

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR PALOTINA
CURSO SUPERIOR DE TECNOLOGIA EM BIOTECNOLOGIA

PARÂMETROS DO CONTROLE DE QUALIDADE
EM ABATEDOURO DE AVES
Área: Gestão da qualidade em alimentos

Aluna: Suélen Pujarra

Supervisor: Monica Casali

Orientadora: Prof^a. Dra. Roberta Paulert

TCC apresentado, como parte das exigências para a conclusão do CURSO DE GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA EM BIOTECNOLOGIA

PALOTINA - PR

Agosto de 2013

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR PALOTINA
CURSO SUPERIOR DE TECNOLOGIA EM BIOTECNOLOGIA

PARÂMETROS DO CONTROLE DE QUALIDADE
EM ABATEDOURO DE AVES

Aluna: Suélen Pujarra

Supervisor: Monica Casali

Orientadora: Prof^a. Dra. Roberta Paulert

TCC apresentado, como parte das exigências para a conclusão do CURSO DE GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA EM BIOTECNOLOGIA

PALOTINA - PR

Agosto de 2013

"Nada no mundo consegue tomar o lugar da persistência. O talento não consegue; nada é mais comum que homens fracassados com talento. A genialidade não consegue; gênios não recompensados é quase um provérbio. A educação não consegue; o mundo é cheio de errantes educados. A persistência e determinação sozinhas são onipotentes."

(Calvin Coolidge)

Dedico a Deus que tornou essa jornada abençoada e a minha mãe Maria de Lourdes Pujarra, que sempre ofereceu carinho e apoio em minha vida.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus que me acompanhou, me abençoando e me ajudando a alcançar meus objetivos.

Agradeço a minha mãe Maria de Lourdes Pujarra pelo incentivo e apoio, permitindo a realização de um sonho, que era cursar uma faculdade.

Obrigada também a minha irmã Samaila, melhor amiga e companheira, pela ajuda quando precisei, por sanar minhas dúvidas e também por estar sempre junto de mim.

Também agradeço a Edilene Campos, amiga leal e verdadeira, que esteve comigo desde o primeiro ano da faculdade. Obrigada pelas conversas, risadas, companheirismo, e por ter me feito enxergar o mundo com outros olhos.

Obrigada também aos ensinamentos que todos os professores passaram, por meio de aulas e conversas. Em especial, a professora Roberta Paulert, que desde o primeiro ano do curso consentiu que eu participasse de seus projetos.

A todos da empresa C. Vale, que me receberam muito bem, compartilhando seus ensinamentos, permitindo a realização do meu estágio e da entrada no mercado de trabalho.

Agradeço pela compreensão dos momentos de impaciência, estresse e desânimo.

Desculpas aos momentos de ausência, que foram necessários para cumprir essa jornada.

Enfim, o meu muito obrigada a todos aqueles que fizeram parte desta caminhada.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	01
2. OBJETIVO GERAL	02
2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	02
3. ATIVIDADES DESENVOLVIDAS	02
3.1 DESCRIÇÃO DO LOCAL DE ESTÁGIO	02
3.2 ITENS CONSIDERADOS PELA GESTÃO DA QUALIDADE NA CADEIA PRODUTIVA DE AVES	03
3.2.1 Perigos potenciais para a segurança de alimentos	03
3.2.2 Programa de controle durante a produção de alimentos	04
3.2.2.1 Análise de Perigos e Pontos Críticos (APPCC)	05
3.2.2.2 Boas Práticas de Fabricação (BPF)	07
3.2.2.3 Procedimento Padrão de Higiene Operacional (PPHO).....	08
3.3 Qualidade Microbiológica	09
3.4 DESCRIÇÃO DAS ATIVIDADES REALIZADAS DURANTE O ESTÁGIO	10
3.4.1 Tecnologia do abate	10
3.4.2 Coleta de materiais para análise microbiológica	18
4. DISCUSSÃO	20
5. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	23
5.1 IMPORTÂNCIA DO CONTROLE DE QUALIDADE E SEGURANÇA ALIMENTAR	23
5.2 PRINCIPAIS PATÓGENOS DA INDÚSTRIA DE CARNE DE AVES.....	23
5.2.1 <i>Escherichia coli</i>	24
5.2.2 <i>Salmonella</i> spp.....	24
5.2.3 <i>Listeria monocytogenes</i>	25
5.2.4 <i>Campylobacter</i> spp	25
5.3 MÉTODOS PARA DETECÇÃO DE MICRO-ORGANISMOS.....	25
5.4 MÉTODOS CONVENCIONAIS E ALTERNATIVOS	26
5.5 MÉTODOS MOLECULARES – REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE	30
5.5.1 Vantagens.....	30
5.5.2 Desvantagens	32
6. ANÁLISE CRÍTICA SOBRE O ESTÁGIO	33
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS	34
8. REFERÊNCIAS	35

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1: FLUXOGRAMA DO ABATE DE AVES 10

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1. RELAÇÃO DE ALGUNS PRODUTOS COLETADOS PARA ANÁLISES LABORATORIAIS NA EMPRESA	20
--	----

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é o terceiro maior produtor de aves do mundo, atrás somente dos Estados Unidos e da China, que ocupam o primeiro e o segundo lugar, respectivamente. É considerado o maior exportador de carne de aves e apesar da produção de carne de frango estar distribuída em todo o território nacional, são os estados do Paraná e Rio Grande do Sul os principais fornecedores (MAPA, 2013).

Com o crescimento do mercado avícola e aumento da competitividade, o consumidor tornou-se mais exigente quanto à qualidade e a segurança do produto. Isso também se deve a surtos como a gripe aviária. Sendo o frigorífico o agente coordenador dessa cadeia, cabe a ele a responsabilidade quanto à gestão da qualidade voltada às necessidades do mercado consumidor. Assim, é imprescindível maior atenção à gestão da qualidade em frigoríficos avícolas associados à segurança alimentar, aos padrões microbiológicos, à sanidade e ausência de substâncias nocivas, incluindo ainda o manejo dos animais e a preocupação com o meio ambiente (BUENO et al., 2007).

Dentro desse cenário, destaca-se nas indústrias avícolas a Gestão da Qualidade, fundamental para o bom funcionamento dos processos, garantindo qualidade ao produto final. Os grandes riscos de contaminação existentes e o perigo que podem causar aos humanos se alimentos alterados forem consumidos, tornam essa gestão extremamente necessária. Ela atua para assegurar a qualidade do produto ao consumidor, garantindo que os alimentos disponíveis sejam inócuos. Como ferramentas para essa gestão, são utilizados diversos programas como o Sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (HACCP), Boas Práticas de Fabricação (BPF) e Procedimento Padrão de Higiene Operacional (PPHO).

Um dos principais indicadores de qualidade se refere ao controle microbiológico. Mas devemos considerar que tão importante quanto controlar é verificar a eficiência, ou seja, os resultados desse controle. Para isso são realizados os testes microbiológicos, que representam muito bem as condições higiênico-sanitárias dos processos e do produto final.

Considerando a grande importância desta área de controle microbiológico, o presente trabalho também faz uma breve revisão quanto à utilização de técnicas convencionais e moleculares para diagnósticos microbiológicos. Entre esses métodos, um método alternativo de detecção é proposto, a reação em cadeia da polimerase (PCR), para que possíveis contaminações sejam detectadas em tempo real, antes de chegar ao consumidor.

2 OBJETIVO GERAL

O objetivo principal do estágio supervisionado foi acompanhar as atividades referentes à gestão de qualidade de uma indústria de alimentos e fazer uma revisão bibliográfica sobre alguns métodos convencionais e alternativos, que podem ser utilizados no controle de qualidade de alimentos para a detecção de micro-organismos.

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Conhecer as funções do controle de qualidade da Cooperativa Agroindustrial C.Vale;
- Acompanhar as atividades de rotina do setor de gestão de qualidade do processo de abate de aves;
- Compreender as variáveis que influenciam na qualidade do processo e do produto final;
- Compreender os métodos de monitoramento, verificação e medidas corretivas das variáveis que influenciam a qualidade do processo em abatedouro de aves;
- Realizar uma breve revisão bibliográfica sobre alguns métodos convencionais e modernos para detecção de micro-organismos, evidenciando o princípio da técnica e algumas de suas características.

3 ATIVIDADES DESENVOLVIDAS

3.1 DESCRIÇÃO DO LOCAL DE ESTÁGIO

A cooperativa C.Vale foi fundada em 1963 com o nome de Cooperativa Agrícola Mista de Palotina Ltda. (Campal) para o armazenamento dos grãos que eram produzidos na cidade. Com atuação expandida por toda a região oeste, sua razão social foi alterada para Cooperativa Agrícola Mista Vale do Piquiri Ltda (Coopervale) em 1974. Com o objetivo de agregar valor a seus produtos, na década de 90 iniciou-se um plano de modernização da empresa e, em outubro de 1997, o Complexo Avícola foi inaugurado. Em 2003, a Coopervale teve sua razão social alterada para C.Vale – Cooperativa Agroindustrial e em 2005 ocorreu a duplicação do abatedouro de aves (C. VALE, 2013).

Atualmente o matadouro de aves da C.Vale abate cerca de 340.000 mil aves/dia, funcionando em dois turnos (A e B). Possui espaço físico para abater dois lotes de aves simultaneamente. Esses espaços são chamados de Linha 1 e Linha 2, sendo a linha 1 mais

antiga, onde a maioria dos cortes é manual. Já a linha 2, construída a menos tempo, é totalmente mecanizada. Portanto, o abate ocorre em dois turnos e a higienização operacional em um terceiro turno. Cabe ressaltar que a C.Vale é uma das maiores empresas do Brasil do segmento avícola, atendendo o mercado interno e externo. O complexo avícola também possui uma estação de tratamento de água (ETA), onde é tratada a água residual resultante do processo de abate. O Laboratório Avícola, responsável pela maior parte das análises de controle microbiológico do abatedouro também pertence à empresa.

O presente trabalho refere-se ao estágio curricular obrigatório como requisito parcial para a conclusão do Curso Superior de Tecnologia em Biotecnologia. O estágio foi realizado no abatedouro de aves da Cooperativa Agroindustrial C. Vale, localizado no município de Palotina, região oeste do Paraná, do dia 02 de maio até 09 de julho de 2013, totalizando 397 horas. As atividades desenvolvidas durante o estágio fazem parte do processo de produção e do controle de qualidade de todo o processo de abate de aves. Todas as atividades foram supervisionadas pela equipe da Gestão de Qualidade.

A escolha pelo estágio na área de controle de qualidade surgiu pelo interesse da acadêmica pela área de alimentos, tanto ao que se refere à parte microbiológica quanto à possibilidade de adquirir conhecimento em toda a questão organizacional de uma indústria alimentícia. Além disso, a empresa escolhida é de grande porte, apresentando alta capacidade de produção, gerando oportunidade de emprego e desenvolvimento da cidade em que está situada.

3.2 ITENS CONSIDERADOS PELA GESTÃO DA QUALIDADE NA CADEIA PRODUTIVA DO FRANGO

3.2.1 Perigos potenciais para a segurança de alimentos

Segundo FORSYTHE (2002), perigo é qualquer agente biológico, químico ou físico que possa colocar em risco a saúde do consumidor. O perigo biológico refere-se às bactérias, fungos ou vírus que estão presentes no alimento e que são responsáveis pela maioria dos casos de doenças transmitidas por alimentos. Estes podem ter origem na matéria-prima, nos manipuladores e no ambiente (ar, água e equipamentos) (FORSYTHE, 2002). Também indicam a qualidade da higienização das instalações, sendo que deficiências na higienização remontam à presença superior ao permitido destes micro-organismos. Já os perigos químicos incluem antibióticos e medicamentos em geral, hormônios, pesticidas, desinfetantes e

metabólitos tóxicos de micro-organismos. Os perigos físicos se referem à contaminação do alimento por corpos estranhos, como pedaços de metal, cacos de vidro ou fios de cabelo (FRANCO, 2008).

