who.org>>. Acesso em: 10 janeiro 2011.

WORD HEALTH ORGANIZATION - WHO. ***Salmonella* health topic**. Disponível em: <<http://www.who.int/topics/salmonella/en/>>. Acesso em: 26 de janeiro de 2011.

WOOLDRIDGE, M. Qualitative risk assessment. In: SCHAFFNER, D. W. **Microbial Risk Analysis of Foods**. Washington: DC, 2008. p. 1-28.

ZEN, S. – EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA **A cadeia de carne bovina no Brasil**. Disponível em: <<http://www.embrapa.br/imprensa/artigos/2000/artigo.2004-12-07.2530561427>>. Acesso em: 30 de janeiro de 2011.

ZUCON, L. T. S. **Caracterização fenotípica e genotípica de amostras de *Salmonella* spp. isoladas de suínos.** 2008. 74f. Tese (Doutorado Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo.

ZWEIFEL, C.; STEPHAN, R. Microbiological monitoring of sheep carcass contamination in three swiss abattoirs. **Journal of Food Protection**, Ames, v. 66, n. 6, p. 946-952, 2003.

APÊNDICES

APÊNDICE 1

Amostragem das superfícies das carcaças



a) Amostragem após a sangria



b) Amostragem após a esfolagem



c) Amostragem após a evisceração



d) Amostragem após a lavagem

APÊNDICE 2

Amostragem no ambiente de abate: superfícies da serra de abertura do esterno e da serra de divisão da carcaça; no ambiente da sala de cortes: (antes do início e durante o processo de cortes): as superfícies das mesas, das facas de cortes, das mãos dos manipuladores e também cortes de alcatra e filé mignon



a) Amostragem das serras de abertura do esterno e de divisão da meia-carcaça



b) Amostragem das superfícies das mesas antes e durante a execução dos cortes



c) Amostragem das superfícies das facas antes e durante a execução dos cortes



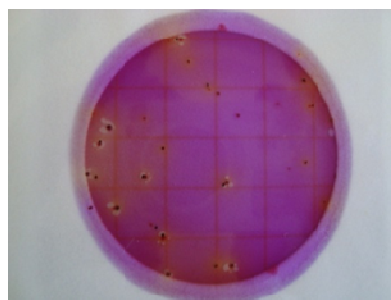
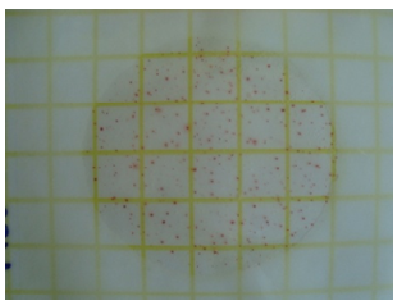
d) Amostragem das mãos dos manipuladores antes e durante a execução dos cortes



e) Amostragem dos corte de filé e alcatra

APÊNDICE 3

Análise microbiológica de micro-organismos indicadores mesófilos aeróbios e
Enterobacteriaceae



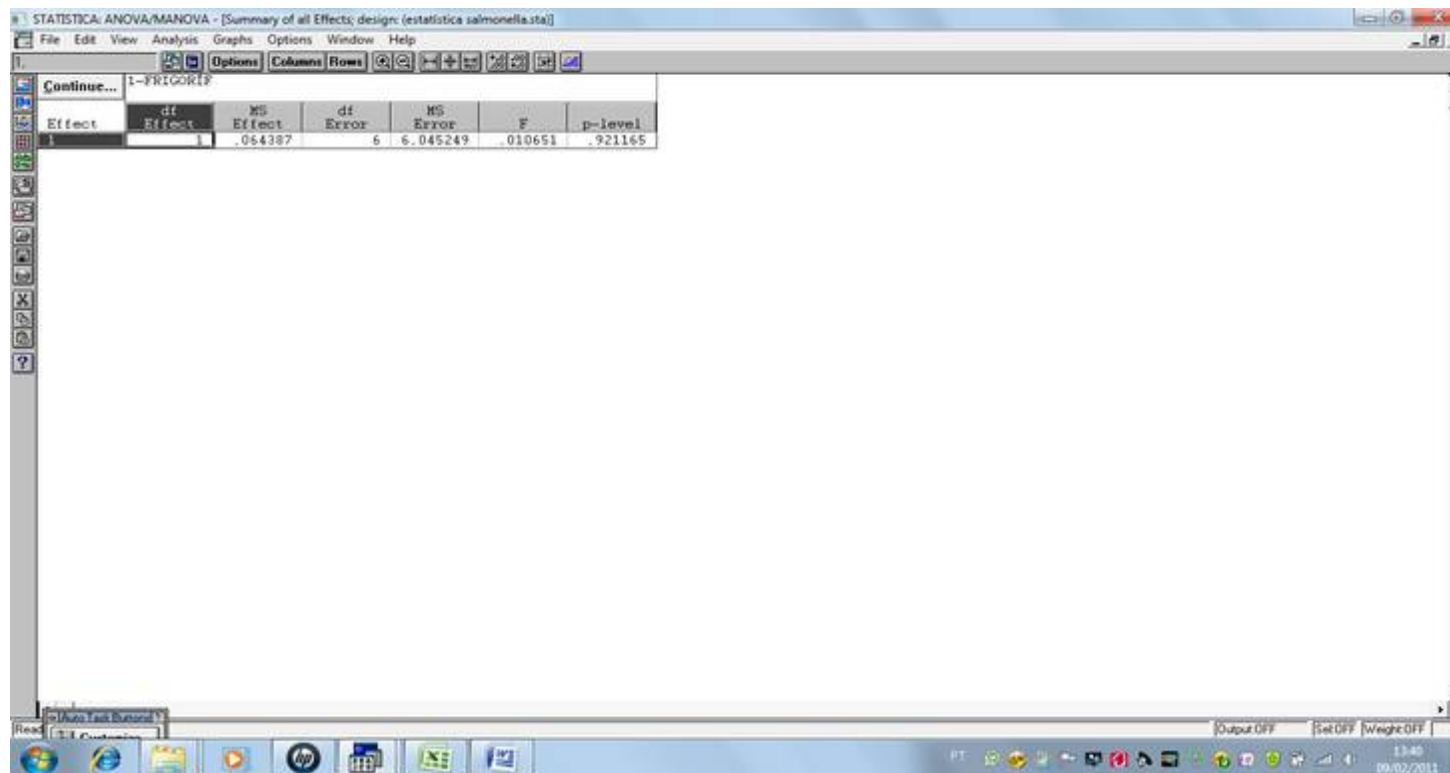
APÊNDICE 4

Análise microbiológica de *Salmonella* spp.



