

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ERTON GOMES DA SILVA



**EFEITO DA REDUÇÃO DA VAZÃO DE ÁGUA NO CHUVEIRO DE LAVAGEM
FINAL SOBRE A CONTAMINAÇÃO SUPERFICIAL DE CARCAÇAS DE FRANGO
APÓS O PRÉ-RESFRIAMENTO EM *CHILLER***

PALOTINA

2017

ERTON GOMES DA SILVA

**EFEITO DA REDUÇÃO DA VAZÃO DE ÁGUA NO CHUVEIRO DE LAVAGEM
FINAL SOBRE A CONTAMINAÇÃO SUPERFICIAL DE CARCAÇAS DE FRANGO
APÓS O PRÉ-RESFRIAMENTO EM *CHILLER***

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal, no Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, área de concentração em Saúde Animal, linha de pesquisa em Microbiologia Aplicada a Produção Animal, Setor Palotina, da Universidade Federal do Paraná,

Orientador: Prof. Dr. Luciano dos Santos Bersot

PALOTINA

2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

S586 Silva, Erton Gomes da
Efeito da redução da vazão de água no chuveiro de lavagem final sobre a contaminação superficial de carcaças de frango após o pré-resfriamento em *chiller* / Erton Gomes da Silva.
-- Palotina, 2017
63f.

Orientador: Luciano dos Santos Bersot
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Setor Palotina, Programa de Pós-graduação em Ciência Animal.

1. Consumo de água. 2. Lavagem de carcaças de frango. 3. Micro-organismos indicadores. 4. Qualidade microbiológica.
I. Bersot, Luciano dos Santos. II. Universidade Federal do Paraná. III. Título.

CDU 636.5



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
Setor PALOTINA
Programa de Pós-Graduação CIÊNCIA ANIMAL

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIA ANIMAL da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da Dissertação de Mestrado de **ERTON GOMES DA SILVA** intitulada: **EFEITO DA REDUÇÃO DA VAZÃO DE ÁGUA NO CHUVEIRO DE LAVAGEM FINAL SOBRE A CONTAMINAÇÃO SUPERFICIAL DE CARÇAÇAS DE FRANGO APÓS O PRÉ-RESFRIAMENTO EM CHILLER**, após terem inquirido o aluno e realizado a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de mestre está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

Palotina, 30 de Maio de 2017.

LUCIANO DOS SANTOS BERSOT

Presidente da Banca Examinadora (UFPR)

EDNA TEREZA DE LIMA

Avaliador Interno (UFRR)

JULIA ARANTES GALVÃO

Avaliador Externo (UFPR)

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Erton Gomes da Silva, filho de Vicente José da Silva e Aparecida Pereira Gomes da Silva, nascido em Guaira-Paraná, em 24 de junho de 1985. Médico Veterinário formado pela Universidade Federal do Paraná – Setor Palotina no ano de 2012. Atua na Gestão da Qualidade e Segurança dos Alimentos em indústria de abate e processamento de aves desde 2014. Em 2015 ingressou no mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da UFPR – Setor Palotina na linha de pesquisa Microbiologia Aplicada a Produção Animal.

Dedico...

*Aos meus pais Aparecida e Vicente
que me deram a vida, o amor e valores.
Me incentivam e me apoiam sempre a
busca pelo conhecimento. Sei que
sempre posso contar com vocês. Amo
vocês!*

AGRADECIMENTOS

Primeiramente à Deus pela vida, saúde, sabedoria a mim concedidos. Renovando a cada dia minhas forças para seguir em frente e não desistir, o verdadeiro refúgio e fortaleza nos momentos mais difíceis.

Aos meus irmãos Jane, Carlos e Cláudia e sobrinhos que pelo simples fato de existirem me dão forças diariamente, e não me deixam desistir. E pelas orações diárias para que tudo de melhor aconteça sempre.

À minha avó que sempre ensinou valores essenciais para minha vida pessoal e profissional. Devido ao seu quadro de saúde atual, infelizmente temos um diálogo, mas saiba que guardo todos seus ensinamentos comigo. Mas um abraço diz muitas palavras. Deus a abençoe!

Ao Prof. Luciano por acreditar em mim, aceitando o convite como meu orientador, mesmo eu não podendo me dedicar exclusivamente devido conciliar com meu trabalho. Sou muito grato por esta e outras orientações. O gosto pela microbiologia e qualidade dos produtos de origem animal, se concretizou após conhecer um dos seus maiores projetos profissionais: LACOMA. Parabéns! E obrigado por compartilhar seus conhecimentos!

À Marina, Taís e Giovana que ajudaram nas coletas de amostras e análises microbiológicas, vocês foram peças-chaves para realização desse projeto. Obrigado!

A todos do LACOMA (residentes, estagiários, mestrandos, doutorandos) colaboram com este projeto de forma direta ou indireta. Em especial a Rosana pela amizade de longa data e por oferecer suporte nas análises microbiológicas nos dias que mais precisei, meu muito obrigado!

Ao Prof. Sérgio que não mediu tempo e nem esforço para explicar e discutir sobre as análises estatísticas dadas, contribuição fundamental para este projeto. Obrigado Professor!

Aos meus colegas de trabalho que me apoiaram e auxiliaram nas minhas atividades quando precisei me ausentar, e pelo apoio e amizade no cotidiano, obrigado!

À empresa a qual trabalho pela flexibilidade de horários para que eu pudesse desenvolver esse projeto e agregar mais conhecimento. Obrigado!

Ao Frigorífico que abriu suas portas para que o projeto fosse realizado e pela ajuda de custos, obrigado pela parceria.

***Seja resoluto, não tenha medo
de sacrifícios e derrube todas as
dificuldades para a vitória.***

(MAO TSÉ-TUNG)

RESUMO

Estabelecimentos de abate de aves utilizam grandes volumes de água para o abate e processamento de carcaças de frangos. Uma dessas etapas é a lavagem final das carcaças com água pressurizada. Etapa que ocorre após a evisceração. Para atender a legislação vigente são usados no mínimo 1,5 litros de água por carcaça abatida diariamente, a fim de remover a contaminação superficial. Essa lavagem demanda volume significativo de água ao se considerar o consumo total de um abatedouro em um dia de trabalho. A partir destas constatações, o objetivo deste estudo foi avaliar a possível redução do volume de água a ser utilizado neste ponto da linha de abate, bem como comparar a contaminação microbiana das carcaças antes e após a lavagem e também após o pré-resfriamento das carcaças por imersão em *chillers*. As coletas de amostras foram realizadas em um abatedouro de aves de grande porte, em três pontos diferentes da linha de abate, antes e após a lavagem das carcaças e após o *chiller*. Foram realizadas análises de contagens para os grupos de micro-organismos indicadores de higiene mais comumente utilizados: aeróbios mesófilos, enterobactérias, coliformes totais e *Escherichia coli*. Neste estudo, a influência do estágio de lavagem sobre a contaminação superficial das carcaças de frango é mostrada em relação a quantidade de água utilizada. Nos resultados obtidos pode-se observar que a redução da contagem Log UFC/cm² não foi significativamente diferente entre volume preconizado pela legislação (1,5 L) em relação a redução do volume para 1/3 (1L). Bem como as contagens realizadas após o *chiller*, para os três tratamentos avaliados (0L, 1L, 1,5L) também não demonstraram diferença significativa das contagens realizadas antes da lavagem. A quantidade de água usada para lavagem influenciou coliformes totais e *Escherichia coli*. Não afetou aeróbios mesófilos e enterobactérias, nas contagens antes e após a lavagem. Assim, é possível rever o volume de água preconizado atualmente, reduzindo a captação de água, formação de efluentes e despejo em rios e, conseqüentemente custos, fazendo melhor uso da água e mantendo a qualidade microbiológica das carcaças.

Palavras-chave: Consumo de água. Lavagem de carcaças de frango. Micro-organismos indicadores. Qualidade microbiológica.