A eficiência dos processos de higienização pode ser prejudicada quando micro-organismos se aderem às superfícies dos equipamentos e crescem como uma comunidade, formando uma estrutura denominada biofilme. As bactérias ficam envoltas por uma camada orgânica, que dificulta a ação do detergente e posterior remoção dessa massa microbiana. Portanto, para remoção completa dos biofilmes deve-se utilizar força mecânica e tratamentos químicos (FORSYTHE, 2002). Essas bactérias na maioria das vezes são oriundas de processos como escaldagem, depenagem e evisceração, por isso é de fundamental importância a adoção de planos de autocontrole, que monitorem o processo, norteados pelos princípios do HACCP na indústria alimentícia.

Os programas de autocontrole utilizam como base os planos de HACCP, BPF e PPHO, que são monitorados e registrados em planilhas. A verificação dos mesmos é feita diariamente pelo controle de qualidade.

3.2.2 Programa de controle durante a produção de alimentos

A carga microbiológica do produto final pode ser determinada por diversos fatores, e em várias etapas do processo: o ambiente de criação dos animais, as condições de pré-abate, o momento da sangria, a remoção da pele e evisceração, lavagem e transporte das carcaças, refrigeração, corte e embalagem do produto final.

O controle de qualidade de carnes pode utilizar parâmetros de natureza higiênica ou sanitária, avaliando a qualidade da matéria-prima, as condições de assepsia ao longo do processo e o tempo de prateleira do mesmo, assim como investigar a presença de contaminantes que possam ser patogênicos (CONTRERAS et al., 2003).

O grande número de toxiinfecções alimentares das últimas décadas induziu produtores, agências de saúde e instituições de ensino a atualizarem seus procedimentos para avaliar os riscos quanto à inocuidade dos alimentos. O *Codex Alimentarius* é o órgão normativo quanto à higiene e segurança alimentar da Organização Mundial da Saúde (OMS), recomendando o uso do HACCP para garantir a inocuidade de alimentos e como forma complementar ao Sistema de Garantia de Qualidade (CONTRERAS et al., 2003).

Em território nacional, o controle dos estabelecimentos ligados à cadeia produtiva de alimentos é regulamentado pelas Portarias nº 1428 e 326, de 26 de dezembro de 1993 e 30 de

julho de 1997 do Ministério da Saúde e a Portaria 368, de 4 de agosto de 1997, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA).

3.2.2.1 Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (HACCP)

O consumo de alimentos contaminados por patógenos é considerado uma questão de saúde pública, desta forma indústrias e órgãos governamentais adotam o controle convencional de alimentos, que consiste em inspecionar a produção e o produto final por meio de análises laboratoriais. No entanto novos sistemas gerenciais estão sendo implementados pelas indústrias, principalmente devido às falhas no controle convencional e às exigências mercadológicas, que anseiam pela produção de bens mais seguros e de baixo custo (FRANCO, 2008). O HACCP é um desses novos sistemas.

O programa de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) também é conhecido como HACCP (do inglês *Hazard Analysis Critical Control Points*), sendo considerado um método sistêmico por estabelecer pontos de monitoramento, que pretendem garantir a segurança do alimento (FRANCO, 2008). Esse sistema foi criado na década de 50, sendo adotado pela Comissão Americana de Energia Atômica e também pelo *National Aeronautics and Space Administration* (NASA), para diminuir os riscos de contaminação microbológica nos alimentos destinados a vôos espaciais. É considerado um plano completo por reunir princípios de microbiologia alimentar, controle de qualidade e avaliação de riscos (FRANCO, 2001). É apontado como o melhor sistema para prevenir a contaminação dos alimentos ao longo do processo, justamente por definir quais são os perigos presentes e controlar de forma rígida os chamados Pontos Críticos de Controle (PCC) (LEITÃO, 1995; ICMSF, 1988).

O HACCP tem como objetivo prevenir a ocorrência de problemas, não avaliando somente o produto final. É considerado sistêmico, por identificar perigos específicos e medidas de controle, e interativo, envolvendo todos os funcionários da indústria de alimentos. Além disso, induz à confiabilidade na segurança alimentar ao auxiliar a inspeção dos órgãos reguladores, promovendo assim o comércio internacional (FORSYTHE, 2002).

Os princípios do HACCP são baseados nos seguintes critérios: preparar o fluxograma do processo, identificar os perigos e determinar suas severidades e riscos; identificar os PCC's; estabelecer limites críticos; determinar os requisitos de controle (monitoramento) do PCC; especificar as ações corretivas para o desvio dos limites críticos; estabelecer um sistema para registro de todos os controles; verificar o funcionamento do sistema (FRANCO, 2008).

Fazem parte do Sistema HACCP os PCC's. Um PCC é toda operação (processo, local, etapa) onde se procura eliminar, prevenir ou minimizar qualquer tipo de perigo, através da adoção de medidas preventivas ou de controle (FRANCO, 2008). Na cadeia produtiva de frango são analisados 4 PCC's.

No PCC 1 ocorre a análise do perigo químico. Os monitores da recepção das aves analisam as informações de cada um dos lotes de aves, antes do abate, para confirmar se o período de carência dos medicamentos administrados nas aves foi cumprido. Se houver alguma não conformidade, o lote não é abatido. Caso ocorra o abate, amostras são novamente coletadas para análises laboratoriais e os produtos deste lote ficam seqüestrados até que laudos laboratoriais atestem sua sanidade microbiológica.

Na evisceração está localizado o PCC 2, cujo objetivo é identificar a existência de perigo biológico. Por meio da inspeção visual, 100% das carcaças são analisadas para verificação de contaminação gastrointestinal-biliar. As carcaças contaminadas são retiradas da nórea (ganchos que servem como suporte para a ave) e colocadas em suportes separados para esse fim. As partes não contaminadas são cortadas, colocadas em nóreas específicas e passam novamente pelo PCC 2. Já as partes contaminadas são encaminhadas à graxaria. As carcaças com contaminação interna são cortadas, retirando-se as partes não contaminadas. Estas ao serem aprovadas pelo monitor do PCC 2 são encaminhadas até o chiller de condicionais no setor de resfriamento, como será descrito adiante. Se houver detecção de contaminação durante a verificação do operador de qualidade, é feita redução da velocidade do abate, até que em nova inspeção, as carcaças sejam aprovadas.

O segundo ponto crítico de origem biológica do processo é identificado no PCC 3 e é analisado no setor de congelamento. Segundo a legislação, a carne deve atingir 4°C em no máximo 4 horas, a fim de evitar a proliferação de micro-organismos. Este PCC consiste em monitorar o tempo em que o frango passa por cada uma das etapas do processo, desde a sangria até o túnel de congelamento. Este monitoramento é realizado por meio de termômetro e cronômetro, sendo registrado em planilhas específicas pelos monitores e verificadas pelo controle de qualidade.

Dentro do túnel, as temperaturas variam entre -23°C a -40°C. A temperatura do produto no túnel de congelamento deve ser no máximo -12°C ($\pm 2^\circ\text{C}$) se o prazo de validade for de 12 meses e de -18°C ($\pm 2^\circ\text{C}$) para 24 meses de validade. Se o tempo e a temperatura do produto estiverem acima dos limites, o lote produzido é seqüestrado e encaminhado para novo congelamento. Amostras são enviadas para testes laboratoriais, e estes ao comprovarem a inocuidade do produto, atestam que a comercialização seja realizada normalmente.

O único ponto crítico de controle físico está no setor de embalagem secundária e é conhecido como PCC 4. As caixas com os produtos passam por um detector de metais, a fim de identificar corpos estranhos metálicos no produto final. Se a presença de metal for detectada, a caixa é separada e o corpo estranho é retirado se estiver entre as embalagens primárias, sendo destinado ao reprocesso, onde recebe nova embalagem. A cada trinta minutos o funcionamento do detector de metais é monitorado pelo operador de máquinas. O controle de qualidade faz a verificação duas vezes por turno.

A implantação eficiente de um plano de HACCP na empresa também depende da adoção de programas de pré-requisitos, um conjunto de atividades e eventos que abrangem aspectos presentes em todo o processamento do alimento antes do início do HACCP, de acordo com a definição de COSTA (2012).

Os principais programas de pré-requisitos estão descritos abaixo: BPF (Boas Práticas de Fabricação) e PPHO (Procedimento Padrão de Higiene Operacional) ou POP's (Procedimentos Operacionais Padronizados).

3.2.2.2 Boas Práticas de Fabricação (BPF)

As toxiinfecções devem ser prevenidas através da aplicação de métodos em todas as etapas de industrialização, os quais busquem identificar as causas de problemas e orientar os funcionários para adoção de medidas preventivas e corretivas adequadas. Essas medidas são conhecidas como Boas Práticas de Fabricação (BPF), criada nos Estados Unidos, no final da década de 60. Abrangem o monitoramento de diversos itens tais como as condições sanitárias dos equipamentos, as práticas de manipulação adotadas durante o processamento e as normas para padronização dos funcionários, que contribuem para a obtenção de um alimento seguro (CONTRERAS et al., 2003). Portanto, as BPF são um conjunto de medidas que as indústrias alimentícias devem adotar para garantir a qualidade sanitária e a conformidade dos alimentos com as normas técnicas (BRASIL, 1997a).

As BPF incluem ainda a verificação e elaboração de um Manual quanto às instalações físicas, estoque, armazenamento e distribuição dos produtos, manipulação e um programa de monitoramento de pragas (MIP) (CONTRERAS et al., 2003). Para as indústrias avícolas manterem a competitividade tanto no mercado interno quanto externo, a adoção de BPF contribui para um produto com qualidade padrão. A portaria 368/97 do MAPA estabelece o “Regulamento Técnico sobre Condições Higiênico-Sanitárias e de Boas Práticas de

Fabricação para Estabelecimentos Produtores de Alimentos”, devendo ser adotada por todas as indústrias alimentícias.

Fazem parte das BPF vários Procedimentos Operacionais Padrão (POP's) aplicados durante todo o processo de fabricação do produto alimentício. Fazem parte deste programa a recepção e o armazenamento de matéria-prima, elaboração e embalagem de produtos, estocagem e expedição, equipamentos de proteção individual (E.P.I.s) utilizados, saúde e comportamento dos funcionários, água de abastecimento, programa de treinamento pessoal em BPF, preservação dos utensílios, equipamentos e instalações, limpeza e sanitização, controle integrado de pragas, planilhas, análises laboratoriais e rastreabilidade (ARAÚJO & CARDOSO, 2012).

No dia-a-dia na fábrica, são avaliados diversos itens: a adoção de boas práticas de higiene, tais como ausência de barba, maquiagem, perfume, unhas compridas e esmalte; condições do uniforme quanto à limpeza; presença de sabão, água e papel toalha e o total funcionamento do lavador de botas nas barreiras sanitárias; se os vestiários e sanitários estão limpos e equipados com sabão, água e papel; pontos com água residual na fábrica; conformidade das instalações e equipamentos quanto à limpeza e funcionamento; situação das lâmpadas espalhadas no setor; formação de condensação no teto ou odores no setor; eficiência do controle de pragas, avaliada por meio da verificação do funcionamento das correntes de ar nas barreiras sanitárias e de lâmpadas que atraem e matam insetos.