APÊNDICE 5

Análise de variância dos Frigoríficos A e B em relação a presença de *Salmonella* (%) nas carcaças

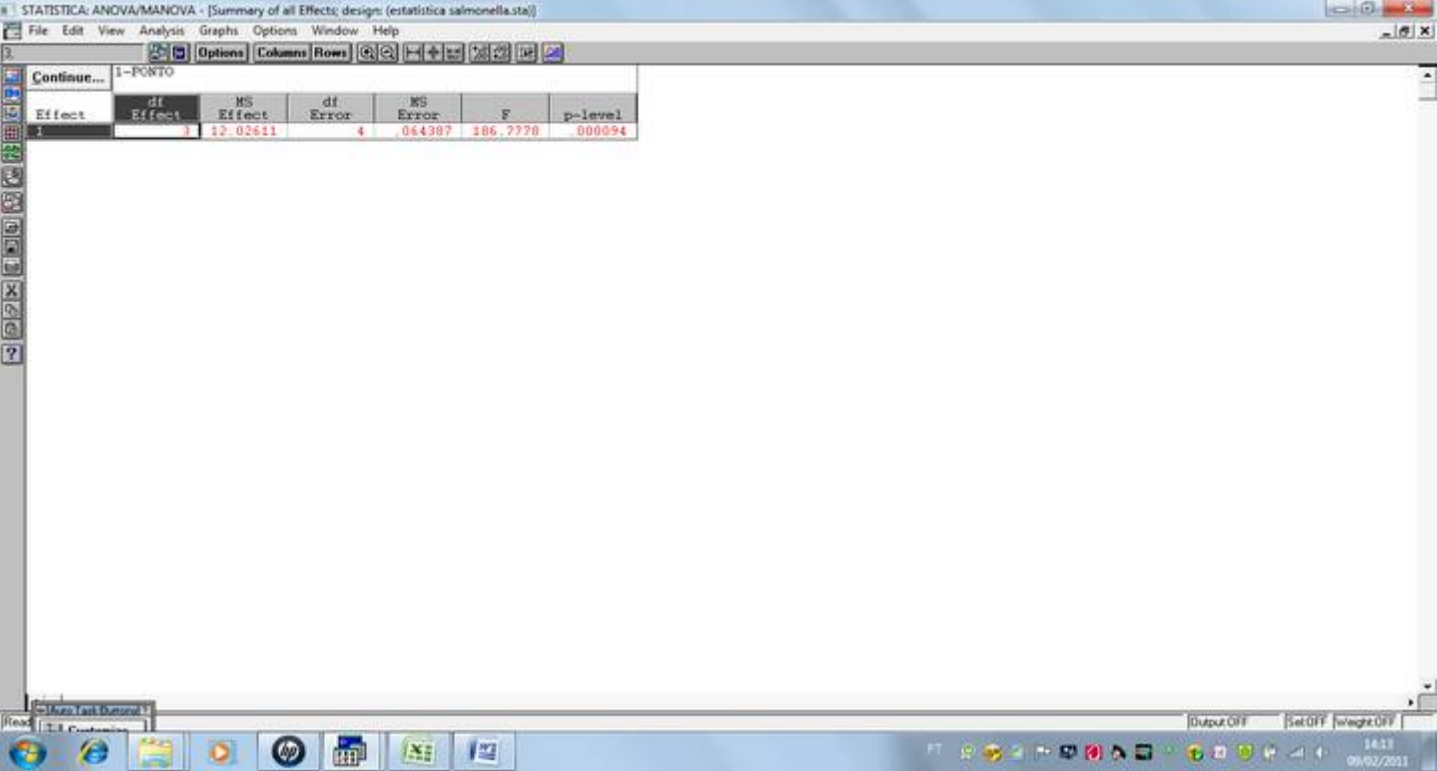


The screenshot displays the STATISTICA software interface with the ANOVA/MANOVA window open. The title bar reads 'STATISTICA: ANOVA/MANOVA - [Summary of all Effects; design: (estatistica salmonella.sta)]'. The menu bar includes File, Edit, View, Analysis, Graphs, Options, Window, and Help. Below the menu bar are tabs for Options, Columns, and Rows. The main window shows a 'Continue...' button and a table of ANOVA results for the design '1-FRIGORIF'. The table has columns for Effect, df, MS, Error, MS, Error, F, and p-level. The first row of data shows an F-value of 0.010651 and a p-level of 0.921165. The bottom status bar indicates 'Output OFF', 'Set OFF', 'Weight OFF', and the date '09/02/2011'.

Effect	df	MS	Error	MS	Error	F	p-level
1	1	0.064387	6	6.045249		0.010651	0.921165

APÊNDICE 6

Análise de variância dos Pontos de Coleta dos Frigoríficos A e B em relação a presença de *Salmonella* (%) nas carcaças



The screenshot shows the STATISTICA software interface with the 'ANOVA/MANOVA' window open. The title bar indicates the design is '(estatistica salmonella.sta)'. The 'Continue...' button is visible. The main display area shows a table of ANOVA results for '1-PONTO'.

Effect	df	MS	df	MS	F	p-level
	Effect	Effect	Error	Error		
1	1	12.02611	4	04.4387	186.7770	0.00094

The Windows taskbar at the bottom shows the date as 09/02/2011 and the time as 14:13.

APÊNDICE 7

Teste de Tuckey para verificação de diferenças significativas entre os Pontos de Coleta dos Frigoríficos A e B em relação a presença de *Salmonella* (%) nas carcaças

STATISTICA: ANOVA/MANOVA - [Tukey HSD test: variable %SALMONE (estatistica salmonella.sta)]

File Edit View Analysis Graphs Options Window Help

Columns Rows

Continue...