ABSTRACT

In poultry slaughterhouse establishments use large volumes of water to the slaughter and processing of chicken carcasses. One of those stages is the final washing of carcasses with pressurized water. Stage the is after the gutting. To comply current legislation are used at least 1.5 litres of water per carcass slaughtered daily, in order to remove the surface contamination. The washing stage demand a significant amount of water when considering the total consumption of a slaughterhouse in a day's work. From these observation, the aim of this study was to evaluate the possible reduction of the amount of water to be used at this in the slaughter line, as well as compare the microbial contamination of carcasses before and after washing and also after pre-cooling of the carcasses by immersion in chiller. The samples were collected at a large poultry slaughterhouse in three different points of the slaughter line, before and after the washing of carcasses and after the chiller. Analyses were undertaken of counts for the groups of microorganisms most commonly used hygiene indicators: mesophilic aerobic, Enterobacteriaceae, total coliform and *Escherichia coli*. In this study, the influence of the wash stage on the surface contamination of carcasses of chicken is shown in relation to the amount of water used. The results obtained can be noted that reducing the count Log CFU/cm² was not significantly different between volume recommended by legislation (1.5 L) regarding the reduction of the volume to 1/3 (1L). As well as the counts carried out after the chiller for the three evaluated treatments (0 L, 1 L, 1.5L) is also not demonstrated significant difference of the counts carried out before washing. The amount of water used for washing influenced total coliforms and *E. coli*. Aerobic mesophilic and Enterobacteriaceae did not affect, in the counts before and after washing. Thus, it is possible to review the currently recommended water flow, reducing the water capture, training and dumping effluents into rivers and consequently costs, making better use of water and maintaining the microbiological quality of the carcasses.

Key-words: Water consumption. Washing of chicken broilers. Indicators Microorganisms. Microbiological quality.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – ETAPA DE LAVAGEM E PRÉ-RESFRIAMENTO POR IMERSÃO. PONTOS DE COLETAS A, B, E C.....	36
FIGURA 2 – MANOVACUÔMETRO DEMONSTRANDO A PRESSÃO DA REDE DE ÁGUA UTILIZADA NO CHUVEIRO DE LAVAGEM	37
FIGURA 3 – CHUVEIRO DE LAVAGEM NA PARTE INICIAL DA CABINE COM OS BICOS ASPERSORES LIGADOS E POSICIONADOS PARA NÓREA COM FRANGOS.....	38
FIGURA 4 – ÁREAS AMOSTRADAS NA CARÇAÇA COM MOLDE, PEITO E DORSO. LACRE UTILIZADO PARA IDENTIFICAÇÃO DAS AMOSTRAS	40

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1 – DIFERENÇA DA CONTAMINAÇÃO ENTRE OS PONTOS A E C EM CADA TRATAMENTO (T1, T2, T3) EM TODOS GRUPOS DE MICRO-ORGANISMOS AVALIADOS.	47
---	----

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 – PRINCIPAIS MICRO-ORGANISMOS INDICADORES USADOS PARA AVALIAR A QUALIDADE E HIGIÊNE DOS ALIMENTOS.....	31
QUADRO 2 – SEQUÊNCIA DE TRATAMENTOS PARA CADA REPETIÇÃO	39

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – RESULTADO DE ANOVA PARA OS TRÊS TRATAMENTOS (T1, T2, T3) E DOIS PONTOS DE COLETA (A, C) E A INTERAÇÃO ENTRE ELES PARA TODAS AS VARIÁVEIS MICROBIOLÓGICAS ESTUDADAS.....	43
TABELA 2 – MÉDIAS (LOG UFC/cm ²) E DESVIO PADRÃO (DP) DAS CONTAGENS DE AM, EB, CT E EC PARA CARÇAÇAS DE FRANGO SUBMETIDAS AOS TRATAMENTOS T1, T2 E T3 ENTRE OS PONTOS A E C.....	44
TABELA 3 – RESULTADO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA (ANOVA) PARA OS GRUPOS MICRO-ORGANISMOS AVALIADOS EM RELAÇÃO AOS VOLUMES DE ÁGUA TESTADOS, OS PONTOS DE COLETA E SUAS INTERAÇÕES.	48
TABELA 4 – MÉDIAS E DESVIO PADRÃO (DP) (Log UFC/cm ²) PARA CONTAGEM DE AERÓBIOS MESÓFILOS NOS TRÊS PONTOS (A, B, C) EM CARÇAÇAS DE FRANGO QUE FORAM SUBMETIDAS A LAVAGEM COM DOIS VOLUMES DE ÁGUA (T2 E T3).....	49
TABELA 5 – MÉDIAS E DESVIO PADRÃO (DP) (Log UFC/cm ²) PARA CONTAGEM DE ENTEROBACTÉRIAS NOS TRÊS PONTOS (A, B, C) EM CARÇAÇAS DE FRANGO QUE FORAM SUBMETIDAS A LAVAGEM COM DOIS VOLUMES DE ÁGUA (T2 E T3).....	49
TABELA 6 – MÉDIAS E DESVIO PADRÃO (DP) (Log UFC/cm ²) PARA CONTAGEM DE COLIFORMES TOTAIS NOS TRÊS PONTOS (A, B, C) EM CARÇAÇAS DE FRANGO QUE FORAM SUBMETIDAS A LAVAGEM COM DOIS VOLUMES DE ÁGUA (T2 E T3).....	51
TABELA 7 – MÉDIAS E DESVIO PADRÃO (DP) (Log UFC/cm ²) PARA CONTAGEM DE <i>Escherichia coli</i> NOS TRÊS PONTOS (A, B, C) EM CARÇAÇAS DE FRANGO QUE FORAM SUBMETIDAS A LAVAGEM COM DOIS VOLUMES DE ÁGUA (T2 E T3).....	51
TABELA 8 – MÉDIA DE REDUÇÃO DAS VARIÁVEIS MICROBIOLÓGICAS ESTUDADAS ENTRE OS PONTOS A E B PARA OS TRATAMENTOS T2 E T3.	53

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AMR	- Avaliação de Risco Microbiológico
APPCC	- Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle
BPF	- Boas Práticas de Fabricação
DIPOA	- Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal
IBGE	- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
MAPA	- Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento
PCA	- Contagem Padrão em Placas
PSO	- Procedimentos Sanitários Operacionais.
PPHO	- Procedimento Padrão de Higiene Operacional
RDC	- Resolução de Diretoria Colegiada
UFC	- Unidade Formadora de Colônia

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
1.1	OBJETIVOS	19
1.1.1	Objetivo Geral.....	19
1.1.2	Objetivos Específicos	19
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	20
2.1	PRODUÇÃO DE ALIMENTOS E O USO DA ÁGUA EM ABATEDOUROS DE AVES.....	20
2.2	GESTÃO DA QUALIDADE E SEGURANÇA DOS ALIMENTOS.....	22
2.3	QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE CARÇAÇAS DE FRANGO	26
2.4	MICRO-ORGANISMOS INDICADORES	28
2.4.1	Aeróbios Mesófilos	32
2.4.2	Enterobactérias.....	33
2.4.3	Coliformes Totais.....	33
2.4.4	Escherichia coli.....	34
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	36
3.1	AMOSTRAGEM E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	36
3.2	COLETA DE AMOSTRAS	38
3.3	ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS	40
3.3.1	Contagem de Aeróbios Mesófilos	40
3.3.2	Contagem de Enterobactérias	40
3.3.3	Contagem de Coliformes totais e Escherichia coli.....	41
3.4	ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	41
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
4.1	CARGA MICROBIANA SUPERFICIAL DAS CARÇAÇAS NO PONTO A E NO PONTO C.....	43
4.2	CARGA MICROBIANA SUPERFICIAL DAS CARÇAÇAS ANTES E APÓS A LAVAGEM.....	47
5	CONCLUSÕES	55
	REFERÊNCIAS.....	56
	APÊNDICE A – RESULTADOS DAS ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS (LOG UFC/CM²) DOS MICRO-ORGANISMOS INDICADORES ESTUDADOS NAS AMOSTRAS DE CARÇAÇAS DE FRANGO EM CADA REPETIÇÃO.	62

1 INTRODUÇÃO

Abatedouros de aves no Brasil e em todo mundo têm importante papel na produção de alimentos. Isso se deve aos avanços tecnológicos e pesquisas aplicadas em toda cadeia avícola, principalmente em manejo de produção, genética e nutrição, que mantêm contínua essa expansão, tornando-a cada vez mais competitiva com baixos custos de produção e preços dos produtos mais atrativos para o consumidor.