Além disso, o fluxo de processamento do frango deve ser planejado, da área suja para a área limpa, adotando-se uma seqüência que facilite a limpeza e evite a contaminação cruzada, garantindo a inocuidade do produto (Portaria N° 368/97/MAPA). As BPF são tão eficientes, que não devem ser substituídas na produção e no manuseio de alimentos por nenhum outro método (FORSYTHE, 2002).

3.2.2.3 Procedimento Padrão de Higiene Operacional (PPHO)

Todos os procedimentos de limpeza e sanitização adotados pela indústria são descritos pelo PPHO. Diversos fatores podem influenciar a higienização tais como o tempo, concentração e pH dos compostos desinfetantes e a temperatura da água, que deve ser elevada (CONTRERAS et al., 2003). Seu objetivo é aplicar medidas que atuem sobre fatores que possam induzir à contaminação, sejam esses fatores os próprios locais ou equipamentos, e em diversos setores, desde a produção, manutenção até a gestão da qualidade (ARAÚJO & CARDOSO, 2012).

3.3 QUALIDADE MICROBIOLÓGICA

As fontes de contaminação microbiológica são diversas, e no caso das carnes essa contaminação pode ocorrer mais frequentemente, pois alimentos perecíveis contêm os nutrientes que favorecem a proliferação microbiana. Portanto, os equipamentos podem ser contaminados pelo ambiente, funcionários ou pelos resíduos de alimentos. Os funcionários possuem temperatura corporal ideal para proliferação microbiana; além disso, a água quando não tratada e a presença de insetos e roedores podem causar contaminação cruzada, já que muitos transmitem diversas doenças (CONTRERAS et al., 2003).

Os consumidores desejam alimentos seguros, que possuam preços acessíveis e longa durabilidade. Para atender essa demanda, a segurança do produto se tornou prioridade, não só por se tratar de uma questão de saúde pública, mas também por expor a imagem da empresa frente ao mercado consumidor. Vendas podem ser perdidas quando há quebra da confiança dos clientes. Portanto, os custos de manutenção de um Sistema de Garantia e Controle de Qualidade é muito inferior se comparado aos custos de recuperação da imagem da fábrica (CONTRERAS et al., 2003).

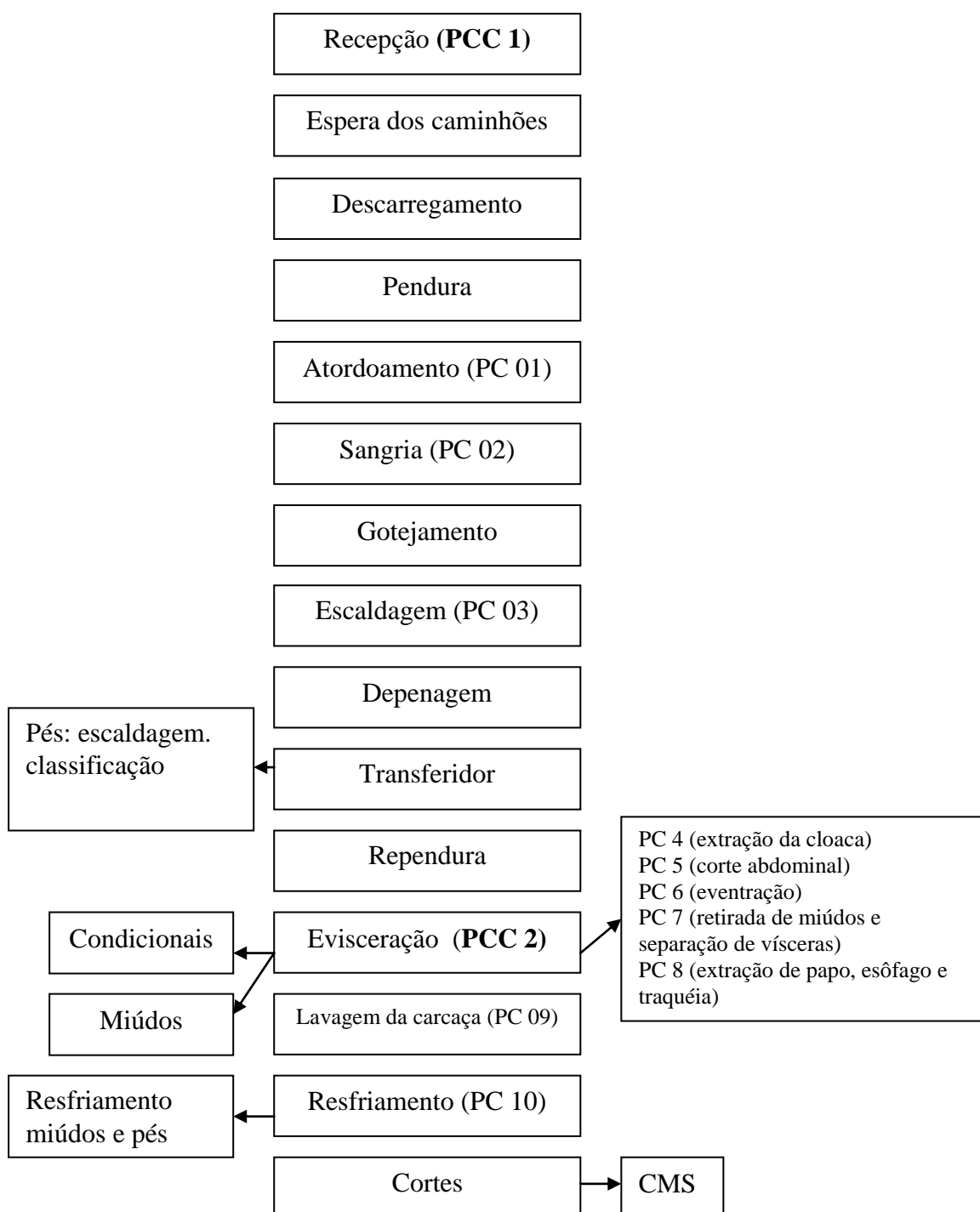
De modo geral, as análises microbiológicas devem ser realizadas com o objetivo de avaliar a qualidade microbiológica do processo produtivo e do alimento, visando diagnosticar um possível agente etiológico causador de surto de toxinfecção alimentar. Para evitar a ingestão da carne de frango contaminada, a detecção dos micro-organismos antes da chegada ao consumidor é de extrema importância. Porém, atualmente o método de detecção mais utilizado é o microbiológico convencional, demorado e trabalhoso que necessita de mais de cinco dias para emitir resultados. Esta demora dificulta o monitoramento da contaminação bacteriológica na cadeia produtiva do alimento e desfavorece a adoção de medidas emergenciais para conter a liberação de lotes que possam estar contaminados (RISSATO et al., 2011).

A necessidade de métodos rápidos de detecção tem levado a avanços significativos no desenvolvimento de pesquisas nesta área. A biologia molecular encontra aplicação nas agroindústrias de diversas maneiras, entre elas no melhoramento do gerenciamento da qualidade.

3.4 DESCRIÇÃO DAS ATIVIDADES REALIZADAS DURANTE O ESTÁGIO

3.4.1 Tecnologia do abate

As atividades desenvolvidas durante o estágio consistiram no acompanhamento dos operadores de qualidade durante todo o processo de abate das aves. O fluxograma abaixo representa os processos do abate e seus respectivos PCC's e Pontos Críticos (PC's), sendo que cada etapa é descrita em seguida.



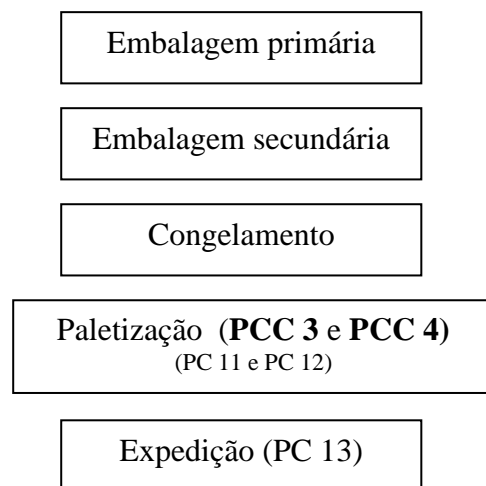


FIGURA 1: Fluxograma do abate de aves.

- a) Recepção das aves e inspeção *ante-mortem*: Quando os caminhões chegam ao pátio de recepção, é feita a verificação do Boletim Sanitário (B.S.) pelo Sistema de Inspeção Federal (SIF). Este é um documento emitido pelo próprio aviário onde está registrado se algum medicamento ou vacina foi administrado e se o tempo de carência foi respeitado. O Guia de Transporte de Aves (GTA) também é analisado, onde estão identificados número do lote, nome do produtor, quantidade de aves, entre outros. Também é feita a avaliação de algumas características das aves que garantem que o tempo de jejum, entre 8 e 12 horas, foi respeitado. Esta etapa é chamada de inspeção *Ante mortem* (PCC 1), e visa detectar, e assim evitar, possíveis contaminações químicas que podem ocorrer se o papo estiver cheio ou se houver presença de ração. Se tudo estiver conforme, as aves começam a ser descarregadas, caso contrário, devem esperar até que a situação seja regularizada. Se o lote for abatido normalmente e houver alguma não conformidade, seus produtos serão seqüestrados posteriormente, até que exames laboratoriais comprovem sua sanidade.
- b) Espera dos caminhões: A espera para descarregamento é feita em local apropriado, coberto, com ventilação e nebulização. Dependendo da temperatura ambiente, nebulizadores e ventiladores devem ser ligados para garantir o bem-estar animal, sendo que o tempo de espera não deve ultrapassar 2 horas. Caso isso ocorra o lote deve ser abatido em caráter emergencial.

- c) Descarregamento: As gaiolas são desempilhadas por um elevador e colocadas em uma esteira, seguindo para a área de pendura. Algumas normas para o bem-estar das aves são monitoradas por um auxiliar, como a quantidade de aves por gaiola, que deve estar entre 7 e 9 aves. As gaiolas de plástico também devem estar fechadas de modo a impedir que as aves pulem pra fora. As gaiolas vazias são lavadas com sanitizante (amônia quaternária) e água com clorito de sódio, sendo posteriormente carregadas em um novo caminhão, também higienizado com jatos d'água e sanitizante. A amônia quaternária desnatura proteínas e rompe membranas, agindo contra fungos, bactérias e vírus (PELCZAR, 2005).
- d) Pendura: As aves devem ser retiradas das gaiolas, seguradas pelas duas canelas, mantendo-as presas nas nóreas pelos pés. Além disso, a luz ambiente deve ser reduzida, de coloração azulada, para acalmar as aves. O operador responsável por essa função não deve usar força excessiva, segurando a ave de modo a impedir batimentos exagerados, que estressem a ave, induzindo a formação de hematomas e fraturas. O tempo entre a pendura e o atordoamento deve ser de quarenta a sessenta segundos, dependendo da velocidade do abate.
- e) Atordoamento: Nesta fase, as aves passam por uma cuba de insensibilização, que usa água quente com uma corrente elétrica para provocar a inconsciência das aves. Esse método é chamado de eletronarcole, onde o animal é mergulhado em água quente (60°C) da cabeça até o meio das asas, durante 7 segundos, recebendo uma descarga elétrica em seguida. Neste momento a ave fica inconsciente para a fase seguinte, mas com seus órgãos funcionando normalmente. A ave apresenta como sinais característicos da insensibilização o encurvamento do pescoço, que fica em formato de vírgula, além da ausência de reflexo ocular e de cloaca. Estes últimos são monitorados diariamente pelo Operador de Qualidade para garantir que a insensibilização está sendo eficiente e realizada de forma correta. A eficiência do atordoamento depende da temperatura da água, da tensão, da voltagem e da frequência da corrente elétrica utilizada. No entanto, quando essas variáveis estão muito altas podem induzir a formação de hematomas e fraturas nas aves, devendo ser controladas de acordo com o peso médio da ave.