Probabilities for Post Hoc Tests

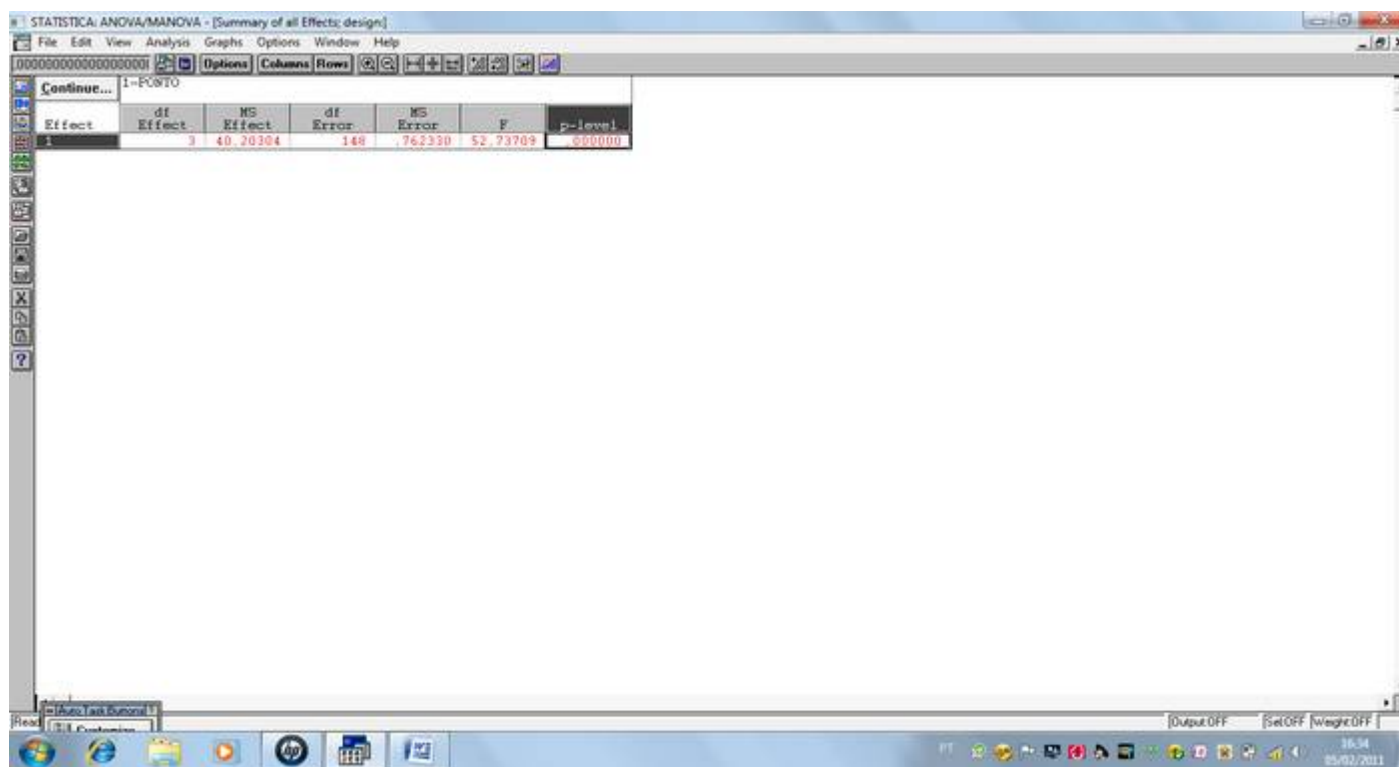
MAIN EFFECT		PONTO			
		(1)	(2)	(3)	(4)
PONTO		4.904306	0.000000	0.000000	0.000000
P1	(1)		0.00381	0.00381	0.00381
P2	(2)	0.00381		1.000000	1.000000
P3	(3)	0.00381	1.000000		1.000000
P4	(4)	0.00381	1.000000	1.000000	

Output OFF | Set OFF | Weight OFF

14:18 09/03/2011

APÊNDICE 8

Análise de variância dos Pontos de Coleta das carcaças do Frigorífico A em relação a enumeração de micro-organismos mesófilos aeróbios



STATISTICAL ANOVA/MANOVA - [Summary of all Effects; design]

File Edit View Analysis Graphs Options Window Help

Continue... 1-POSTO

Effect	df Effect	MS Effect	df Error	MS Error	F	p-value
1	3	40.20304	140	.762330	52.73709	0.000001

Output OFF Set OFF Weight OFF

16:34 05/02/2011

APÊNDICE 9

Teste de Tuckey para verificação de diferenças significativas entre os Pontos de Coleta do Frigorífico A em relação a enumeração de micro-organismos mesófilos aeróbios

STATISTICA: ANOVA/MANOVA - [Tukey HSD test: variable LOG_URC]

File Edit View Analysis Graphs Options Window Help

Columns Rows

Continue...

Probabilities for Post Hoc Tests

MAIN EFFECT: PONTO

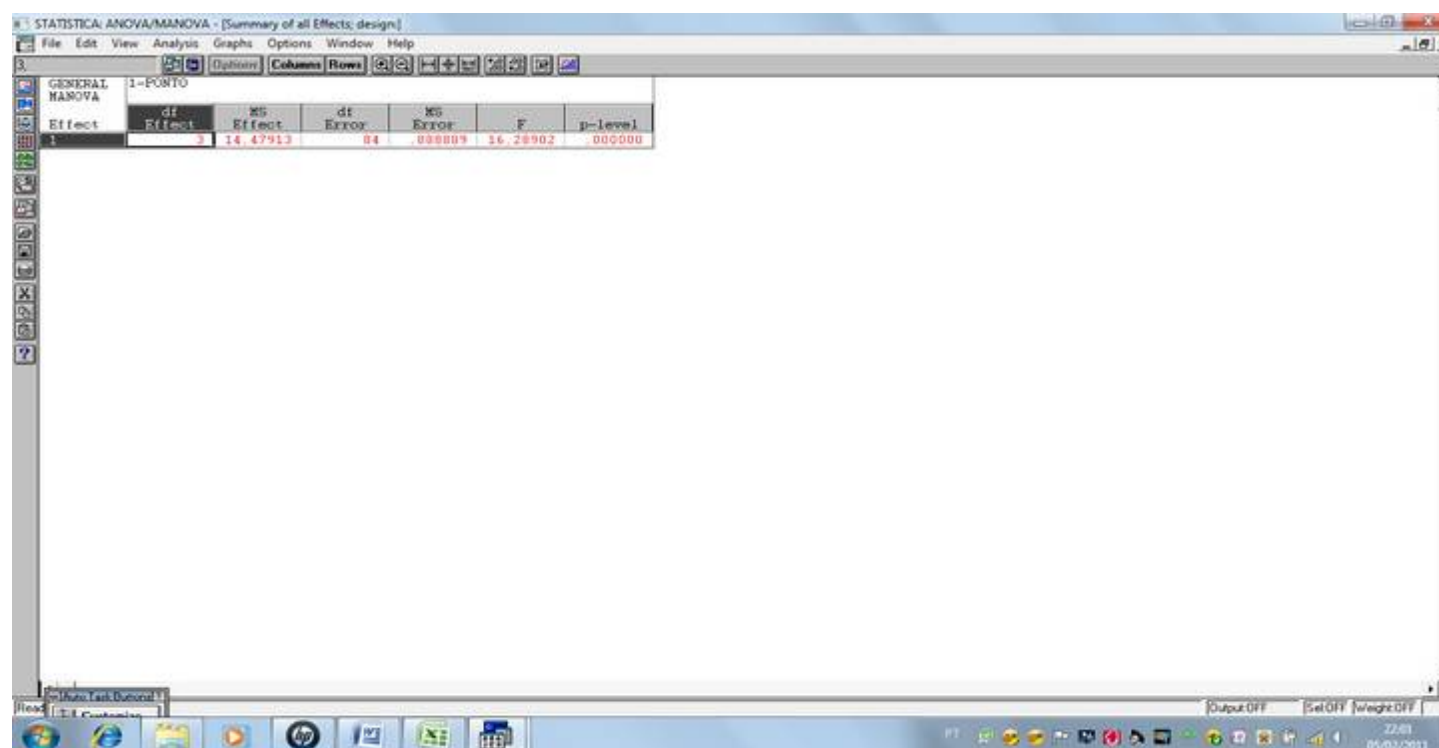
	(1)	(2)	(3)	(4)
1o (1)	4.455020	2.352384	2.547967	2.348574
2o (2)	.000000	.000000	.000008	.000008
3o (3)	.000000	.762914	.762914	.999998
4o (4)	.000000	.999998	.752024	.752024