Boas práticas de fabricação, controle de temperatura ambiente e dos produtos, higienização de equipamentos e utensílios, qualidade da água, entre outros, são fundamentais para garantir a inocuidade e qualidade da carne de frango produzida permitindo a redução da contaminação de micro-organismos patogênicos, e riscos físicos e químicos.

Tratando-se de abate e processamento da carne de aves, a água é um recurso natural de suma importância para os abatedouros pois, com ela, é possível manter equipamentos e instalações em adequadas condições higiênicas para produção da carne. Na produção de carne de aves a água é utilizada principalmente na escaldagem, para facilitar a retirada das penas, na lavagem das carcaças antes e após e evisceração, no pré-resfriamento para resfriar as carcaças em *chillers*, na limpeza e desinfecção das instalações e equipamentos, no resfriamento de bombas de compressores, além do uso na higienização diária de todas as instalações.

Na década de 70 foi realizado um estudo que revelou um gasto médio de 35,9 litros de água por ave abatida, variando substancialmente entre as plantas que gerenciavam melhor este recurso (USEPA, 1975). A partir da década de 90 essa média foi reduzida, oscilando entre 13 a 26 litros por frango abatido (CAST 1995; NORTHCUTT e JONES, 2004).

No Brasil em estudo de caso realizado no estado do Paraná verificou-se uso médio de 26 litros por ave abatida, semelhante ao resultado encontrado nos Estados Unidos da América (FORMENTINI *et. al.*, 2010), e um pouco acima dos dados encontrados em Pernambuco, cuja média foi de 23,5 L/ave (SILVA, 2007).

Segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) até o segundo trimestre de 2016 foram abatidas 2,97 bilhões de cabeças de frango e esse número tem sido crescente desde de 2011 (BRASIL, 2016). Tendo como base os estudos de consumo de água citados anteriormente e os dados do IBGE, a média

nacional é de 24,75 litros por ave e com um consumo de 73, 5 bilhões de litros no segundo trimestre de 2016. Somente para lavagem de carcaças foram gasto 4,45 bilhões de litros no chuveiro final antes do sistema de pré-resfriamento em *chiller*, considerando 1,5 litros por ave no chuveiro final, conforme preconizado pela portaria nº 210/1998 do Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal – DIPOA (BRASIL, 1998).

Admitindo a necessidade do gerenciamento e uso sustentável da água, da escassez de dados científicos específicos da importância do volume de água gasto no chuveiro final para a qualidade microbiológica das carcaças de frango e, considerando a importância e o impacto desta etapa em relação a qualidade do produto final e ao consumo de água em abatedouros de aves, o presente trabalho teve por objetivo avaliar a eficácia da vazão de água utilizada no chuveiro final sobre a contaminação microbiana superficial de carcaças de frango.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

Avaliar o efeito do volume de água na etapa de lavagem final (chuveiro final) ou retirada do chuveiro sobre a contaminação superficial de carcaças de frango por micro-organismos indicadores de higiene representados por aeróbios mesófilos, enterobactérias, coliformes totais e *Escherichia coli*

1.1.2 Objetivos Específicos

- a) Testar a hipótese de que mesmo com redução do volume de água dos aspersores no sistema de lavagem das carcaças a eficiência da lavagem superficial será a semelhante;
- b) Comparar a carga microbiana superficial das carcaças antes e após a lavagem final com vazões menores das preconizadas pela legislação atual, como forma de avaliar a eficácia da lavagem final;
- c) Avaliar a carga contaminante superficial das carcaças ao final do pré-resfriamento, a fim de verificar se após esta etapa as carcaças se encontram dentro dos padrões microbiológicos exigidos na legislação vigente.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 PRODUÇÃO DE ALIMENTOS E O USO DA ÁGUA EM ABATEDOUROS DE AVES

A demanda por alimentos vem aumentando consideravelmente impulsionada pelo aumento da população mundial, que segundo a projeção da Organização das Nações Unidas – ONU, aumentará 1,2 bilhões até 2030, chegando aos 8,5 bilhões de pessoas (ONU, 2015).

A indústria avícola deverá ser capaz de atender uma parcela significativa dessa demanda, pois tem contribuído expressivamente para produção global de alimentos e tem se tornado cada vez mais importante na produção mundial de proteína animal (FAO, 2016).

Atualmente a carne de frango é uma das carnes mais consumidas no mundo, o que contribui para isso é o seu baixo custo e ter um bom valor nutricional quando comparado a outros alimentos (FAO, 2016), isso faz com que seja mais competitiva em relação a carne bovina e suína. No ano de 2015 a média de consumo per capita no Brasil foi de 43,23 Kg, 65% a mais que o consumo da carne suína, total de 15,1 Kg per capita (ABPA, 2016).

O Brasil hoje é o maior exportador de carne de aves e segundo maior em produção, atrás somente dos Estados Unidos. A maior produção está concentrada na Região Sul, que no ano de 2015 abateu 60,83% do total de frangos, desse total o estado Paraná abateu 32,64% se mantendo na liderança nacional entre os estados brasileiros (ABPA, 2016).

A importância na produção de alimentos está atrelada a garantia de alimento suficiente para 7 bilhões de pessoas no mundo. E para manutenção e expansão dessa produção é necessário que seja sustentável, ou seja, com preservação de recursos naturais disponíveis, como por exemplo a água, que é fundamental para as atividades da indústria de alimento.

Em abatedouro de aves a quantidade de água utilizada por ave abatida pode variar de um estabelecimento para outro e depende de fatores como tamanho da ave (frango, perus), método de limpeza de carcaça e grau de automação. Em geral, a área total utilizada para o processamento é um dos fatores que afeta a o consumo

de água (CAST 1995; NORTHUTT e JONES, 2004; SILVA, 2007; FORMENTINI et. al., 2010).

Para atender requisitos de legislação relacionados a higiene e limpeza abatedouros de aves devem higienizar e sanitizar completamente suas instalações e equipamentos no mínimo uma vez por dia. Além de manter higienização contínua do ambiente de processamento durante as atividades (BRASIL, 2005b). No abate de aves, os maiores consumos de água são as etapas de escalda e pré-resfriamento das carcaças, e a higienização. A escalda é realizada em tanques com água quente, sendo necessária para facilitar a retirada das penas da carcaça, e deve ter renovação contínua da água. O resfriamento por imersão em *chillers* conta com renovação contínua de água gelada controlando a carga microbiana na água e também das carcaças devido reduzir a temperatura na saída do chiller. A legislação atual institui renovação de 1,5 L/ave litro no primeiro tanque e 1 L/ave nos tanques subsequentes (BRASIL, 1998).

Northcutt e Jones (2004), observaram que em plantas de abate de aves após a implementação do APCC houve um aumento de aproximadamente 6 litros de água por ave abatida, se acreditava que grandes volumes de água pressurizada fisicamente poderiam retirar a contaminação da superfície das carcaças.

Segundo Jaffe e Phillips (2004), antes de entrar em vigor o regulamento para implementação do APPCC, o *chiller* era tido como principal etapa para redução de patógenos no processo de abate. Após o regulamento, cabines de enxague com grandes volumes de água passaram a ser considerados pontos chaves para redução da contaminação microbiológica. Para os autores a indústria enfrenta agora o problema de como equilibrar segurança dos alimentos com a conservação de água e ainda permanecer no negócio.

Carawan e Marka (1996) indicaram que os custos com a água e esgoto para abatedouro de aves aumentaram quase dez vezes durante as últimas duas décadas e a tendência é projetada para continuar aumentando. Estes aumentos são devido a: custos com efluentes, qualidade e disponibilidade da água pelo aumento da poluição, a fiscalização e multa de órgãos governamentais em relação a poluição, a imagem da empresa pode ser afetada negativamente se não seguir normas e atuar sem prejuízos ao meio ambiente.

De acordo com o *Environmental Technology Best Practice Programme* (ETBPP) (2000), do Reino Unido, o consumo ideal para um bom gerenciamento hídrico fica entre 8 e 15 litros por ave, considerado o uso racional para um abatedouro de aves.

Estudos realizados no Brasil foi observado que a média de uso da água nos abatedouros de aves foi de aproximadamente de 24,7 L/ave (FORMENTINI *et. al.*, 2010; SILVA, 2007).