- f) Sangria: O abate adotado segue os princípios do abate Halal, manual e posicionado em direção à Meca, para atender o mercado árabe. O corte retira a traquéia, esôfago, artérias e jugular de forma rápida e única, induzindo o sangramento e a morte do animal. Este procedimento deve ser feito no máximo 12 segundos após o atordoamento (BRASIL, 97).
- g) Gotejamento: A ave fica pendurada por no mínimo três minutos para o escoamento de todo o sangue.
- h) Escaldagem: A ave é mergulhada em água com temperatura entre 45 a 60 °C, durante um minuto e meio a dois minutos e meio. Esse processo abre os poros da pele e facilita a remoção posterior das penas. A água também atua como um importante fator de controle microbiológico, pois visa eliminar possíveis contaminantes, presentes na carcaça do frango. As penas são importantes vetores de diversos contaminantes como ração, fezes, insetos e outras sujidades. No entanto é necessário controlar a duração desse processo, pois a escaldagem excessiva pode comprometer a qualidade da carcaça, gerando cozimento na carne e aparecimento de hematomas.
- i) Depenagem: As aves passam por três depenadeiras, que removem as penas utilizando dedos de borracha. Em seguida a ave passa por um aspersor, que também visa eliminar possíveis contaminantes e restos de sujeiras presentes no corpo das aves. Porém há um grande risco de contaminação cruzada nessa fase, pois os dedos de borracha passam por diversas carcaças e diversos micro-organismos podem ser dispersos no ar. Como medida preventiva monitora-se, por exemplo, a velocidade do abate.
- j) Transferidor: A carcaça passa por um transferidor automático antes de chegar à evisceração. Os pés são cortados e separados da carcaça da ave, que segue por uma nórea diferente. Os pés voltam à área de escaldagem, passando por uma descuticuladeira, para retirar a película amarela e assim reduzir os riscos de contaminação da carcaça. Caem sobre uma esteira, onde são classificados em pés grade A e grade B, de acordo com suas características, sendo destinadas ao

mercado externo e interno, respectivamente, e seguem para um chiller próprio de pés.

- k) Rependura: A carcaça sem os pés cai em uma calha e é novamente pendurada em uma nórea, em direção a evisceração.
- l) Evisceração: As carcaças são levadas pelas nóreas logo após a depenagem para a área de evisceração. As mesmas passam por um jato d'água para retirar restos de penas e fezes que podem estar na superfície da carcaça. Nesta fase a carcaça passa por diversas máquinas, como o corte da cabeça, a extração da cloaca e o corte abdominal. Na evisceração a carcaça passa por um aspersor e em seguida pela máquina eventradora, que retira todas as vísceras por meio de um gancho automatizado. Estas são encaminhadas em nóreas próprias, onde coração, fígado e moela são separados, e o resto passa por um sistema a vácuo, sendo encaminhado à fábrica de subprodutos. Nesta fase a carcaça passa por três linhas de inspeção, chamada de Inspeção *Post-Morten*:
- Linha A: é feito o exame interno da carcaça, analisando-se alguns órgãos e possíveis contaminações biliares;
 - Linha B: avaliação da cor, formato e odor das vísceras;
 - Linha C: exame externo da carcaça, observando-se se há presença de hematomas, fraturas, ou anormalidades.

As ocorrências são registradas em um quadro ábaco de marcações de condenações do Departamento de Inspeção Federal (DIF) pertencente ao SIF, sendo registradas e arquivadas em documentos que relatam o estado sanitário das aves abatidas.

As aves condenadas são separadas e analisadas pelo SIF. As partes que estão apropriadas para o consumo humano (denominada condicionais) são separadas das anormais e encaminhadas para uma nórea à parte. Já as partes contaminadas são depositadas em caixas vermelhas e encaminhadas para a graxaria.

Como a evisceração é formada por várias etapas, identifica-se alto risco de contaminação cruzada, tanto pela manipulação de diversos funcionários quanto pela quantidade de produtos, que tem contato uns com os outros. Em seguida a carcaça passa por outra máquina, onde é retirada a pele do pescoço e da traquéia. Por fim, as carcaças passam pelo PCC 2, onde são monitoradas uma a uma, quanto à rastros de contaminação biológica por ração, fezes ou bile.

- m) Lavagem interna e externa da carcaça: A carcaça passa por um aspersor antes de cair no pré-chiller para lavagem externa e interna, para eliminar resíduos e contaminantes.
- n) Resfriamento: As aves são encaminhadas à sala de resfriamento, com temperatura controlada de no máximo 12°C, onde caem em resfriadores do tipo contínuo por imersão em água, do tipo rosca sem fim, conhecidos como pré-chiller e chiller (ISOLAN, 2007). Com esse processo a temperatura da carcaça é reduzida de 35°C para até 7°C, minimizando os riscos de proliferação microbiana. As carcaças caem no pré-chiller, que possui água com gelo, com temperatura entre 12 a 16°C, permanecendo ali por no máximo trinta minutos. Esta etapa pretende reduzir lentamente a temperatura da carcaça, evitando um choque térmico na ave, o que poderia provocar endurecimento da carne e surgimento de hematomas, além de diminuir os riscos de proliferação de micro-organismos e aumentar a durabilidade do produto. Como medidas preventivas em relação à micro-organismos, a água deste chiller tem uma concentração de cloro igual a 2 ppm, além de haver troca de água contínua em sentido contrário a movimentação das carcaças, com vazão de 2L por carcaça. Em seguida, o chiller opera com água a uma temperatura que varia entre 2 a 4°C, utilizando uma vazão de 1,5 L por carcaça.

O resfriamento rápido tem como objetivo reduzir os micro-organismos existentes e os riscos que a presença destes pode ocasionar. No entanto, deve-se atentar ao fato de que os resfriadores por imersão como os chillers, devem possuir água de ótima qualidade para evitar a contaminação cruzada das carcaças. A vazão contínua da água, além da troca parcial nos horários de almoço e janta e completo esvaziamento durante a higienização pré-operacional, são medidas que pretendem diminuir os riscos de contaminação e garantir uma boa qualidade da água. A carcaça deve atingir no máximo 7°C.

Nos dois chillers é utilizado um sistema de borbulhamento, que auxilia no processo de limpeza das carcaças. Sua frequência deve ser controlada para evitar absorção de água em excesso pela carcaça, o que interfere em sua qualidade e peso. As carcaças saem do chiller por meio de pás giratórias, caindo em calhas e sendo rependuradas em nóreas seguindo para a sala de cortes. O excesso de água cai por gotejamento até os cortes começarem.

- o) Resfriamento de Miúdos e pés: Moela, fígado e coração são encaminhados por bombeamento da sala de evisceração para chillers individuais na sala de resfriamento, permanecendo ali por aproximadamente 15 minutos, sendo resfriados até 4°C, retirados com uma pá giratória e depositados em uma mesa para classificação, embalagem e pesagem, sendo encaminhados posteriormente para o congelamento. Os pés também caem em chillers individuais, e seguem o mesmo processo que os miúdos.
- p) Cortes condicionais: Os cortes retirados das carcaças contaminadas na plataforma do SIF seguem em nóreas e caem no chiller de condicionais. Ali são resfriados em água com gelo, a 4°C, e vazão de 1,5 L/carcaça, devendo sair do tanque de resfriamento com temperatura inferior a 7°C.
- q) Cortes: A C.Vale possui na linha 1 a sala de corte manual e na linha 2 a sala de corte automática. Ambas produzem alimentos para o mercado interno e externo. Os cortes são feitos de acordo com o pedido dos clientes: peito, coxa sobrecoxa, frango a passarinho, coxinha da asa, filezinho (sassami), sambiquira, meio da asa, ponta da asa, retalho do peito e da coxa sobrecoxa, pele, cartilagem do peito e do joelho. Todos os cortes atendem as especificações dos clientes conforme os POP's. As duas salas possuem temperatura de 12°C e os produtos não devem ultrapassar os 7°C, para que mantenham suas características físico-químicas, microbiológicas e sensoriais. A carne que sobra na carcaça é encaminhada para a produção de CMS (Carne Mecanicamente Separada).
- r) CMS – Carne Mecanicamente Separada: O MAPA (2000) classifica CMS como aquela presente em ossos ou carcaças, sendo destinada para a produção de embutidos como mortadela, e os restos ósseos encaminhados para a fabrica de subprodutos. A sala de separação possui temperatura igual ou menor que 10°C.
- s) Embalagem primária: Logo após a classificação do produto, o mesmo é embalado em embalagem individual, plástica, com a logomarca da empresa, informações nutricionais e data de validade, sendo pesados e selados por seladora mecânica.

- t) Embalagem secundária: As embalagens individuais são armazenadas em caixas de papelão, sendo que cada produto possui um padrão de armazenamento, conforme POP específico.
- u) Congelamento: O túnel de congelamento possui temperatura entre -23°C e -40°C , e os produtos ficam ali por cerca de 2 horas, para atingir -18°C se for destinado ao mercado externo e -12°C para o mercado interno. O tempo necessário para a ave ser abatida até sair do túnel com essa temperatura é monitorado, caracterizando o PCC 3. O congelamento do produto final é feito nos túneis de resfriamento e seu armazenamento nas câmaras frias.
- v) Paletização: As caixas com os produtos são pesadas, passando por um detector de metais (PCC 4) para detecção de corpos estranhos metálicos, são empilhadas, envoltas por um tipo de plástico, de acordo com a especificação do produto, e levadas por carrinhos até as câmaras de estocagem.
- w) Expedição: As caixas contendo os produtos são retiradas das câmaras frias e transportadas por carrinhos até a expedição. A verificação da temperatura é realizada em cada um dos lotes que sai das câmaras de resfriamento e congelamento, e deve ser no mínimo de -18°C para o mercado externo e -12°C para o mercado interno. Se não estiverem nessas temperaturas, devem ser encaminhados novamente para as câmaras de resfriamento/congelamento até que atendam as normas. Para evitar perda de temperatura, deve-se evitar acúmulo de produtos na hora do carregamento.

Os caminhões também são avaliados no pátio da expedição quanto às suas condições físicas. O *container* é avaliado quanto a limpeza (ausência de objetos, sujeiras), vedação de portas e ausência de odores, além da temperatura, que também deve estar entre 0 e -18°C . Quando todos os itens avaliados forem conformes, o carregamento é feito, caso contrário espera-se o *container* atingir a temperatura ideal. Com isso, o produto sai da empresa, chegando até o consumidor final, encerrando o fluxograma de abate.

Um dos objetivos principais do estágio supervisionado foi acompanhar as atividades referentes à gestão de qualidade de uma indústria de alimentos e por isso, a maior parte do período do estágio foi destinada às atividades relacionadas ao controle de qualidade do

produto final e do processo, onde foram observados todos os parâmetros do controle de qualidade no abatedouro de aves, conforme descrito abaixo.

Diariamente, vários itens são analisados na indústria, para verificação do funcionamento de estruturas, equipamentos, dos processos. O monitoramento é registrado em planilhas específicas, sendo que a verificação é feita pelo operador de qualidade. Os diversos itens observados são: manutenção das instalações e equipamentos, vestiários e sanitários, iluminação, ventilação, água de abastecimento, águas residuais, controle integrado de pragas, programa, PPHO, hábitos higiênicos e a saúde dos operários, procedimentos sanitários das operações, controle da matéria-prima, ingredientes e material de embalagens, controle de temperaturas, calibração e aferição de instrumentos de controle de processo, HACCP, testes microbiológicos, certificação dos produtos exportados, e bem estar animal.