Output OFF Set OFF Weight OFF

16:40 05/02/2011

APÊNDICE 10

Análise de variância dos Pontos de Coleta das carcaças do Frigorífico B em relação a enumeração de micro-organismos mesófilos aeróbios



STATISTICAL ANOVA/MANOVA - [Summary of all Effects design]

File Edit View Analysis Graphs Options Window Help

GENERAL MANOVA 1-PONTO

Effect	df	MS	Error	MS	Error	F	p-level
1	3	14.47913	04	0.00000	36.28902	0.00000	

Output OFF Set OFF Weight OFF

05/02/2011

APÊNDICE 11

Teste de Tuckey para verificação de diferenças significativas entre os Pontos de Coleta do Frigorífico B em relação a enumeração de micro-organismos mesófilos aeróbios

STATISTICA: ANOVA/MANOVA - [Tukey HSD test: variable LOG_UFC]

File Edit View Analysis Graphs Options Window Help

GENERAL MANOVA

Probabilities for Post Hoc Tests

HAIR EFFECT: PONTO

	(1)	(2)	(3)	(4)
PONTO	4.147709	2.793122	2.576306	2.327105
1o (1)		.000187	.000147	.000145
2o (2)	.000187		.871005	.362508
3o (3)	.000147	.871005		.816988
4o (4)	.000145	.362508	.816988	

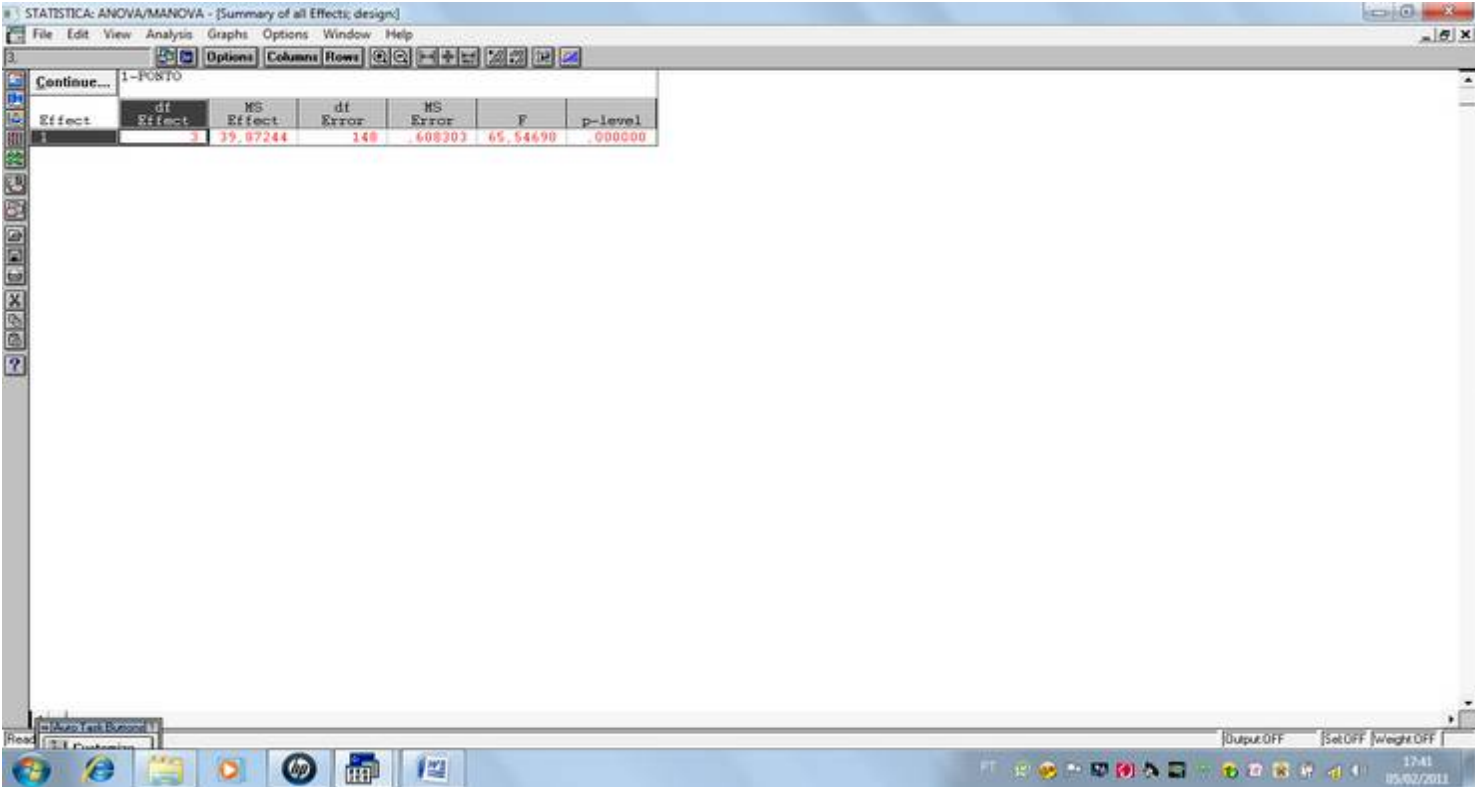
Read Data Task Manager

Output Off Set Off Weight Off

22:04 05/01/2011

APÊNDICE 12

Análise de variância dos Pontos de Coleta das carcaças do Frigorífico A em relação a enumeração de *Enterobacteriaceae*



STATISTICA: ANOVA/MANOVA - [Summary of all Effects; design]

Continue... 1-10870

Effect	df Effect	MS Effect	df Error	MS Error	F	p-level
1	3	39.87244	148	.608203	65.54498	.000000

Read 1-1 Customized

Output OFF Set OFF Weight OFF

17:41 05/02/2011

APÊNDICE 13

Teste de Tuckey para verificação de diferenças significativas entre os Pontos de Coleta do Frigorífico A em relação a enumeração de *Enterobacteriaceae*

STATISTICA: ANOVA/MANOVA - [Tukey HSD test: variable LOG_URC]

File Edit View Analysis Graphs Options Window Help

Columns Rows

Continue...