Para fazer um bom gerenciamento é necessário realizar aferições, portanto para gerir o uso da água deve-se começar realizando uma avaliação do consumo diário, semanal, mensal e assim implementar ações para reduzir desperdícios. Para a indústria a gestão do uso da água, além da contribuição ambiental, deve proporcionar vantagens econômicas e comerciais, tornando-a mais competitiva pois o consumidor globalizado preza por empresas que gerem menor impacto ambiental. Além disso, abatedouros de aves são importantes consumidores da água devendo, portanto, fazer o gerenciamento hídrico da melhor forma possível, evitando a poluição e escassez desse recurso essencial para sua sustentação e de forma grandiosa também para a humanidade.

2.2 GESTÃO DA QUALIDADE E SEGURANÇA DOS ALIMENTOS

Os objetivos da produção de um alimento seguro são prevenir, eliminar ou reduzir riscos relacionados a ingestão de alimentos. Para isso uma análise e levantamento dos potenciais riscos de uma determinada produção devem ser considerados (ICMSF, 2011). Após definição dos riscos deve haver ações preventivas ou corretivas que devem ser tomadas em caso de desvios, assegurando a conformidade do produto e processo de acordo com os critérios estabelecidos. (CODEX, 1997; ICMSF, 2011).

O controle da contaminação e multiplicação de micro-organismos em alimentos, seja patogênico ou não, pode ser gerenciado pelo uso correto e boa integração das ferramentas de qualidade como: Boas Práticas de Fabricação (BPF), Boas Práticas de Higiene (BPH), Procedimentos Sanitários Operacionais (PSO), Análises de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC), Avaliação de Risco Microbiológico (ARM) e Gestão da Qualidade e Gestão da Qualidade Total

(FORSYTHE, 2002). Estas ferramentas podem ser implementadas de forma padronizada em todo o mundo, facilitando a comunicação e comercialização de alimentos, resultando em alimentos seguros e de qualidade (FORSYTHE, 2002; PIERSON, ZINK e SMOOT, 2007). Esses programas podem direcionar as ações na indústria de alimentos no desenvolvimento e implementação dos diferentes programas de qualidade.

A efetividade dos programas de qualidade está relacionada ao correto monitoramento, medidas de controle propostas e critérios de microbiológicos pré-estabelecidos para determinar a qualidade de um alimento. Estes critérios são estabelecidos de acordo com a legislação de cada país, e internacionalmente pelo *Codex Alimentarius* (PIERSON, ZINK e SMOOT, 2007; FRANCO e LANDGRAF, 2008). A definição de critério microbiológico para o *Codex Alimentarius* tem como base o plano amostral de onde e quando as amostras devem ser coletadas e o número de amostras; a metodologia analítica para detecção e quantificação; definição do micro-organismos a ser pesquisado no produto; e padrão microbiológico do alimento (FRANCO e LANDGRAF, 2008).

Dentre os critérios microbiológicos citados, conhecer o micro-organismos a ser pesquisado e o padrão microbiológico do produto amostrado é fundamental para definir se o alimento está ou não apto para o consumo. Para esta avaliação o ICMSF (2011) classifica os micro-organismos em três categorias:

1- Micro-organismos que não oferecem risco direto a saúde: não patogênicos e com risco limitado para causar alteração nos alimentos: fungos e bactérias aeróbias mesófilas;

2- Micro-organismos que oferecem risco indireto a saúde: incluem os micro-organismos indicadores que indicam a condição higiênico-sanitária do produto, podendo ainda indicar uma possível presença de micro-organismos patogênicos. Além de poder causar alterações nas características originais do alimento;

3- Micro-organismos que oferecem risco a saúde: todos os micro-organismos patogênicos de interesse em alimentos.

A legislação nacional, através da Circular 175 (BRASIL, 2005a) determina os elementos de inspeção necessários para manter um programa de gestão da qualidade na elaboração de produtos de origem animal, com base em legislações nacionais e internacionais.

Estes programas são fundamentais para o controle sanitário dos alimentos e requisitos básicos para inocuidade dos alimentos de origem animal. Os estabelecimentos produtores de carne devem ter implementados e manter os seguintes programas:

- 1) Manutenção das instalações e equipamentos;
- 2) Vestiários, sanitários e barreiras sanitárias;
- 3) Iluminação;
- 4) Ventilação;
- 5) Água de abastecimento;
- 6) Águas residuais;
- 7) Controle integrado de pragas;
- 8) Programa Padrão de Higiene Operacional – PPHO (limpeza e sanitização);
- 9) Boas Práticas de Fabricação – BPF (higiene, hábitos higiênicos, treinamento e saúde dos operários);
- 10) Procedimentos sanitários das operações - PSO;
- 11) Controle de matérias primas, ingredientes e material de embalagem;
- 12) Controle de temperaturas;
- 13) Calibração e aferição de instrumentos de controle de processo;
- 14) Verificação da Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle APPCC;
- 15) Análises microbiológicas (programa de redução de patógenos, testes microbiológicos para atendimentos específicos);
- 16) Embasamento para certificação;
- 17) Controle da adição de água nos produtos;
- 18) Bem-estar animal.

Dentre estes programas citados acima, os de maior impacto é APPCC, PPHO, PSO e controle de temperatura. Toda produção de alimento de origem animal, deve ter o acompanhamento, monitorização e verificação desses programas que são a base para o controle do processo e qualidade sanitária do produto final.

O sistema ou plano APPCC tem suas diretrizes estabelecidas para abatedouros de frango pela Circular 668 (BRASIL, 2006), que regulamentou um plano genérico. Neste plano foram pré-fixados quatro Pontos Críticos de Controle (PCC) dois são de natureza biológica (PCC2B e PCC3B), um de natureza química, (PCC1Q) e um de natureza física (PCC4F): (i) a presença de contaminação

gastrointestinal ou biliar como indicador da presença de *Salmonella* spp. PCC2B; (ii) o controle do tempo e da temperatura de resfriamento ou congelamento dos produtos para evitar a multiplicação de *Salmonella* spp. PCC3B; (iii) controle da informações do período de carência de medicamentos usados durante a criação das aves PCC1Q; (iv) controlar a presença de metais a níveis inaceitáveis no produto final PCC4F.

A Circular 176 (BRASIL, 2005b) estabelece as instruções para verificação do PPHO e aplicação dos procedimentos de verificação da Circular nº 175, e critérios a serem aplicados para avaliação fiscal do programa. Este programa é definido em duas etapas distintas, os procedimentos pré-operacionais e os operacionais. Os procedimentos pré-operacionais compreendem toda limpeza e sanitização realizada antes do início das atividades, já os operacionais são procedimentos de limpeza ou limpeza e sanitização realizados durante a execução das atividades ou em intervalos de refeições, turnos de produção, como: limpeza de calhas, recolha de resíduos do piso, lavagem de bandejas, tábuas de cortes, etc. (BRASIL, 2003). A finalidade do PPHO é manter de forma rotineira e padronizada a higiene do ambiente industrial focando a limpeza de superfícies e equipamentos que entram em contato direto com o produto ou não, prevenindo a contaminação cruzada. Desta forma garantindo superfícies de manipulação de alimentos limpas e obtenção de produtos com qualidade sanitária que não ofereça risco a saúde e tenha maior tempo de vida de prateleira.

O PSO, que muitas vezes é confundido com o PPHO operacional, devido à similaridade de seus objetivos finais é utilizado para evitar a contaminação cruzada, garantindo que as operações ocorram em condições higiênico-sanitárias satisfatórias. São exemplos de PSO, o controle da renovação de água nos tanques de escaldagem, controle da lavagem de carcaças ao entrar e sair da etapa evisceração, substituição de facas, chairas, utensílios em intervalos pré-estabelecidos durante os turnos de trabalho.

O controle de temperatura tanto do ambiente como produto é de fundamental importância para controle de multiplicação de micro-organismos. Algumas etapas importantes para controle de temperatura em abatedouro de aves são: tanques de escaldagem, para garantir uma descontaminação da carcaça e facilitar a retirada da pena na etapa posterior, a depenagem; água dos

esterilizadores de facas e chairas, e na etapa de aproveitamento condicional; água dos tanques de pré-resfriamento garantindo a temperatura da carcaça ao final desta; temperatura das salas de cortes, embalagem primária, secundária, paletização e expedição, para que o produto se mantenha em baixa temperatura até o armazenamento e expedição; temperatura dos túneis de congelamento, para que haja rápido congelamento dos produtos; e temperatura das câmaras de estocagem onde ficam armazenados os produtos antes de expedir.