A aplicação do PPHO também foi acompanhada. Esta atividade refere-se à higienização pré-operacional, realizada antes do início do abate das aves, e a operacional, feita nas trocas de turno e nos intervalos de almoço e janta. Para registrar a verificação da higienização, planilhas específicas são preenchidas, contendo todos os equipamentos e itens que são avaliados.

Durante o estágio, também foram verificados os procedimentos da inspeção de produtos para o mercado interno e externo, quanto ao atendimento da especificação técnica.

Como um dos objetivos principais do estágio também era fazer uma revisão bibliográfica sobre os métodos convencionais e modernos, que podem ser utilizados no controle de qualidade de alimentos para a detecção de micro-organismos, seguem abaixo as informações mais detalhadas sobre a coleta do material para esta análise.

3.4.2 Coleta de materiais para análise microbiológica

A coleta das amostras é realizada todos os dias seguindo um cronograma mensal, no qual são relacionados os dias e os produtos que devem ser enviados para análise microbiológica. Cada uma das linhas de produção possui seu próprio cronograma de acordo com a ordem de produção. São abatidos cerca de cinco lotes por linha em cada turno. De cada um dos lotes abatidos, coleta-se pelo menos uma amostra. Do primeiro lote abatido, coleta-se sempre o peito, do segundo a coxa e do terceiro a asa. No quarto lote coleta-se novamente peito, sempre seguindo a ordem peito, coxa e asa. Esses produtos são coletados na sala de cortes, armazenados em sacos plásticos e cada amostra recebe um número de identificação. Antes do armazenamento em um saco plástico a temperatura é conferida com um termômetro,

não devendo ultrapassar 7°C. Conforme o cronograma de análises, podem ainda ser feitas coletas de outros produtos no mesmo dia, como peito salgado, miúdos e carcaça de frangos.

Os *swabs* de pano e arraste são feitos logo após a sanitização de gaiolas e caminhões, e da higienização pré-operacional de equipamentos, respectivamente. Avaliam a eficácia da limpeza dos mesmos, assegurando que os níveis de bactérias presentes não oferecem risco para o consumidor.

Uma vez por semana é feita a coleta de sangue, sendo realizada no momento da sangria, diretamente do pescoço da ave. Pelo menos três vezes por semana também é feita a coleta de cecos. Cecos são estruturas presentes no sistema digestório das aves, onde ocorre a decomposição microbiana da celulose (DYCE et al., 1997). Barreiro et al. (2011) através da análise quantitativa de fibras presentes nestas estruturas, observou em seu trabalho que quando o período de jejum pré-abate das aves foi respeitado houve redução da quantidade de *Enterococcus* spp. e de outros micro-organismos no ceco de frangos de corte, cuja presença pode exercer influencia direta na saúde pública

Uma vez por mês, as condições higiênico-sanitárias das mãos de três funcionários são avaliadas. Após lavar as mãos com sabão, enxaguar e sanitizar, o funcionário toca a superfície de duas placas de petri contendo meio de cultura. O ar ambiente dentro da indústria também é avaliado. Para isso, em diversos pontos do abate, duas placas contendo meio de cultura ficam expostas (abertas) durante dez minutos. Tanto na placa de mãos quanto ambiente são analisadas bactérias totais.

Uma vez por mês é feita uma seqüência de atividades chamada “vida de prateleira”. Esta tem como objetivo realizar avaliação microbiológica, físico-química e sensorial de produtos coletados de seis meses a dois anos atrás. Essas análises certificam que o produto manteve suas características durante o prazo de validade. Novas amostras pré-determinadas também são coletadas e estocadas no túnel de resfriamento para serem analisadas posteriormente.

Em seguida, todas as coletas são armazenadas em caixas térmicas e enviadas ao final do turno de trabalho para o laboratório de análises. Em um formulário, é feito o preenchimento de dados como o dia da coleta, produto, hora, temperatura, número da matrícula do coletor e tipo de análise. Todos os dados contidos no formulário são transferidos para um sistema no computador, onde ficam arquivados. Assim que as análises são concluídas pelo laboratório, estes enviam os laudos com os resultados. No quadro 1, são relatados alguns dos produtos coletados no local do estágio e enviados para análises laboratoriais. As coletas e o tipo de análise variam de acordo com o cronograma e com a ordem de produção.

Quadro 1. Relação de alguns produtos coletados para análises laboratoriais na empresa.

N° de amostras por turno em cada linha	Amostras	Tipo de análise*
02	Frango carcaça	MB
01	Fígado, moela, pescoço, coração	MB/MBT/RUP
01	Pés, dorso, pele	MB/MBT
01	Frango temperado/desossado	MB
01	Peito/coxa/asa	MB/MBT/ FQ
01	CMS/CMR	MB
05	Peito/filezinho/coxa sobrecoxa salgado	Cl, S
04	Swab pano caminhão	S
03, 08	Swab equipamentos	<i>Pseudomonas</i> spp., S

*Legenda: CMS: carne mecanicamente separada, CMR: carne mecanicamente recuperada; MB: Microbiológica; MBT: Microbiológica Total; FQ: Físico-Química; S: *Salmonella*; *E. coli*: *Escherichia coli*; M: Mesófilos; Cl: Cloreto; RUP: Relação umidade proteína.

A análise microbiológica (MB) verifica um conjunto de micro-organismos dependendo do tipo de produto. Podem ser analisados *Salmonella* e Coliformes a 45°C, Mesófilos, *Enterobacteriaceae*, *Escherichia. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Clostrídio perfringens*. A análise MBT, independentemente do produto a ser analisado, inclui a detecção de *Salmonella*, Coliformes a 45°C, *S. aureus* e Mesófilos. Já quando os produtos são seqüestrados, por alta temperatura por exemplo, avalia-se a presença de Coliformes fecais, *Salmonella* spp. e *S. aureus*, de acordo com o produto específico.

Uma vez por mês em cada turno também são coletados água industrial e gelo, nos quais são analisados Coliformes totais, *E. coli* e *Enterococcus*. A coleta de água ocorre em um dos 12 pontos distribuídos nos diversos setores da indústria.

4 DISCUSSÃO

Após a conclusão do período do estágio, foi possível observar que a Cooperativa C.Vale adota o sistema de Gestão de Qualidade, que além do controle e da garantia da qualidade do produto final, abrange também conceitos gerais de qualidade, preservação do

meio ambiente, segurança alimentar, saúde do consumidor, políticas de educação e desenvolvimento sustentado. A empresa também segue a ISO 9001, um modelo para garantia de qualidade em projeto ou desenvolvimento, produção, instalação e serviço (FORSYTHE, 2002). Além disso, também adota os programas de BPF, PPHO e HACCP, como ferramenta para manter seus sistemas de gestão de qualidade.

Ainda dentro da aplicação destes programas, os operadores de qualidade inspecionam a própria situação e funcionamento de todo o sistema de programas dentro da indústria, para verificar se as normas estão sendo seguidas de acordo com o proposto pela empresa. Essa inspeção baseia-se na análise dos pontos de controle, distribuídos em diversas etapas do processamento da ave. Segundo Bryan (1991), ponto de controle (PC) é uma operação onde são adotadas medidas preventivas e/ou de controle, a fim de atender as BPF, normas e padrões, especificação do produto, regulamento interno da empresa ou aspectos estéticos. Este se diferencia do PCC, onde medidas preventivas ou de controle são adotadas para eliminar, prevenir ou reduzir um ou vários perigos presentes em determinada operação, que impliquem diretamente na inocuidade do alimento. Os pontos de controle analisados na C.Vale são descritos a seguir:

PC 01 (Insensibilização): o choque não pode causar a morte da ave, apenas sua inconsciência.

PC 02 (Sangria): a sangria deve ser realizada no máximo 12 segundos após a insensibilização.

PC 03 (Escaldagem): é feito o controle da vazão e da temperatura dos tanques de escaldagem, para diminuir os riscos de proliferação de micro-organismos.

PC 04 (Extração da cloaca): controla a eficiência da máquina extratora de cloaca, uma vez que a saída de conteúdo intestinal pela cloaca pode contribuir para a contaminação da carcaça.

PC 05 (Corte abdominal): controle da máquina que realiza este corte para evitar a ruptura do intestino e posterior liberação de contaminantes (micro-organismos e ração).

PC 06 (Eventração): avalia a eficiência da máquina eventradora.

PC 07 (Retirada de miúdos e extração de vísceras): controla a retirada de miúdos não comestíveis, como bile, pulmões e intestinos.

PC 08 (Extração de papo, esôfago e traquéia): controla a eficiência da máquina extratora para evitar contaminação por ração.

PC 09 (Lavagem externa e interna da carcaça): monitora a vazão dos chuveiros de lavagem final das carcaças.

PC 10 (Resfriamento): renovação da água e o controle da temperatura dos chillers e da temperatura dos cortes condicionais, carcaças e miúdos.

PC 11 (Paletização): controle da temperatura do túnel e dos produtos na saída deste.

PC 12 (Estocagem): controle da temperatura da câmara de estocagem.

PC 13 (Expedição): análise das condições de embalagem e temperatura dos produtos na expedição.

O PPHO na empresa inclui o monitoramento e a verificação da limpeza, baseada na observação e inspeção visual dos equipamentos e estruturas entre os turnos de trabalho e no final de produção dos dois turnos.

A higienização completa do setor é realizada no 3º turno, onde são utilizados detergentes e sanitizantes para remoção completa de resíduos de carnes, fezes, penas, ração, gordura, pele, corpos estranhos, entre outros. Para isso é realizada a seguinte sequência: pré-enxague, esfrega com detergente, enxágüe, esfrega com outro detergente se necessário, novo enxágüe e aplicação do sanitizante. Esta sequência de procedimentos para limpeza pode ser alterada conforme a situação de cada equipamento.

O operador é responsável por verificar se a limpeza foi realizada corretamente. Para isso máquinas, parede, teto, portas e tudo que faz parte do processo produtivo devem ser minuciosamente inspecionados, e caso haja detecção de qualquer vestígio de gordura e outros resíduos, uma limpeza imediata deve ser solicitada. Todos os locais inspecionados são registrados em um *check-list*, descrevendo o local, o problema encontrado e a ação adotada. Esta função tem importância fundamental para o processo, assegurando que o produto está sendo processado em ambiente livre de contaminações, aumentando sua qualidade. Três vezes por semana são realizadas coletas em oito pontos pré-determinados para contagem microbiológica padrão e em dois desses pontos também é feita contagem para *Pseudomonas* spp. As coletas são feitas com arraste de *swab* sobre a superfície de interesse e encaminhados para o laboratório avícola da C.Vale.

Métodos microbiológicos tradicionais para a detecção de bactérias são muito trabalhosos e demandam um longo tempo de execução até a obtenção dos resultados. Vários métodos rápidos de detecção vêm sendo desenvolvidos nos últimos anos, incluindo métodos moleculares utilizando a reação em cadeia da polimerase (PCR). Dentro deste contexto, é apresentada a seguir uma breve revisão sobre a utilização de alguns métodos convencionais e modernos, dando ênfase à PCR na detecção em patógenos de alimentos, sua metodologia, vantagens e desvantagens frente aos métodos convencionais.

5. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

5.1 IMPORTÂNCIA DO CONTROLE DE QUALIDADE E SEGURANÇA ALIMENTAR

Os parâmetros que definem as características microbiológicas dos alimentos são considerados os mais importantes, pois permitem avaliar o alimento frente a várias situações, tais como as condições de processo, armazenagem, distribuição, vida útil e os riscos à saúde do consumidor.