Probabilities for Post Hoc Tests

MAIN EFFECT: PONTO

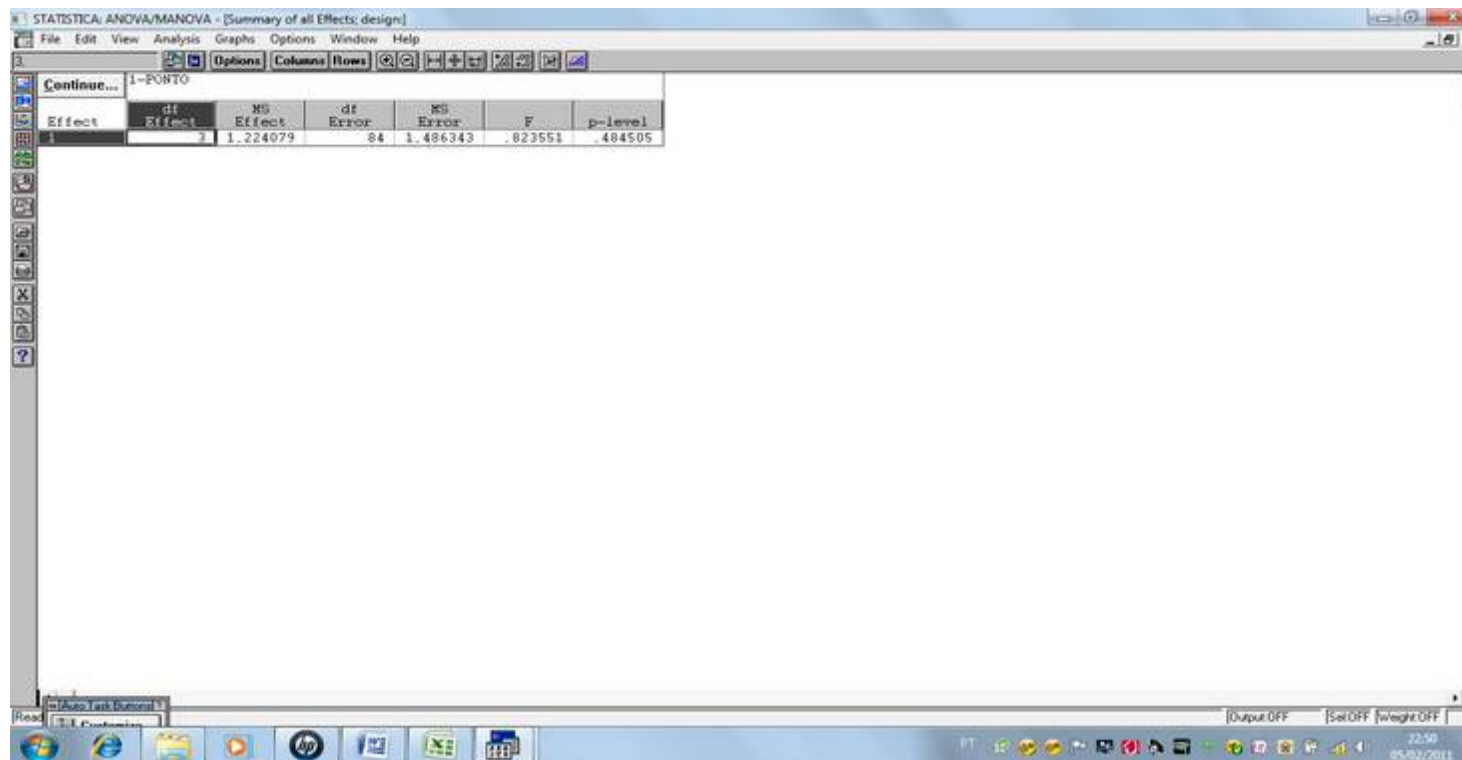
	(1)	(2)	(3)	(4)
PONTO				
1o (1)	0,028089	,8052122	1,260681	,9765416
2o (2)	,000000		,053209	,773565
3o (3)	,000000	,053209		,385455
4o (4)	,000000	,773565	,385455	

Output OFF Set OFF Weight OFF

17:44 05/02/2011

APÊNDICE 14

Análise de variância dos Pontos de Coleta das carcaças do Frigorífico B em relação a enumeração de *Enterobacteriaceae*



STATISTICA: ANOVA/MANOVA - [Summary of all Effects: design]

File Edit View Analysis Graphs Options Window Help

Options Columns Rows

Continue... 1-PONTO

Effect	df Effect	MS Effect	df Error	MS Error	F	p-level
1	1	1.224079	84	1.486343	.823551	.484505

Output OFF Set OFF Weight OFF

05/02/2011

APÊNDICE 15

Análise de variância dos Frigoríficos A e B em relação a enumeração de micro-organismos mesófilos aeróbios

STATISTICAL ANOVA/MANOVA - [Summary of all Effects; design]