2.3 QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE CARÇAÇAS DE FRANGO

As indústrias e autoridades governamentais em todo o mundo entendem a necessidade de garantir a produção de alimentos de origem animal, oferecendo produtos seguros para a população, em especial a produção de carne de aves, ovos e seus derivados, devido sua implicação em saúde pública.

A demanda do consumidor também tem mudado, pois ele tem buscado informações relativas a qualidade e segurança do alimento, bem como o impacto social e ambiental, além de questões relacionadas ao bem-estar animal (MULDER, 2004).

No cenário atual, a produção de alimentos de origem animal precisa atender a essas novas exigências, que versam nas legislações nacionais, internacionais, normas globais de qualidade e segurança dos alimentos e anseios do consumidor final. Para isso as indústrias precisam se atualizar, investir e melhorar continuamente a obtenção higiênica da carne, buscando qualidade higiênica, sanitária e sustentável.

Comumente em animais saudáveis há uma baixa quantidade de micro-organismos nos tecidos musculares (COX et al., 2005; JAMES, 2005). E as superfícies internas estão isentas de contaminação logo após o abate, exceto no caso de rompimento do trato gastrointestinal (GILL, 2014; BELLUCO et al., 2016). As barreiras de proteção como pele, couro, escamas, etc., e defesas antimicrobianas naturais (lisozimas e peptídeos antimicrobianos) após a morte do animal são destruídas permitindo a exposição ao ambiente de processamento e, se houver falha no controle de fatores extrínsecos (temperatura, processamento, embalagem) pode haver aumento da contaminação (COX et al., 2005).

É indesejável a contaminação das carcaças durante o abate, no entanto é inevitável que ela ocorra, por isso se faz necessário aplicar medidas para prevenir e reduzir essa contaminação, como por exemplo ter boa regulação das máquinas de evisceração e mão de obra treinada na operação dessas máquinas (PACHOLEWICZ et al., 2016).

A maior parte da contaminação ocorre nas superfícies externas da carcaça (penas, pele, pés), sendo a fonte primária de contaminação, podendo contaminar os tecidos musculares e superfície interna. Além do trato gastrointestinal devido a possibilidade de contaminação por material fecal, outras fontes como ambiente de contato antes (cama do aviário, gaiolas de transporte) e após o abate (piso, paredes, mãos dos colaboradores, utensílios, etc.) também merecem atenção. Estudos apontam que maiores contagens de micro-organismos no abate de aves são evidenciadas entre as etapas de escaldagem e evisceração (ZWEIFEL, ALTHAUS e STEPHAN, 2015; BELLUCO et al., 2016).

Há dois grupos de micro-organismos importantes que afetam a qualidade microbiológicas da carne de frango: patogênicos e não patogênicos (COX et al., 2005). O segundo grupo, diferente do primeiro, tem menor impacto na saúde pública, podem se multiplicar em diferentes temperaturas, incluindo a de refrigeração, e tornar-se predominante na microbiota, causando prejuízo a vida útil do produto por deterioração e perdas econômicas. Os patogênicos podem causar surtos alimentares por intoxicação ou infecções alimentares.

A deterioração da carne de frango está relacionada com quantidade de micro-organismos deteriorantes, presentes inicialmente no alimento ou que são adquiridas ao longo do processamento, armazenamento, manipulação e são capazes de multiplicar em condições inadequadas de temperatura. Como consequência alteração de odor, cor e textura da carne (POONI e MEAD, 1984; NARASIMHA e SACHINDRA, 2002; SKANDAMIS, TSIGARIDA e NYCHAS, 2005; NYCHAS, MARSHALL e SOFOS, 2007). Após esta multiplicação, a carne se torna imprópria para consumo devido odor e aspecto repugnante.

Dentre as bactérias, *Pseudomonas* spp., *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp. *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens*, *Listeria monocytogenes*, *Aeromonas*, *Acinetobacter*, *Enterococcus*, *Moraxella* são mais comumente encontradas em carne

de frango com impacto a qualidade e segurança (ALLEN et al., 2000; MEAD, 2004a).

As alterações que ocorrem no musculo após a morte do animal, assim como o processo tecnológico do abate de frango, estão diretamente relacionados a qualidade do produto final. Por exemplo, o congelamento da carne provoca a inativação bacteriana, e quando ocorre de forma lenta tende a ser mais prejudicial devido à perda osmótica de água da célula bacteriana. Essa inativação está relacionada com o tempo e a temperatura, com taxas mais altas de -2 até -5°C do que até -20°C, devido a inativação inicial ser mais rápida (MEAD, 2004b).

Thomas et al. (1987) avaliaram cinco condições diferentes de temperatura (4, 10, 15, 20 e 25°C) para penetração de *Acinetobacter* spp., *Pseudomonas* spp. e *Serratia marcescens* e perceberam que a penetração foi maior com aumento de temperatura. Gill e Penney (1977) obteve taxa de penetração para *Salmonella* Typhimurium de 3, 7 e 10cm nos intervalos de 20, 30 e 37°C respectivamente. Na avaliação da penetração de *Salmonella* Enteritidis em peitos de frangos em temperaturas de 2, 7 e 12°C por 24, 48 e 72h, Wessling (2014) observou efeito significativo da temperatura na penetração de *Salmonella*. Isso demonstra que a temperatura é um fator relevante assim como o tempo, e que contribuem para penetração de bactérias para o interior do músculo. Portanto é fundamental o acompanhamento desses dois fatores para manutenção da qualidade microbiológica da carcaça.

A legislação nacional referente ao plano APCC, estabelece o controle de tempo e temperatura através do PCC3 (4°C em 4h), no qual o estabelecimento deve monitorar e garantir que após 4 horas após o abate, a carcaça ou cortes de frango atinjam a temperatura mínima de 4°C. Com objetivo de controlar a multiplicação de micro-organismos, em especial *Salmonella* spp. (BRASIL, 2006). Para validar se os controles no processo foram atendidos pode ser realizado análises de quantificação de micro-organismos indicadores de qualidade e higiene.

2.4 MICRO-ORGANISMOS INDICADORES

Os micro-organismos indicadores são definidos como uma espécie ou grupo de micro-organismos e/ou seus metabólitos, cuja presença num determinado

alimento ou ambiente é um indicativo da condição de higiene do alimento e reflete tanto na vida de prateleira quanto na segurança do alimento (JAY, LOESSNER e GOLDEN, 2005; FRANCO e LANDGRAF, 2008). Mesmo podendo indicar a presença de micro-organismos patogênicos e risco indireto a saúde, normalmente estes micro-organismos não são prejudiciais à saúde (ICMSF, 2011).

Foram utilizados pela primeira vez no suporte a qualidade sanitária em meados de 1800 e esse uso ficou marcado com um grande avanço para ciência da saúde pública e microbiologia. Posteriormente, em 1880, com desenvolvimento de métodos de cultura pura para análises microbiológicas isolou-se *Salmonella Typhi* e associou como causador da febre tifoide, por Karl Eberth. Em 1885, Theodor Escherich isolou a bactéria coli (atualmente *Escherichia coli*) de fezes e observou que esta bactéria tinha como habitat o intestino humano. Foi rapidamente reconhecida a ideia de que *E. coli* poderia ser usada para indicar, avaliar a condição sanitária do abastecimento de água e possível contaminação por fezes, por Franz Schardinger em 1892 (TORTORELLO, 2003).

Embora o monitoramento da presença de micro-organismos patogênicos em carcaças de frangos seja importante, isoladamente não fornece informações suficientes para avaliar de forma satisfatória as condições sanitárias do processo como um todo. Segundo Pierson, Zink e Smoot (2007), a presença e quantidade de micro-organismos patogênicos determina a segurança do alimento, e a presença de micro-organismos indicadores reflete a qualidade do alimento. Além disso, as análises para detecção de micro-organismos patogênicos, na sua maioria, são qualitativas (presença ou ausência) e não quantitativas, o que dificulta a mensurar e avaliar os resultados de ações tomadas para redução e controle da contaminação.