As análises laboratoriais permitem quantificar e qualificar os micro-organismos presentes nos alimentos, determinar as condições de higiene utilizadas na preparação do mesmo, além de comprovar se o alimento terá a vida útil conforme sua especificação. Patógenos responsáveis por surtos alimentares também podem ser identificados. Visa também atender às normas da legislação nacional e internacional (FRANCO, 2008).

Os métodos utilizados para análises são divididos em “convencionais” e métodos “rápidos” e tem como objetivo detectar a presença ou ausência de micro-organismos no produto, além de quantificar, identificar e caracterizar as diferentes espécies patogênicas presentes.

5.2 PRINCIPAIS PATÓGENOS DA INDÚSTRIA DE CARNE DE AVES

Apesar dos avanços em diversas áreas do conhecimento, como a medicina e a tecnologia de alimentos, as doenças causadas por patógenos alimentares ainda trazem problemas para a saúde e para a economia (FORSYTHE, 2002).

No caso da indústria avícola, os patógenos causadores de doenças transmitidas por alimentos habitam a microbiota superficial, as vias respiratórias e o tubo gastrintestinal das aves. São divididos em dois grupos de micro-organismos: infecciosos, que se multiplicam no trato intestinal humano e inclui as bactérias *Salmonella*, *Listeria*, *Campylobacter*, *E. coli*. ; e bactérias patogênicas intoxicantes *B. cereus*, *S. aureus* e *C. botulium* que produzem toxinas nos alimentos e no trato intestinal (FORSYTHE, 2002). Abaixo são descritos os principais micro-organismos que podem ser detectados em carcaças de frango.

5.2.1 *Escherichia coli*

É um bacilo, Gram-negativo, anaeróbio facultativo, não esporulado e habita a flora intestinal humana. Estas bactérias são classificadas em vários tipos de estirpes patogênicas, sendo que a principal pertence às estirpes enterohemorrágicas, causando diarreia sanguinolenta severa em humanos. Algumas estirpes produzem mais que uma toxina ao se aderir às células epiteliais do intestino, sendo que pequenos vasos do intestino, cérebro e coração podem ser destruídos se a corrente sanguínea absorver essas toxinas (PELCZAR, 2005).

5.2.2 *Salmonella* spp.

São bastonetes curtos e Gram-negativos que pertencem à família Enterobacteriaceae. Sua toxina termoestável é produzida, invadindo facilmente a mucosa do intestino delgado, gerando uma inflamação e um acúmulo de fluido no intestino (PASSO, 2009). Apresentam grande tolerância ao calor e substâncias químicas, porém não sobrevivem à temperatura de 55°C por 1 hora ou 60°C por 15 a 20 minutos (OLIVEIRA, 2009).

Pode causar gastroenterite, induzindo dores abdominais e diarreia, que pode ser fatal em pessoas imunodeficientes (PELCZAR, 2005). Para evitar a chegada desta e de outras contaminações ao consumidor, a detecção de patógenos deve utilizar um diagnóstico rápido e preciso (RISSATO et al., 2011).

A ocorrência de *Salmonella* ainda é considerada preocupante, pois mesmo com o avanço nos métodos de detecção, tem ocorrido aumento da resistência a antimicrobianos, e de pessoas com sistema imune debilitado. Além da contaminação de ovos e alimentos nos grandes centros por essa bactéria, contribuindo ainda mais para altos índices de contaminação (PASSO, 2009).

5.2.3 *Listeria monocytogenes*

É um bastonete Gram-positivo, anaeróbio facultativo, não esporulado, móvel por flagelos. Ao invadir diversos tecidos do corpo humano, multiplica-se dentro das células liberando uma toxina conhecida como listeriolisina (PELCZAR, 2005). Em alguns países há programas de controle nos centros de produção para reduzir a listeriose de origem alimentar, visto que alimentos totalmente livres deste patógeno são quase impossíveis, pois estas

bactérias estão amplamente distribuídas na natureza e nas fezes dos animais (PASSO, 2009; OLIVEIRA et al., 2011).

Muitas vezes causa uma infecção oportunista e para indivíduos imunodeficientes, grávidas e crianças pode ser fatal. Prolifera-se em alimentos que estão à temperatura de refrigeração, durante seu armazenamento (PASSO, 2009). Pode-se considerar que entre as várias espécies, *L. monocytogenes* é o patógeno de maior importância para os humanos (OLIVEIRA et al., 2011).

5.2.4 *Campylobacter* spp.

São micro-organismos de forma espiral arredondada, Gram-negativos, não esporulados e móveis, e que podem causar a gastroenterite humana. Sobrevivem em alimentos sob refrigeração por vários meses. Produzem uma toxina termo-lábil que invade e cresce nas células epiteliais do intestino delgado e grosso, sendo considerada uma bactéria entérica (PASSO, 2009). É transmitido por fezes de animais e não só por água e alimentos. As espécies *C. jejuni* e *H. pylori* são frequentemente encontradas no homem (PELCZAR, 2005). A manipulação e as operações de abate mal conduzidas, sem seguir as BPF's geram a contaminação de carcaças e das vísceras por estes patógenos (OLIVEIRA et al., 2011).

5.3 MÉTODOS PARA DETECÇÃO DE MICRO-ORGANISMOS

O avanço da biotecnologia tem proporcionado o melhoramento ou o desenvolvimento de novas técnicas cada vez mais rápidas, automatizadas e sofisticadas para a detecção de micro-organismos em alimento (ARORA et al., 2006).

Em seu trabalho, Rodrigues (2013) aplicou questionários a algumas indústrias de alimentos para descobrir os principais fatores que limitavam a utilização de métodos moleculares. O autor afirma que a adoção de novas tecnologias deve ser analisada constantemente, pois contribui para a permanência da empresa no mercado, porém deve estar de acordo com os objetivos da mesma, no que se refere à redução de custos e desenvolvimento de novos produtos. A relação custo/benefício é considerada por todas as empresas na hora de adotar um novo método, sendo que para a maioria delas, o custo de implantação da técnica é um fator que limita a utilização de métodos moleculares pelos laboratórios de microbiologia de alimentos.

5.4 MÉTODOS CONVENCIONAIS E ALTERNATIVOS

Os métodos convencionais são considerados métodos oficiais pela maioria dos laboratórios nacionais e internacionais (FRANCO, 2008). As técnicas microbiológicas convencionais são consideradas métodos padrão de detecção de patógenos ao identificar células viáveis por amostragem de alimentos, através das etapas de pré-enriquecimento e enriquecimento seletivo, plaqueamento do micro-organismo alvo em meio de cultura e confirmação utilizando testes sorológicos, bioquímicos e morfológicos para tipagem, subtipagem e identificação de gêneros, espécies e subespécies microbiológicas (FRANCO, 2008).

As principais desvantagens relacionadas à utilização desses métodos são o erro de leitura dos testes bioquímicos, que podem ser alterados pela influência de fatores ambientais sobre a expressão dos genes, gerando resultados diferentes para uma mesma amostra. Também apresenta baixa sensibilidade frente à micro-organismos de baixa variabilidade genética. A demora na emissão dos resultados é um dos principais motivos que induz ao desenvolvimento de técnicas mais rápidas.

Freitas (2006) considera que uma das limitações da metodologia convencional é a necessidade de cerca de quatro dias para obter resultados negativos e até quinze dias para a confirmação de resultados positivos, além da necessidade de uma quantidade razoável de células viáveis que permita seu isolamento. A probabilidade de erro no diagnóstico microbiológico também cresce muito, devido às mudanças de morfologia e no perfil bioquímico das células nos diferentes meios de cultura

A Partir da década de 70 surgiram os métodos rápidos, para diminuir o tempo da emissão dos resultados e aumentar a produtividade do laboratório, simplificando o trabalho e reduzindo custos, tudo isso com alta sensibilidade quando comparado aos métodos convencionais (FRANCO, 2008). Segue abaixo uma breve descrição de alguns métodos desenvolvidos e aplicados para detecção de micro-organismos.

- a) Contagem por plaqueamento: O método convencional consiste no plaqueamento de alíquotas do alimento após homogeneização e de suas diluições em meio de cultura sólidos, dependendo do micro-organismo a ser identificado. As placas são incubadas e posteriormente, é feita a contagem das colônias. É o método mais utilizado em laboratório, porém é muito trabalhoso quando o número de amostras é grande e sua leitura pode ser difícil e cansativa (FRANCO, 2008)

Um método alternativo a este é o plaqueamento em espiral, um sistema automatizado de semeadura, que facilita a contagem das colônias por formar um gradiente de concentração bacteriana na placa. Outro método alternativo é a técnica de membrana filtrante, onde o produto a ser analisado passa por uma membrana que retém os micro-organismos presentes, e em seguida transfere essa membrana para a placa de Petri, realizando-se a contagem das colônias visualmente ou por meio de contadores eletrônicos. As placas *Petriefilm* também são consideradas um método avançado. São formadas por um cartão de papel que contem meio de cultura desidratado, corantes indicadores e agentes gelificantes hidrossolúveis, sendo necessário apenas inocular um mililitro da amostra diluída e incubar.

- b) Determinação do número mais provável: também conhecida como Técnica dos Tubos Múltiplos avalia micro-organismos tais como coliformes totais e fecais, *E. coli* e *S. aureus*. Após homogeneização, a amostra passa por no mínimo três diluições decimais seriadas, transferindo-se alíquotas de cada uma dessas diluições para três ou cinco tubos com meio de cultura específico e um tubo coletor de gás. Após incubação dos tubos, há identificação dos positivos pela turvação e produção de gás. É um método bastante antigo, que apresenta imprecisão nos resultados, pois apenas estima o número de micro-organismos presentes, além de demorar até cinco dias para estimar o número de *E. coli*. Através da identificação deste micro-organismo podemos avaliar as condições higiênico-sanitárias do produto, por isso métodos alternativos mais rápidos devem ser adotados. Uma possibilidade é adotar a técnica fluorogênica, baseada na técnica dos tubos múltiplos para *E. coli* (FRANCO, 2008).

Abaixo estão relacionados alguns Métodos Indiretos de Contagem, segundo FORSYTHE, 2002.

- a) Técnicas de Impedância-Conduatância: Avalia as alterações quanto a impedância e condutância elétrica de um meio, devido a atividade metabólica dos micro-organismos que ali estão. Um instrumento chamado Bactometer quantifica essas alterações.
- b) Técnicas de Bioluminescência: Relaciona a quantidade de ATP (adenosina-trifosfato) presente em um organismo com o número de células metabolicamente

ativas. A quantidade de luz emitida pela junção do ATP com uma enzima específica está diretamente relacionada com a quantidade de ATP e de micro-organismos presentes. É um método de monitoramento de higiene, não detectando de fato a bactéria. Portanto, pode ser utilizado em um PCC no sistema HACCP.

- c) Detecção de Proteína: É considerada uma alternativa técnica que quantifica ATP, também sendo utilizada para monitoramento da higiene. Detecta proteínas presentes em superfícies utilizando *swabs* acondicionados em certos reagentes. Não utiliza nenhum equipamento, por isso possui menos custos que a bioluminescência por ATP, além de ser mais rápida que os métodos tradicionais.
- d) Microcalorimetria: O calor produzido pela multiplicação de micro-organismos é proporcional a quantidade presente destes seres. Um aparelho relaciona essas duas variáveis para estimar a quantidade microbiana em uma amostra.
- e) Radiometria: Utiliza um meio com componentes radioativos. Ao consumir esse meio o micro-organismo libera CO₂ radioativo, sendo a quantidade desse gás proporcional à quantidade de seres microscópicos presentes na amostra.