File Edit View Analysis Graphs Options Window Help

Options Columns Rows

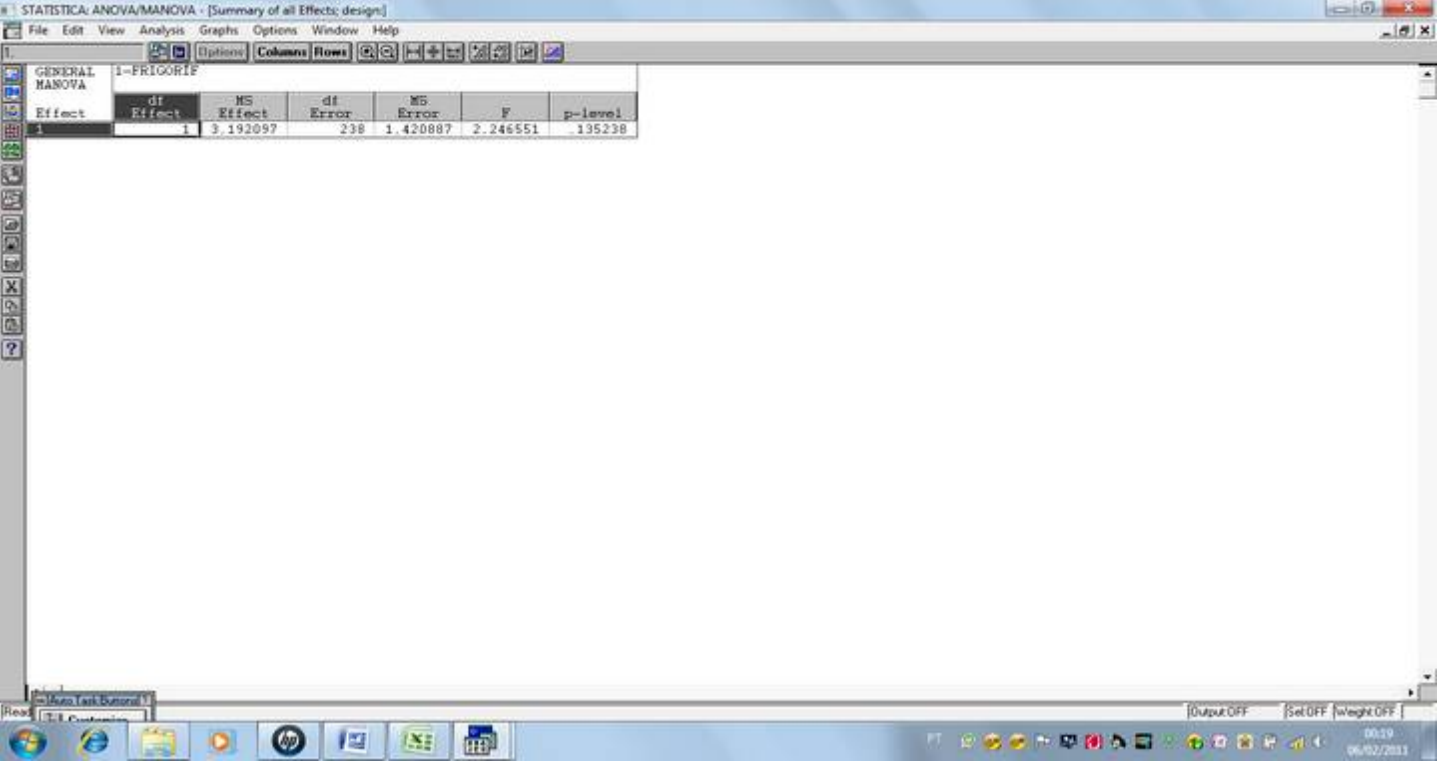
GENERAL MANOVA 1-FRIGORIF

Effect	df	MS	Error	MS	Error	F	p-level
1	.054687	238	1.477050	.037025	.847579		

Output OFF Set OFF Weight OFF 06/02/2011

APÊNDICE 16

Análise de variância dos Frigoríficos A e B em relação a enumeração de *Enterobacteriaceae*



STATISTICA: ANOVA/MANOVA - [Summary of all Effects; design]

File Edit View Analysis Graphs Options Window Help

Options Columns Rows

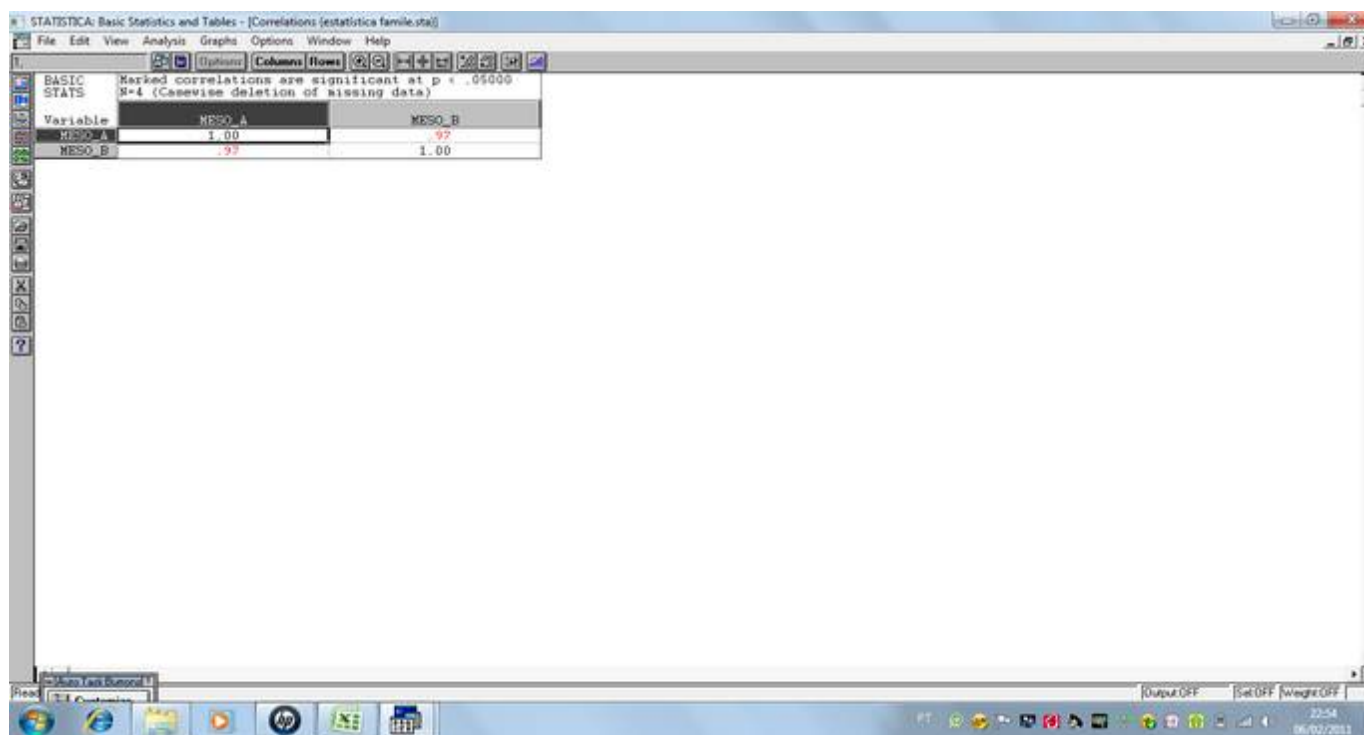
GENERAL MANOVA 1-FRIGORIF

Effect	df Effect	MS Effect	df Error	MS Error	F	p-level
1	1	3.192097	238	1.420887	2.246551	.135238