Um indicador, além de um indício de uma falha de higiene, pode ser usado como um alerta para um potencial problema microbiológico que pode afetar a qualidade e segurança do produto, por isso micro-organismos indicadores têm sido amplamente utilizados para apoio e gerenciamento da qualidade, segurança dos alimentos e ambiente de produção, processamento e manipulação (FORSYTHE, 2002; JAY, LOESSNER e GOLDEN, 2005; FRANCO e LANDGRAF, 2008; PIERSON, ZINK e SMOOT, 2007).

A relação entre o patógeno e o indicador não é universal e pode ser influenciada pelo produto ou processo (ICMSF, 2011), portanto, a eleição de um

indicador deve ser baseada nos critérios microbiológicos que poderão ser usados para avaliar o produto e processo. Mediante o conhecimento da natureza do produto e o processo envolvido, pode-se chegar as possíveis fontes de micro-organismos patogênicos, a incidência deste no produto ou processo, coleta e análises possíveis de serem realizadas, e a resistência e crescimento do agente patogênico ou deteriorante que será avaliado.

Segundo Jay, Loessner e Golden (2005), para que um micro-organismo possa ser considerado um indicador “ideal” deve possuir algumas características básicas como:

- a) Ser de fácil e rápida detecção;
- b) Possuir características facilmente distinguíveis de outros micro-organismos presentes na microbiota do alimento;
- c) Ter um histórico de frequência associado a presença do patógeno;
- d) Estar sempre presente quando o patógeno associado estiver;
- e) Ter uma correlação entre o seu número e do patógeno;
- f) Apresentar necessidades de crescimento e velocidade de crescimento similar às do patógeno;
- g) Apresentar velocidade de morte semelhante à do patógeno, ou ainda sobrevivência levemente superior à do patógeno;
- h) Estar ausente no alimento livre do patógeno, ou estar presente em quantidade mínima.

Pelo Quadro 1 observa-se os principais micro-organismos indicadores de qualidade e higiene e seu uso na avaliação de alimentos. Mais à frente veremos que estes micro-organismos são requisitos de legislações dos principais países que produzem e comercializam produtos de origem animal.

Os micro-organismos indicadores podem ser utilizados para avaliar a qualidade, higiene e/ou a segurança dos alimentos em relação a produção e processamento (QUADRO 1). No entanto para Forsythe (2002), estes micro-organismos têm sido usados mais comumente para avaliação de segurança e higiene do que para qualidade. A evidencia dessa afirmação é que quando avaliamos os critérios microbiológicos internacionalmente estabelecidos, eles estão mais focados em segurança e higiene.

QUADRO 1 – PRINCIPAIS MICRO-ORGANISMOS INDICADORES USADOS PARA AVALIAR A QUALIDADE E HIGIÊNE DOS ALIMENTOS

Micro-organismo	Indicação
Aeróbios mesófilos	Avaliar condição de saneamento em geral, eficiência de intervenções em alguma etapa, avaliar a deterioração em alimentos cozidos prontos para o consumo, pasteurização e de especiarias.
Enterobacteriaceae	Indicador de contaminação de origem fecal, eficiência dos programas de saneamento, em especial em alimentos secos, fórmulas infantis e produtos prontos para o consumo.
Coliformes	Avaliar a contaminação de origem fecal e sanitização em geral, tais como carne moída, água e especiarias.
<i>E. coli</i>	Indicador de contaminação de origem fecal, e avaliação da eficiência de programas de saneamento para frutos do mar, água e alimentos preparados. Pode ser um bom indicador de zoonoses como <i>Salmonella</i> e <i>Campylobacter</i> .

FONTE: Adaptado de JAY et al. (2005); GHAFIR et al. (2008); BUCHANAN e ONI (2012).

Estudo realizado por Hutchison et al. (2006), foi observado uma tendência de redução nas contagens de psicotróficos em carcaças de frangos avaliadas após o *chiller* e maior tempo de vida de prateleira, depois de realizado uma limpeza profunda nos equipamentos de resfriamento. Com isso podemos dizer que os micro-organismos indicadores também são úteis para mensurar a efetividade das alterações e mudanças nas condições de higiene de um processo.

Micro-organismos como bactérias aeróbias, coliformes e *E. coli* são sugeridos por Mossel et al. (1998), para validação e verificação do APCC, no entanto a detecção do indicador não substitui a detecção do patógeno.

Para Zweifel, Althaus e Stephan (2015), as informações geradas a partir das análises microbiológicas são necessárias para gerenciamento de um plano de APPCC, tanto na implementação quanto para manutenção. Já que os dados microbiológicos servem de embasamento para desencadear medidas apropriadas na avaliação dos riscos do processo.

As análises utilizadas para avaliar micro-organismos indicadores de qualidade são contagem padrão em placas (PCA), de bolores e leveduras. As Enterobactérias tem sido amplamente utilizada como indicador de higiene. E o grupo dos coliformes, em sua maioria a *E. coli*, como indicador de segurança (TORTORELLO, 2003; JAY, LOESSNER e GOLDEN, 2005; PIERSON, ZINK e SMOOT, 2007).

2.4.1 Aeróbios Mesófilos

Aeróbios mesófilos são bactérias que necessitam de oxigênio para sobreviver e se multiplicam em temperaturas entre 20 a 45°C, com temperatura ótima de multiplicação entre 30 e 40°C. Estas bactérias são constituídas por representantes da família das Enterobacteriaceae, e gêneros como *Bacillus*, *Clostridium*, *Corynebacterium*, *Micrococcus* e *Streptococcus* (FORSYTHE, 2002; JAY, LOESSNER e GOLDEN, 2005).

A contagem padrão em placa (APC) ou contagem de aeróbios mesófilos é uma análise simples e comumente utilizada para avaliar a microbiota de um alimento. É bastante utilizada para o monitoramento da qualidade higiênica na produção de carnes e derivados cárneos, permitindo calcular a população microbiana total associado a qualidade sanitária (GHAFIR et al., 2008). Além de avaliar o cumprimento de padrões ou requisitos estabelecidos por legislações, a conformidade com as especificações do produto, a qualificação de fornecedores de matérias-primas e acompanhamento da adesão as BPF.

Contagens elevadas refletem processamento inadequado ou uso de matéria-prima com elevada contaminação. Se estas contagens estão elevadas em alimentos perecíveis pode indicar abuso de temperatura durante seu armazenamento, e conseqüentemente a possibilidade de desenvolvimento de patógenos, visto que a maioria das bactérias patogênicas de origem alimentar são mesofílicas (JAY, LOESSNER e GOLDEN, 2005; FRANCO e LANDGRAF, 2008). Diferente das contagens de coliformes totais e *E. coli*, que permitem investigar problemas relacionados a higiene e também contaminação de origem fecal, que em elevadas contagens podem estar associados a presença de patógenos entéricos (JAY, LOESSNER e GOLDEN, 2005).

A contagem de aeróbios mesófilos também pode ser utilizada para medir a gestão do plano de APPCC. Porém, sozinha essa contagem não é suficiente para evidenciar e garantir a efetividade do plano no controle de patógenos (HONG, TODD e BAHK, 2008). No entanto, se faz necessário conhecer a microbiota do alimento avaliado e a etapa em que a amostra foi coletada para melhor interpretação dos resultados, pois a cada etapa da cadeia produtiva (matéria-prima, industrialização, produto acabado), a contagem de micro-organismos pode variar consideravelmente. Em geral a contagem de micro-organismos total em um produto cru, refrigerado será

maior quando comparada a um produto que tenha passado por processamento térmico.

2.4.2 Enterobactérias

A família Enterobacteriaceae possui aproximadamente 20 gêneros, entre eles *E. coli*, outros micro-organismos membros do grupo coliformes e patógenos alimentares. São bacilos Gram-negativos, fermentadores de glicose e oxidase-negativos, geralmente catalase-positiva e nitrato-redutores (TORTORELLO, 2003).

Tem grande importância por possuir os gêneros mais patogênicos e frequentes encontrados em microbiologia de alimentos, como *Salmonella*, *Shigella* e *Yersinia*. Inicialmente foi proposta como um indicador alternativo ao grupo de coliformes, devido o teste para toda família ser inconclusivo para os gêneros patogênicos. Na análise para coliforme, a não fermentação da lactose e carboidrato específicos pela *Salmonella*, *Shigella* ou *Yersinia* faziam com que estas não fossem detectadas. A substituição da glicose pela lactose no teste permitiu a detecção de todos os membros da família Enterobacteriaceae, incluindo os agentes patogênicos (TORTORELLO, 2003; MANAFI, 2003).