Quanto ao isolamento e identificação dos patógenos pelos métodos convencionais, os laboratórios utilizam a técnica de semeadura em meio de cultura sólido específico e testes complementares, respectivamente. As técnicas tradicionais caracterizam o micro-organismo de acordo com as reações bioquímicas que estes são capazes de realizar. Apresentam custo elevado e são bastante trabalhosos, gerando custos significativos. Para melhorar a precisão desses resultados, novos métodos surgiram e são divididos em três grupos: técnicas bioquímicas miniaturizadas, imunológicas e genéticas.

- a) Técnicas Bioquímicas Miniaturizadas: São representados pelos *kits*, onde os testes são realizados em escala reduzida. Apresentam alta confiabilidade e reprodutibilidade, por serem avaliados por vários testes de controle de qualidade quando são produzidos. Permitem a obtenção de resultados mais corretos e precisos por utilizar um grande número de testes bioquímicos para apenas um micro-organismo. São de fácil uso, interpretação, estocagem e descarte. Sua utilização é limitada principalmente pelo alto custo de investimento e pela

legislação brasileira, que recomenda como método oficial apenas os métodos convencionais (FRANCO, 2008).

- b) Técnicas Imunológicas: Baseiam-se na interação antígeno e anticorpo específico, sendo por isso altamente sensível e específico. Utiliza anticorpos policlonais, cuja principal função é reagir contra cada epítopo diferente do antígeno e, anticorpos monoclonais obtidos a partir da secreção de células híbridas (hibridomas), oriundas da fusão entre células tumorais e células secretoras de anticorpos. São classificadas em cinco grupos: técnica imunológica de imunocaptura, imunoenzimática, imunoimobilização, co-aglutinação e imunofluorescência.
- c) Técnicas Genéticas: Tanto as técnicas de hibridização de DNA quanto de reação de polimerase em cadeia (PCR) são as técnicas genéticas mais frequentemente empregadas na análise de alimentos.

Os Testes de hibridização, utilizam segmentos de DNA de fita simples (sondas genéticas), que reconhecem e formam híbridos com fitas complementares de DNA ou RNA. São divididas em calorimétricas e radioativas, sendo realizada de duas formas distintas. O DNA-alvo fica fixo a um suporte sólido (base sólida) ou disperso em meio líquido (base líquida). Para apresentar maior produtividade, deve possuir uma quantidade fixa de micro-organismos (entre 10^5 a 10^6), o que torna sua sensibilidade limitada. Etapas de pré-enriquecimento podem ser utilizadas para aumentar essa concentração. Além disso, exige equipamentos e técnicos qualificados. Detecta diversos micro-organismos tais como *Salmonella* spp., *Listeria* spp. e *Campylobacter* spp.

Já a Reação de Polimerase em Cadeia (PCR) (do inglês *polimerase chain reaction*) é considerada um dos maiores avanços na área de métodos rápidos em microbiologia, permitindo a obtenção de milhões de cópias de um único fragmento de DNA em poucas horas. A enzima DNA polimerase constrói uma fita complementar a fita simples que é utilizada como molde. A cópia inicia a partir de dois *primers* (oligonucleotídeos iniciadores) que são complementares as extremidades 3' e 5' da seqüência a ser copiada.

Independentemente do método escolhido, diversos fatores devem ser considerados antes de tomar a decisão final tais como o objetivo da análise, custos e tempo necessários, qualificação do analista e aceitação do método pela legislação. A seguir, são detalhadas as vantagens e desvantagens do método que utiliza PCR.

5.5 MÉTODOS MOLECULARES – REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE

As técnicas tradicionais são falhas em alguns itens, e para suprir essas falhas, estão sendo investigadas diversas técnicas, que podem ser utilizadas no controle de qualidade de indústrias de abate de frango. Com o surgimento de novas contaminações alimentares, técnicas rápidas e eficazes como essas são necessárias e a PCR é promissora em relação a essas variáveis (RODRIGUES, 2013).

A PCR se destacou no início da década de 90, e algumas técnicas foram desenvolvidas a partir dela como a *Real Time* PCR e *Multiplex* PCR, sendo que diversos micro-organismos são detectados com sucesso. Esta técnica apresenta alta precisão, sensibilidade e especificidade, detectando curtas sequências de DNA alvo, e por isso é considerado o mais avançado método para diagnóstico de patógenos em alimentos (RODRIGUES, 2013).

Apesar de ser considerada uma alternativa viável frente às técnicas convencionais, não é muito utilizada nos laboratórios de análises de alimentos no Brasil. Em países desenvolvidos, sua variável PCR *real-time* já é utilizada nas indústrias e nos Estados Unidos algumas técnicas moleculares já foram validadas para a detecção de patógenos por agências reguladoras (RODRIGUES, 2013).

5.5.1 Vantagens

O método tradicional, que é o mais utilizado, pode demorar mais de cinco dias para emissão de resultados, além de ser extremamente trabalhoso, dificultando o monitoramento do patógeno na cadeia produtiva e desfavorecendo a tomada de ações para impedir que lotes contaminados cheguem até os clientes. Portanto, o desenvolvimento de pesquisas nesta área levou ao surgimento de métodos moleculares como a PCR, que vem atender a demanda por métodos menos laboriosos e mais rápidos (RISSATO et al., 2011). Pode ser utilizada como ferramenta em laboratórios de Controle de Qualidade, sendo caracterizada como uma técnica rápida, sensível e específica para determinação de contaminantes, já que substratos e antígenos não precisam ser expressos evitando variações fenotípicas em padrões bioquímicos e falta de antígenos detectáveis (RISSATO et al., 2011).

A PCR ainda não é considerada uma técnica substituta dos métodos tradicionais, apesar de apresentar muitas vantagens quando comparada a esses últimos (PASSO, 2009). Os reagentes utilizados na PCR também tiveram seus valores reduzidos, tornando-se mais

reconhecida com método alternativo. Segundo Rodrigues et al. (2011) a detecção por PCR implica em redução de custos, tempo de análise, resultados mais confiáveis e específicos.

Entre as técnicas moleculares desenvolvidas recentemente, a PCR é a mais aceita (SANTANA et al., 2011). Mais uma de suas características é a robustez, essencial para replicar sequências específicas, além de possibilitar a detecção e identificação de organismos sem cultivar ou isolar em cultura pura, detectando tanto organismos específicos quanto grupos taxonômicos amplificados (SANTANA et al., 2011). Além disso, somente a sequência dos iniciadores precisa ser conhecida, pois hibridizam apenas com pares de bases específicos. Esse fato dispensa a necessidade de conhecimento da sequência completa do DNA a ser analisado (MULLIS et al., 1986).

Quando comparada às técnicas convencionais, a PCR apresenta maior especificidade justamente por detectar uma região única do genoma bacteriano (SANTANA et al., 2011). Além disso, como o DNA é o alvo principal do diagnóstico molecular, é desnecessário um número elevado de bactérias para identificação do agente (FREITAS, 2008). A PCR também detecta células viáveis não cultiváveis, que também podem causar infecções e que passam despercebidas pelos métodos convencionais (PASSO, 2009).

Câmara et al. (2011) destacam a habilidade da PCR em amplificar DNA por meio de uma simples reação química em um tubo de ensaio, visto que assim é possível clonar rapidamente sequências de tamanhos entre 500 e 2000 pares de base.

Um ponto crítico da técnica é a escolha das sequências que fragmentam o DNA, pois a precisão que esta hibridiza com o DNA alvo, implica diretamente na especificidade da PCR (SANTANA et al., 2011).

Para evitar resultados falso-positivos, temos como exemplo a detecção de *Salmonella* spp., onde a região escolhida é a mesma para a maioria das cepas. As proteínas responsáveis pela patogenicidade da bactéria são codificadas, além de não haver homologia com outros micro-organismos (SANTANA et al., 2011).

Fatores que ajudam na adoção da técnica de PCR pelos laboratórios é a disponibilização da técnica da PCR com fórmulas abertas, não comerciais e não patenteadas, onde informações relacionadas aos reagentes e sequências dos genes estejam disponíveis, para adaptar as técnicas devido à falta de padrões internacionais (FREITAS et al., 2006).

A utilização da PCR aumenta a credibilidade, a velocidade na emissão de laudos e na liberação de lotes de alimentos, assegurando alimentos inócuos. Além disso, novas técnicas em geral trazem um retorno muito positivo para a indústria, já que alta confiabilidade,

sensibilidade, especificidade, tempo de análise e custo são características que só fortalecem a imagem da empresa.

5.5.2 Desvantagens

Um dos maiores obstáculos para a adoção das técnicas moleculares se encontra na legislação brasileira vigente (BRASIL, 2003), que indica a substituição dos métodos tradicionais pelos moleculares apenas quando os convencionais gerarem resultados duvidosos. No entanto, segundo Rodrigues (2013) um fato que pode impulsionar a utilização de ensaios de PCR, é uma normativa que aprova o sistema Bax® System, para detectar *Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes*.

Segundo o mesmo autor diversas barreiras econômicas e técnicas ainda impedem que laboratórios de controle de qualidade adotem a PCR em suas análises, principalmente por causa dos altos investimentos para aquisição de equipamentos. No entanto, há um retorno dos investimentos em longo prazo porque o preço das análises é menor quando comparado aos métodos convencionais.

Quanto aos problemas técnicos destaca-se a falta de protocolos que ainda estão sendo investigados e publicados em diversos trabalhos na área, e que devem ser padronizados para serem implantados de forma consistente nos laboratórios. Soma-se a isso a escassez de mão de obra qualificada capacitada para realizar as técnicas. Ainda podem ser consideradas as dificuldades quanto à administração das indústrias, que precisam adotar inovações, investindo em pesquisas e na recepção de sugestões de melhorias. A técnica de PCR deve, portanto, ser validada para garantir resultados totalmente confiáveis, apresentando especificidade, linearidade, intervalo, precisão, sensibilidade, limite de quantificação e limite de detecção e exatidão adequados à análise (FREITAS et al., 2006).

Algumas características da PCR como a rapidez, seletividade e bom limite de detecção torna essa técnica uma importante alternativa para os métodos convencionais. No entanto ainda há a necessidade de aprovação final e de regulamentos, além de instruções padrões para esta técnica (FREITAS et al., 2006). A aplicação da PCR na detecção de patógenos alimentares, portanto, deverá ser acelerada através da padronização (FREITAS et al., 2006), pois não há nenhuma referencia padrão quanto à equipamentos, reagentes e normas para manipulação das amostras (CÂMARA et al., 2011).

Rodrigues (2013) ao propor um protocolo alternativo ressalta a necessidade de tempo para os ajustes na extração de DNA e na padronização da reação, como também a necessidade

da assistência de profissional especializado para a adequação da técnica e treinamento dos analistas.

Um dos principais problemas da PCR se refere à falta de trabalhos científicos que demonstrem a especificidade e a sensibilidade desta técnica em amostras naturalmente contaminadas. A capacidade do método em detectar amostras contaminadas artificialmente também pode ser muito diferente da necessária para detectar uma carga bacteriana menor em uma infecção natural (CÂMARA et al., 2011).

Ao se desenvolver técnicas de identificação de micro-organismos deve-se, portanto, considerar que a detecção pode ser prejudicada pela quantidade do micro-organismo na amostra, pela interação com outros competidores e inibidores, além da semelhança antigênica com outras bactérias (FREITAS, 2008). Íons magnésio, a quantidade e duração dos ciclos, concentração de dNTPs e de polimerase também podem induzir a alterações. Inibidores como sais biliares, hemoglobina e substâncias sanguíneas podem interferir na sensibilidade da PCR quando a técnica é feita diretamente em carnes, tecidos, sangue e fezes, por impedirem a ligação do iniciador com a sequência alvo (DICKEL et al., 2005; FORTUNA, 2013).

A complexidade do método também dificulta sua utilização em análises de rotina, contudo os *kits* de PCR têm aumentado sua adoção e utilização pelos laboratórios (GANDRA et al., 2008).