Read [Data] [Customize] [Output OFF] [Set OFF] [Weight OFF] 00:19 06/02/2011

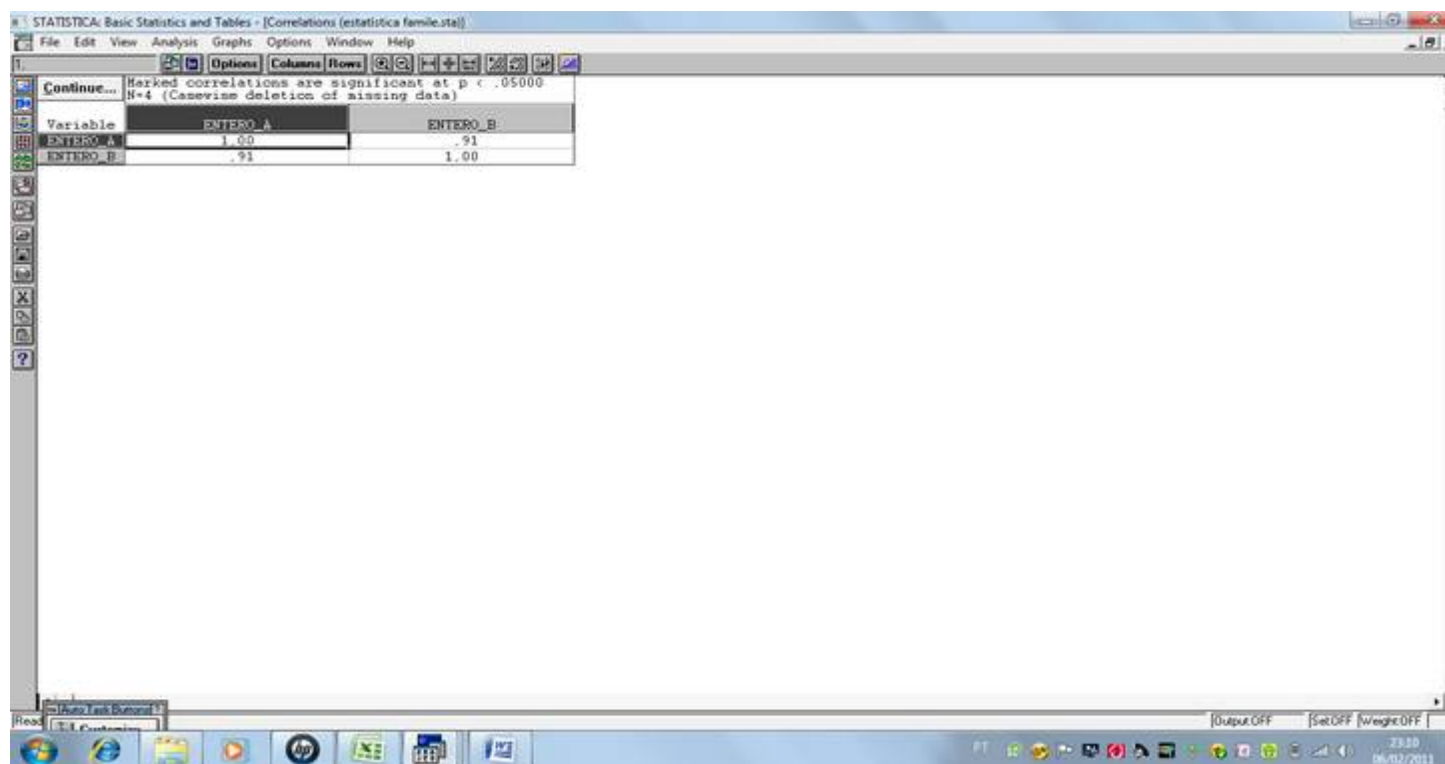
APÊNDICE 17

Análise de correlação entre as médias dos Pontos de Coleta dos Frigoríficos A e B em relação a enumeração de Mesófilos Aeróbios



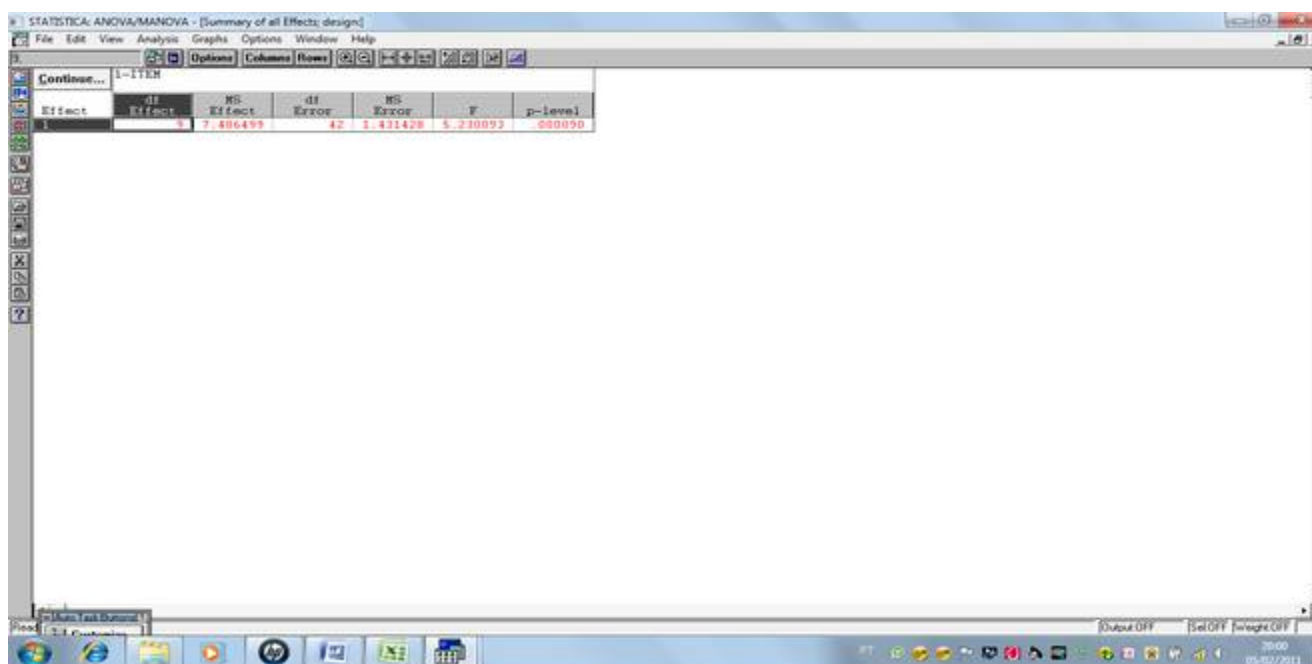
APÊNDICE 18

Análise de correlação entre as médias dos Pontos de Coleta dos Frigoríficos A e B em relação a enumeração de *Enterobacteriaceae*



APÊNDICE 19

Análise de variância em relação a enumeração de micro-organismos mesófilos aeróbios do Frigorífico A no ambiente de abate: superfícies da serra de abertura do esterno e da serra de divisão da carcaça; no ambiente da sala de cortes: (antes do início e durante o processo de cortes): as superfícies das mesas, das facas de cortes, das mãos dos manipuladores e também cortes de alcatra e filé mignon



STATISTICA: ANOVA/MANOVA - [Summary of all Effects: design]

File Edit View Analysis Graphs Options Window Help

Continue... 1-Item

Effect	df	SS	MS	F	p-level
Error	42	7.486499	0.178262	5.230092	0.00090

Output OFF | Set OFF | Weight OFF

20:00 05/02/2011

APÊNDICE 20

Teste de Tuckey para verificação de diferenças significativas entre a enumeração de micro-organismos mesófilos aeróbios do Frigorífico A no ambiente de abate: superfícies da serra de abertura do esterno e da serra de divisão da carcaça; no ambiente da sala de cortes: (antes do início e durante o processo de cortes): as superfícies das mesas, das facas de cortes, das mãos dos manipuladores e também cortes de alcatra e filé mignon

STATISTICA: ANOVA/MANOVA - [Tukey HSD test: variable LOG_UFC]

File Edit View Analysis Graphs Options Window Help

Columns Rows

Continue... Probabilities for Post Hoc Tests

MAIN EFFECT: ITEM

ITEM	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)	(10)
Serra Ab (1)	2,300449	2,067090	1,852230	2,576375	3,461195	2,084140	4,512040	5,599407	3,246702	4,055295
Serra Di (2)		.982335	.925058	.999990	.999184	.984282	.517270	.020017	.973382	.843540
Mesa Ant (3)			1,000000	.999582	.715933	1,000000	.065462	.001289	.401422	.191070
Mesa Dur (4)				.993231	.529099	.999999	.031937	.000604	.242844	.101240
Faca Ant (5)					.975102	.999868	.268538	.000713	.833231	.576433
Faca Dur (6)						.727445	.919423	.156617	.999993	.997597
Mão Ante (7)							.068470	.001358	.413413	.190594
Mão Dura (8)								.908646	.986264	.999738
Alcatra (9)									.269550	.517138
Filé (10)										.999986