Pela sua distribuição ampla no ambiente as enterobactérias são capazes de colonizar superfícies em plantas que processam alimentos, por isso são usadas como micro-organismos indicadores de higiene e segurança na produção de alimentos, principalmente em abatedouros no qual tem forte correlação com a contaminação fecal e ambiental (GHAFIR, 2008).

As enterobactérias, pelo fato de serem sensíveis aos sanitizantes, mesmo não indicando a contaminação fecal nos alimentos como os coliformes, são indicadores da condição sanitária, pois colonizam locais onde o saneamento foi ineficaz (TORTORELLO, 2003; MANAFI, 2003).

2.4.3 Coliformes Totais

Coliformes totais são bactérias aeróbias e anaeróbias facultativas, Gram-negativas, não formadoras de esporos, fermentadoras de lactose, formadoras de ácido e gás, com incubação a 35°C por 48 horas (APHA, 2001)

Parte da família Enterobacteriaceae o grupo dos coliformes inclui: *E. coli*, *Enterobacter*, *Klebsiella* e *Citrobacter*. Destes, *E. coli* tem como habitat primário o trato gastrointestinal de animais de sangue quente. As demais bactérias, além de serem encontradas nas fezes, podem também ser encontradas no solo e nos vegetais (FRANCO e LANDGRAF, 2008).

Os coliformes, estão por toda a parte, portanto é esperado que se encontre amplamente distribuído no ambiente. Ao longo dos anos, os Estados Unidos e o Brasil usam como indicador de higiene para carne de frango (FSIS, 2012; BRASIL, 2001). Já na Europa, é usado a família Enterobacteriaceae como indicador em carnes (EC, 2007). Estes micro-organismos estarão presentes na maioria das carnes cruas e em diferentes concentrações. Devem estar ausentes em produtos processados e superfícies adequadamente higienizadas. Portanto, a presença destes em superfícies ou produtos altamente processados está relacionado a prática inadequada sanitização e contaminação pós-processamento, respectivamente.

A presença de coliformes em alimentos não indica, obrigatoriamente, a ocorrência de uma contaminação de origem fecal ou a presença de um enteropatógeno. Assim como o aumento do número de coliformes na carne pode estar relacionado a um processamento inadequado ou contaminação pós-processamento (AIYEGOR, 2014).

2.4.4 *Escherichia coli*

Escherichia coli, é uma bactéria comensal presente no trato gastrointestinal dos animais e do homem, por isso é considerada um indicador de contaminação de origem fecal da carne, que por ter ocorrida durante o processo de abate dos animais por exemplo.

As características de multiplicação e sobrevivência são semelhantes à outras espécies patogênicas da família Enterobacteriaceae como *Salmonella*, *E. coli* patogênica, *Campylobacter* (GHAFIR et al. 2008). Um aumento das contagens de *E. coli* durante refrigeração, armazenamento e distribuição sugerem que a carne foi submetida a condições que também possa ter propiciado a multiplicação de outros patógenos.

Entre as principais bactérias de origem fecal encontradas nas carcaças de frango está a *E. coli* (CASON et al., 2004; CASON et al., 2007; GHAFIR et al., 2008),

e por requisitos legais, devido ser um indicador de segurança do alimento, deve ser controlada na avaliação das carcaças (BRASIL, 2007; EC, 2007).

Nos Estados Unidos a *E. coli* é um indicador obrigatório utilizado para avaliação da efetividade em ponto crítico de controle para carcaças de aves, suínos e bovinos (FSIS, 2011). Através do Regulamento CE 1441/2007, a União Europeia estabeleceu como critério microbiológico o monitoramento da contagem padrão em placas para aeróbios mesófilos e Enterobactérias, para avaliar a higiene em carcaças de suínos, bovinos, caprinos, ovinos, equinos (EC, 2007).

Assim como a legislação europeia, a RDC número 12/2001 (BRASIL, 2001), define a contagem de coliformes a 45°C para avaliação de carnes e produtos cárneos como indicador de higiene e qualidade desses alimentos, *E. coli* não foi incluída.

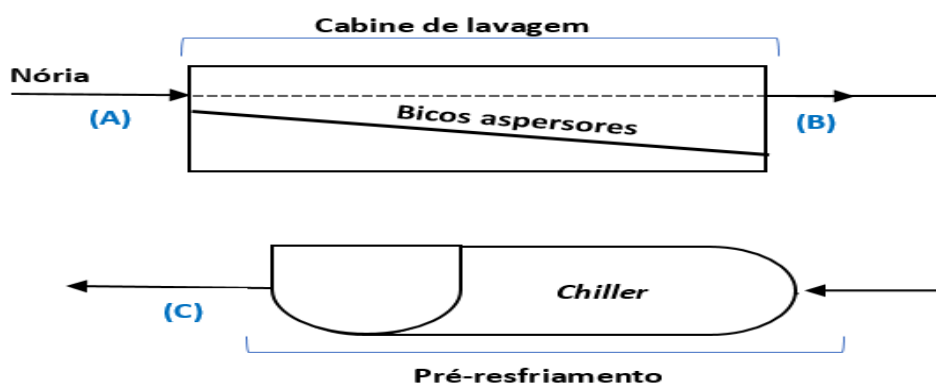
3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 AMOSTRAGEM E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

As amostras de carcaças de frango foram coletadas em uma planta de abate e processamento de aves com volume de abate superior a 350 mil aves ao dia, em dois turnos de produção e um de higienização. O estabelecimento estava registrado no Serviço de Inspeção Federal – SIF, do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), e possuía habilitação para exportação para vários países, incluindo a União Europeia, China, Japão, Hong Kong, Rússia, África do Sul, México, Arábia Saudita. O período de coleta de amostras foi de novembro de 2016 a janeiro de 2017.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com três tratamentos (T1, T2 e T3) e 10 repetições (amostras obtidas em três pontos distintos no abate de aves A, B e C). Os tratamentos foram caracterizados pelos volumes de água utilizados na lavagem das carcaças, sendo: Tratamento 1 (T1) representado pela ausência de chuveiro; Tratamento 2 (T2) representado pela vazão de 1,0 L por carcaça e Tratamento 3 (T3) representado pela vazão de 1,5 L por carcaça. A vazão de T3 foi regulada conforme requisito da Portaria 210/1998 do MAPA sendo as demais, T1 e T2, com eliminação do uso da água e redução proporcional a 1/3 do mínimo preconizado pela mesma legislação, respectivamente (BRASIL, 1998), em três pontos da linha de abate: Ponto A – imediatamente antes do chuveiro; Ponto B – após a passagem pelo chuveiro; e Ponto C – imediatamente após a passagem pelo sistema de pré-resfriamento (Figura 1).

FIGURA 1 – ETAPA DE LAVAGEM E PRÉ-RESFRIAMENTO POR IMERSÃO, ANTES (A) E APÓS (B) A LAVAGEM E APÓS O PRÉ-RESFRIAMENTO (C).



FONTE: o autor, 2017.

A etapa de estudo do presente experimento, “chuveiro de lavagem final”, está localizada na transição entre os setores de evisceração e o de pré-resfriamento, imediatamente após o Ponto Crítico de Controle 2 (PCC 2) no fluxograma de abate de aves. A lavagem das carcaças era realizada com água pressurizada a 3kgf/cm² (FIGURA 2), com temperatura entre 20 e 25°C e cloro residual de 0,2 a 0,5 ppm.

FIGURA 2 – MANOVACUÔMETRO DEMONSTRANDO A PRESSÃO DA REDE DE ÁGUA UTILIZADA NO CHUVEIRO DE LAVAGEM.



FONTE: o autor, 2017.

A cada repetição três carcaças de cada tratamento (T1, T2 e T3) foram avaliadas em cada ponto (A, B e C), num total 24 amostras por repetição, já que para T1 não havia coleta no ponto B (após o chuveiro). No total foram realizadas 240 amostras de carcaças. As amostras foram coletadas nas quatro primeiras horas após início do abate do primeiro turno.