6 ANÁLISE CRÍTICA SOBRE O ESTÁGIO

A gestão da qualidade adequada às exigências do mercado torna-se relevante para os frigoríficos. A realização de análises microbiológicas visa justamente comprovar se essas exigências estão sendo atendidas, identificando micro-organismos que representam riscos para o consumidor.

Como pontos positivos pode-se considerar que a empresa onde foi realizado o estágio, cumpre de forma adequada as coletas e análises para avaliar a contaminação microbiológica de seus produtos, verificando cada um dos laudos que retornam do laboratório. No dia-a-dia dentro da indústria, em algumas situações, encontramos não conformidade, porém ações corretivas são tomadas de acordo com os programas de autocontrole.

A alta produtividade do setor avícola só foi possível a partir do desenvolvimento de novas linhagens animais, que se desenvolvem melhor e em menos tempo. Garantir que essa carne é de alta qualidade, também envolve a utilização de métodos microbiológicos, e técnicas moleculares tornam essa identificação mais rápida e eficiente.

Durante a realização das atividades do estágio, foi possível observar como o setor da gestão da qualidade é complexo, pois exige desde conhecimentos técnicos tanto na área de tecnologia de alimentos quanto de administração, bem como conhecimentos na área de gestão de pessoas. Observou-se também que essa é uma área que envolve diversos profissionais, integrando o conhecimento de médicos veterinários, nutricionistas, biólogos, engenheiros de produção, contribuindo para uma gestão mais eficaz e completa.

Como profissional da área da biotecnologia, trabalhos em equipe são fundamentais, e essa habilidade foi testada com sucesso durante o estágio. Além disso, profissionais que estejam sempre informados sobre desenvolvimentos tecnológicos são necessários em todas as áreas. A graduação também permite melhor entendimento dos motivos de preocupação com micro-organismos específicos. O estágio proporcionou relacionar os conhecimentos na área de microbiologia durante a graduação com o controle de qualidade da indústria.

Compreender o funcionamento de indústrias é fundamental para qualquer profissão, sendo importante que ela não se restrinja a somente a sua área técnica, mas também administrativa e de desenvolvimento, estando atenta a possibilidade de inovações tecnológicas. Diante disso, apresenta-se como sugestão a substituição de métodos convencionais pelos modernos, como a PCR.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Foi possível observar que a empresa C.Vale prioriza o controle de qualidade, visto que sua missão é produzir alimentos com qualidade. Além disso, sua produção deve atender altos padrões de qualidade, pois atende tanto o mercado interno quanto externo.

Com o estágio foi possível acompanhar as diversas atividades, que em conjunto se mostram eficientes no controle de qualidade, tais como a aplicação dos planos HACCP, BPF e PPHO, além do controle microbiológico. A oportunidade do estágio também foi muito válida, visto que foi possível compreender o funcionamento de uma grande indústria de alimentos, como diversos fatores influenciam na produtividade e na qualidade, e como os mesmos estão integrados. Também foi possível entrar em contato com as dificuldades que surgem durante a rotina de trabalho e agilidade para resolver esses problemas, além da habilidade em dialogar e argumentar com todas as pessoas envolvidas no processo, desde os auxiliares de produção até encarregados e supervisores do processo.

A importância do trabalho em equipe também ficou muito clara durante o estágio, visto que um grande resultado só é possível quando cada um faz a sua parte e ao mesmo

tempo é cooperativo com os outros profissionais. A área de gestão da qualidade permitiu unir os conhecimentos teóricos a prática, demonstrando que nenhum conhecimento é utilizado de forma isolada, pelo contrário, há uma grande integração entre as informações. A experiência também proporcionou contato com o mercado de trabalho, contribuindo para o desenvolvimento profissional e pessoal.

8. REFERÊNCIAS

ARORA, K.; CHAND S.; MALHOTRA, B. D. Recent developments in bio-molecular electronics techniques for food pathogens. **Analytica Chimica Acta**, v. 569, *issue* 1-2, p. 259-274, 2006.

BARREIRO, F. B.; AMARAL, L. A.; BARALDI-ARTONI, S. M.; BALDIN, J. M.; MORAES, M. C. P.; BARBOSA, J. C. **Efeito da adição de cloro na água durante jejum pré-abate de frangos de corte na população de Enterococcus no conteúdo cecal.** In. CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 38., 2011, Florianópolis. Resumo. Disponível em: <<http://www.sovergs.com.br/site/38conbravet/resumos/324.pdf>>. Acesso em: 28/07/2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria n. 1428, de 26 de novembro de 1993. **Dispõe sobre o controle de qualidade na área de alimentos.** Diário Oficial da União, Brasília, DF, p. 18415-9, 2 dez. 1993. Seção I.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria n. 326, de 30 de julho de 1997a. Aprova o regulamento técnico "**Condições Higiênico-Sanitárias e de Boas Práticas de Fabricação para Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Alimentos**". Diário Oficial da União, Brasília, DF, p. 16560-3, 1 ago. 1997. Seção I.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Portaria n. 368, de 04 de setembro de 1997b. **Regulamento Técnico sobre as Condições Higiênico - Sanitárias e de Boas Práticas de Fabricação para Estabelecimentos Elaboradores/Industrializadores de Alimentos.** Diário Oficial da União, 08 set. 1997.

BRASIL. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal/Secretaria de Defesa Agropecuária. Resolução n. 10 de 22/05/2003. **Programa genérico de procedimentos padrão de higiene operacional – PPHO.** Diário Oficial da União, Brasília, DF, 22 mai. 2003.

BRYAN, F.L. **Procedures to implement the hazard analysis critical control point system.** Ames, International Association of Milk, Food and Environmental Sanitarians, Inc., 1991.

BUENO, M. P.; ARAÚJO, G. C.; FRATA, A. M.; SPROESSER, R. L.; SAUER, L. **Gestão da qualidade nos frigoríficos de abate e processamento de frangos em Mato Grosso do Sul.** Trabalho apresentado no XLV Congresso da Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociologia Rural, Londrina, 2007.

CÂMARA, S. R.; PORTO, A. L. F.; LAVOR, C. T. B.; SOBRAL, M. H. N. R. Salmonelose: fatores envolvidos no processo de diagnóstico e importância para a saúde pública. **Jornal Ciência Animal**, v. 21, n. 1, p. 54-64, 2011.

CONTRERAS, J.C.; ET AL. Higiene e sanitização na indústria da carne e derivados. São Paulo, Editora Varela, 2003.

C. VALE. **Manual de Integração**, Palotina, 27 p., 2013.

DICKEL, E. L.; RODRIGUES, L. B.; SANTOS, L. R.; VALLE, S. F.; PILOTTO, F.; RODEMBUSH, C.; WALD, V. B.; CANAL, C. W.; NASCIMENTO, V. P. Análise comparativa entre microbiologia convencional, ELISA e PCR para detecção de *Salmonella enteritidis*, *S. typhimurium*, *S. gallinarum* e *S. pullorum* em carne de frango contaminada artificialmente. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 12, n. 1/3, p. 5-10, 2005.

DYCE, J.M.; SACK, W.O.; WENSING, C.I.G. **Tratado de anatomia veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 783, 1997.

FREITAS, E.; LEMOS, A. A.; MARIN, V. A. Validação de métodos alternativos qualitativos na detecção de patógenos alimentares. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 11, n. 4, p. 1073-1083, 2006.

FREITAS, C. G. **Adaptação da técnica de PCR múltipla para a identificação de *Salmonella sp.* e dos sorotipos *Typhi*, *Enteritidis* e *Typhimurium* por em carcaças e miúdos de aves comercializados no Distrito Federal**. 65 f. Dissertação (Mestrado em Saúde Animal). Universidade de Brasília, Brasília, 2008.

FORTUNA, J. L. **Pesquisa de *Salmonella spp.* em hambúrguer cru utilizando a metodologia microbiológica convencional, o método Salmosyst e o método de reação em cadeia da polimerase**. 228 f. Tese (Doutorado em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal). Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2013.

FORSYTHE, S.J. **Microbiologia da Segurança Alimentar**, São Paulo: Artmed, 2002.

FRANCO, B.D.G.M., LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2008.

FORTES, M. B. **Sistema análise de perigos e pontos críticos de controle – APPCC, em uma indústria de embutidos de frango e suas implicações para a competitividade**. 82 f. Dissertação (Mestrado em Agronegócio). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Passo Fundo, 2002.

GANDRA, E. A.; GANDRA, T. K.V.; MELLO, W. S.; GODOI, H. S. Técnicas moleculares aplicadas à microbiologia de alimentos. **Acta Scientiarum Technology**, v. 30, p.109-118, 2008.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS – ICMSF. **Microbial ecology of foods**. New York: Academic Press, 1980. V. 2, p. 333-997.

ISOLAN, L. W. **Estudo da eficiência da etapa de pré-resfriamento por imersão em água no controle de qualidade microbiológica das carcaças de frango.** 83 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias). Porto Alegre, 2007.

LEITÃO, M. F. F. Controle Microbiológico da qualidade no processamento industrial de bovinos. In: Ciência e tecnologia da carne bovina. Campinas: CTC/ITAL, 1995. p. 89-96.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E ABASTECIMENTO. Secretaria de Defesa Agropecuária. Regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de carne mecanicamente separada (CMS) de aves, bovinos e suínos. Diário Oficial, 05 abr. 2000. p. 6-7. Instrução Normativa, 4 - Anexo 1.

MAPA. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**, 2013. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/animal/especies/aves>>. Acesso em 08/07/2013.

MULLIS, K.; FALOONA, F.; SCHARF, S.; SAIKI, R.; HORN, G. & ERLICH, H. **Specific Enzymatic Amplification of DNA InVitro: The Polymerase Chain Reaction.** Cold Spring Harbor Simp. Quant. Biol., n. 1, p. 263-273, 1986.

PELCZAR JR., M.J.; CHAN, E.C.S.; KRIEG, N.R. **Microbiologia, Conceitos e Aplicações.** 2ed.v. 2. São Paulo: Makron Books, 1996.

OLIVEIRA, A. V. B. **Avaliação microbiológica de carnes de frangos de corte comercializadas em granjas produtoras no município de Patos – PB.** 81 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Universidade Federal de Campina Grande, Pombal, 2010.

OLIVEIRA, A. V. B.; SILVA, R. A.; ARAÚJO, A. S.; BRANDÃO, P. A.; SILVA, F. B. Padrões microbiológicos da carne de frango de corte – Referencial teórico. **Revista Verde.** Mossoró, v.6, n.3, p. 01-16, 2011.

PASSO, M. C. S. U. C. **Avaliação de métodos moleculares para avaliação da qualidade e da segurança microbiológicas em produtos alimentares.** 50 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Aplicada). Universidade de Lisboa, Lisboa, 2009.

RISSATO, D. P.; BORGIO, A. P.; MOREIRA, J. P.; BAPTISTA, F.; CONTI, A. C. Detecção de *Salmonella* spp. em água de lavagem de carcaças de frango utilizando o método de reação em cadeia da polimerase (PCR). **Revista Saúde e Pesquisa**, v. 4, n. 1, p. 35-39, 2011.

RODRIGUES, M. X. **Proposta de inovação tecnológica no controle de qualidade da produção agroindustrial.** 104 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Produção). Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Ponta Grossa, 2013.

SANTANA, E. S.; OLIVEIRA, F. H.; ROCHA, T. M.; SANTANA, R. R.; ANDRADE, M. A. abordagem sobre *Salmonella* sp. com enfoque na caracterização, patogênese e métodos de diagnóstico. **Enciclopédia biosfera**, v. 7, p. 12, 2011.