Output Off | Set Off | Weight Off

2007 04/02/2008

APÊNDICE 21

Análise de variância em relação a enumeração de *Enterobacteriaceae* do Frigorífico A no ambiente de abate: superfícies da serra de abertura do esterno e da serra de divisão da carcaça; no ambiente da sala de cortes: (antes do início e durante o processo de cortes): as superfícies das mesas, das facas de cortes, das mãos dos manipuladores e também cortes de alcatra e filé mignon

STATISTICA: ANOVA/MANOVA - [Summary of all Effects design]

File Edit View Analysis Graphs Options Window Help

Options Columns Rows

GENERAL MANOVA

1-ITEM

Effect	df Effect	MS Effect	df Error	MS Error	F	p-level
1	3	4.635647	42	1.193123	3.885337	.001196

20:57 05/02/2011

APÊNDICE 22

Teste de Tuckey para verificação de diferenças significativas entre a enumeração de *Enterobacteriaceae* do Frigorífico A no ambiente de abate: superfícies da serra de abertura do esterno e da serra de divisão da carcaça; no ambiente da sala de cortes: (antes do início e durante o processo de cortes): as superfícies das mesas, das facas de cortes, das mãos dos manipuladores e também cortes de alcatra e filé mignon

STATISTICA: ANOVA/MANOVA - (Tukey HSD test variable LOG_UFC)

File Edit View Analysis Graphs Options Window Help

10133762

GENERAL MANOVA Probabilities for Post Hoc Tests

ITEM	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)	(10)
Serra Ab (1)	1.419616	1.218975	.8781822	.9383082	1.786189	.9782227	2.893364	7.056004	1.316264	1.841121
Serra Di (2)	1.000000	1.000000	.998512	.999423	.999938	.999713	.515873	.031707	1.000000	.999719
Mesa Ant (3)	.998512	.999967	.999994	.999994	.997864	.999998	.328444	.014603	1.000000	.994025
Mesa Dur (4)	.999423	.999994	1.000000	1.000000	.944647	1.000000	.132878	.003612	.999615	.901429
Faca Ant (5)	.999938	.997864	.944647	.963543	.963543	1.000000	.159539	.004649	.999885	.931085
Faca Dur (6)	.999713	.999998	1.000000	1.000000	.973167	.973167	.179392	.005484	.999955	.947066
Mão Ante (7)	.515873	.328444	.132878	.159539	.839423	.179392	.924860	.924860	.360565	.845046
Mão Dura (8)	.031707	.014603	.003612	.004649	.113746	.005484	.924860	.924860	.013738	.101811
Alcatra (9)	1.000000	1.000000	.999615	.999885	.999327	.999955	.360565	.360565	.013738	.997635
Filé (10)	.999719	.994025	.901429	.931085	1.000000	.947066	.845046	.845046	.101811	.997635

Output Off | Set Off | Weight Off

23.67 05/02/2011

ANEXOS

ANEXO 1

Informações dos animais amostrados por coleta

Coleta	Data	Frigorífico	Animal*	Lote**	Sexo	Tipo de criação***	Procedência (município)
1ª	05/04/2010	Frigorífico A	1	2	M	extensiva	Rio Grande
			2	2	M	extensiva	Rio Grande
			3	3	F	extensiva	Jaguarão
			4	3	F	extensiva	Jaguarão
			5	3	F	extensiva	Jaguarão
2ª	27/04/2010	Frigorífico A	6	1	M	extensiva	D. Pedrito
			7	1	M	extensiva	D. Pedrito
			8	1	M	extensiva	D. Pedrito
			9	1	M	extensiva	D. Pedrito
			10	1	M	extensiva	D. Pedrito
			11	1	M	extensiva	D. Pedrito
			12	1	M	extensiva	D. Pedrito
			13	1	M	extensiva	D. Pedrito
3ª	18/05/2010	Frigorífico A	14	1	F	extensiva	Rio Grande
			15	1	F	extensiva	Rio Grande
			16	1	F	extensiva	Rio Grande
			17	1	F	extensiva	Rio Grande
			18	1	F	extensiva	Rio Grande
			19	1	F	extensiva	Rio Grande
4ª	09/06/2010	Frigorífico B	20	1	M	extensiva	Rio Grande
			21	1	M	extensiva	Rio Grande
			22	1	M	extensiva	Rio Grande
			23	1	M	extensiva	Rio Grande
			24	1	M	extensiva	Rio Grande
5ª	29/06/2010	Frigorífico A	25	1	M	extensiva	Pedro Osório
			26	1	M	extensiva	Pedro Osório
			27	1	M	extensiva	Pedro Osório
			28	1	M	extensiva	Pedro Osório
			29	1	M	extensiva	Pedro Osório
			30	1	M	extensiva	Pedro Osório
			31	1	M	extensiva	Pedro Osório

Informações dos animais amostrados por coleta (continuação)

Coleta	Data	Frigorífico	Animal*	Lote**	Sexo	Tipo de criação***	Procedência (município)
6ª	04/08/2010	Frigorífico B	32	2	M	extensiva	Santa Vitória
			33	2	M	extensiva	Santa Vitória
			34	2	M	extensiva	Santa Vitória
			35	2	M	extensiva	Santa Vitória
			36	2	M	extensiva	Santa Vitória
			37	2	M	extensiva	Santa Vitória
			38	3	F	extensiva	São Gabriel
			39	1	M	extensiva	Arroio Grande
			40	1	M	extensiva	Arroio Grande
			41	1	M	extensiva	Arroio Grande
7ª	12/10/2010	Frigorífico A	42	1	M	extensiva	Arroio Grande
			43	2	M	extensiva	Santa Maria
			44	2	M	extensiva	Santa Maria
			45	2	M	extensiva	Santa Maria
8ª	24/11/2010	Frigorífico B	46	3	M	extensiva	Santa Vitória
			47	3	M	extensiva	Santa Vitória
			48	3	M	extensiva	Santa Vitória
			49	3	M	extensiva	Santa Vitória
			50	3	M	extensiva	Santa Vitória
			51	3	M	extensiva	Santa Vitória
			52	3	M	extensiva	Santa Vitória
9ª	11/01/2011	Frigorífico A	53	7	F	extensiva	Santa Vitória
			54	7	F	extensiva	Santa Vitória
			55	7	F	extensiva	Santa Vitória
			56	7	F	extensiva	Santa Vitória
			57	7	F	extensiva	Santa Vitória
			58	7	F	extensiva	Santa Vitória
			59	8	F	extensiva	Santa Vitória
			60	8	F	extensiva	Santa Vitória

* Identificação do animal para análise no laboratório (sequência: 001 – 60).

** Número do lote fornecido pelo frigorífico.

*** Animais criados por confinamento ou criação extensiva