A zona de lavagem (cabine) era de 200 centímetros de comprimento, com 34 bicos de aspersão, 17 de cada lado em toda extensão da cabine de lavagem, de forma que contemplava a lavagem superficial completa das carcaças tanto interna quanto externamente (FIGURA 3). Havia uma angulação dos bicos em relação a nória que permitia a lavagem de cima para baixo, ou seja, iniciando articulação no jarrete e finalizando na região do peito e asas ao longo da cabine de lavagem (FIGURA 1). O tempo de exposição das carcaças a lavagem era de 7 segundos.

O sistema de pré-resfriamento era feito em tanque de imersão do tipo *re-chiller* - sistema integrado que capta a água dos *chillers* reduz a temperatura entre 0,1 e 0,5C° devolvendo para os *chillers* – com dois estágios, um *pré-chiller* e um

chiller com temperaturas 8,5°C e 2°C, respectivamente. Renovação contínua de 1 L por carcaça no *pre-chiller* e 1,5 L por ave no *chiller*, cloro residual na água de 0,2 a 0,5 ppm.

A temperatura das carcaças ao final do pré-resfriamento era abaixo de 7°C, assim como as vazões e temperatura da água da etapa de pré-resfriamento estavam de acordo com a Portaria 210/1998 do MAPA (BRASIL, 1998).

FIGURA 3 – CHUVEIRO DE LAVAGEM NA PARTE INICIAL DA CABINE COM OS BICOS ASPERSORES LIGADOS E POSICIONADOS PARA NÓREA COM FRANGOS.



FONTE: o autor, 2017.

3.2 COLETA DE AMOSTRAS

As carcaças eram retiradas manualmente dos ganchos durante o processo de abate logo após serem inspecionadas pelo SIF e passarem pelo PCC2 e antes da entrada no chuveiro final (Ponto A).

Em cada tratamento, três carcaças eram retiradas da nória, marcadas com lacre para facilitar a identificação e permitindo que a mesma carcaça fosse avaliada nos três pontos de coleta: A, B e C. Exceção ao T1, uma vez que não havia chuveiro, foram feitas coletas em dois pontos, A e C.

Após feita a alteração de vazão no chuveiro, a carcaça era retirada da nória, realizada a coleta utilizando-se *swab* superficial da pele e a carcaça era novamente pendurada. Após a rependura da carcaça, passada a etapa de chuveiro, era feita a coleta no ponto B, após a coleta a carcaça era direcionada ao *pré-chiller*.

Para cada alteração do volume da vazão do chuveiro era padronizado um intervalo de 30 minutos, ou seja, entre as coletas de um tratamento e outro. Essa metodologia foi adotada para que todas as carcaças amostradas e as demais carcaças que estavam em linha (na nória) adentrassem no *pré-chiller* tivessem as mesmas condições de lavagem, conforme cada tratamento aplicado.

A sequência de coleta das amostras para cada um dos três tratamentos era alterada a cada repetição, intercalando entre T1, T2 e T3 conforme Quadro 2.

QUADRO 2 – SEQUÊNCIA DOS TRATAMENTOS PARA CADA REPETIÇÃO

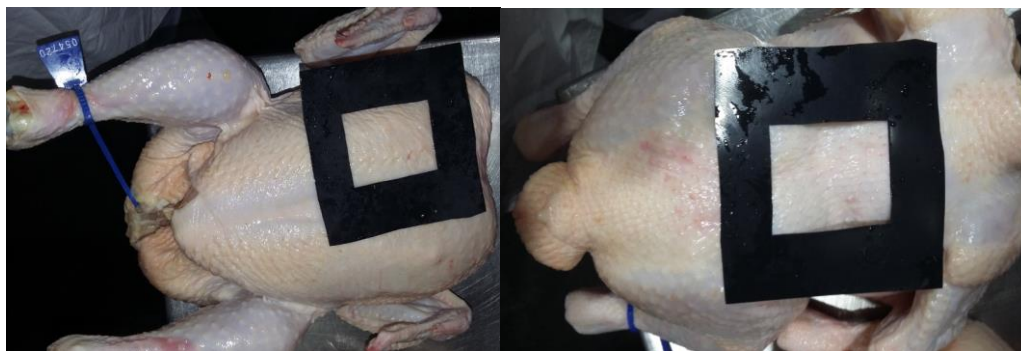
Repetição	1º coleta	2º coleta	3º coleta
1	T3	T1	T2
2	T3	T2	T1
3	T1	T3	T2
4	T1	T2	T3
5	T2	T3	T1
6	T2	T1	T3
7	T3	T1	T2
8	T3	T2	T1
9	T1	T3	T2
10	T3	T2	T3

T1- tratamento 1; T2- tratamento 2; T3-tratamento 3

FONTE: o autor (2017).

A obtenção da unidade analítica foi realizada por um esfregaço superficial da pele do peito e do dorso, utilizando *swab* estéril em uma área pré-delimitada de 25 cm² (FIGURA 4). No ponto A, foi feito um esfregaço na pele do peito do lado esquerdo, no ponto B, do lado direito e ponto C, na pele do dorso. Os *swabs* foram acondicionados em tubos cônicos contendo 10 mL de solução salina peptonada 0,1%, e armazenados em caixas isotérmicas para o transporte até o Laboratório de Inspeção e Controle de Água e Alimentos – LACOMA (UFPR-Palotina), para início das análises microbiológicas, num intervalo não superior a 2h após a coleta. Todo material utilizado nas coletas seguiram um controle de esterilização.

FIGURA 4 – ÁREAS AMOSTRADAS NA CARÇAÇA COM MOLDE, PEITO E DORSO. LACRE UTILIZADO PARA IDENTIFICAÇÃO DAS AMOSTRAS.



FONTE: o autor, 2017.

3.3 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

Os tubos cônicos contendo os *swabs* amostrados foram homogeneizados em equipamento agitador de soluções tipo vortex (Phoenix AP56) por 60 segundos e, em seguida, realizadas as diluições decimais seriadas até 10^{-2} utilizando solução salina a 0,85%. Os tubos cônicos contendo o *swab* superficial foram considerados diluição 10^0 . Após a obtenção das diluições, foram realizadas semeaduras para contagem dos micro-organismos indicadores: aeróbios mesófilos, enterobactérias, coliformes totais e *E. coli*.

3.3.1 Contagem de Aeróbios Mesófilos

Para contagem de bactérias aeróbias mesófilas (AM) foram utilizadas as diluições de 10^{-1} e 10^{-2} , semeado 1 mL pela técnica de profundidade em placas de Petri onde foram vertidos ágar padrão de contagem (PCA), fluidificados e mantidos a temperatura de 45°C. Após a homogeneização e solidificação do ágar, as placas foram incubadas invertidas em estufa com temperatura de 35-37°C/48 horas. Após a contagem das colônias, os resultados foram expressos em UFC/cm².

3.3.2 Contagem de Enterobactérias

Na contagem de enterobactérias (EB) foram utilizadas as diluições de 10^0 e 10^{-1} , semeado 1 mL pela técnica de profundidade em placas de Petri onde foram vertidos ágar bile vermelho violeta glicose (VRBG), a temperatura de 45°C. Após a

homogeneização e solidificação do ágar foi feita uma sobrecamada com o mesmo ágar, para criar uma condição de microaerofilia. Após solidificação da sobrecamada as placas foram incubadas invertidas em estufa com temperatura de 35-37°C/48 horas. Após contagem das colônias roxas/vermelhas, rodeado por um halo avermelhado de precipitado, os resultados foram expressos em UFC/cm².

3.3.3 Contagem de Coliformes totais e *Escherichia coli*

A contagem de coliformes totais (CT) e *E. coli* (EC) foi realizada utilizando o método de Petrifilm™ EC 3M para contagem de coliformes a 35°C e *E. coli*, inoculando 1 mL da diluição 10⁰ para ambas as análises. As placas foram acondicionadas em estufa conforme recomendação do fabricante e incubadas a 37°C/48 horas. A contagem dos coliformes totais e *E. coli* foi feita de acordo com manual de instruções do fabricante, e expresso em UFC/cm².

3.4 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os dados de contagens de parâmetros microbiológicos estudados foram transformados em médias Log₁₀ e submetidos a análises estatísticas no programa *Statistical Analysis System* (SAS), versão 9.0, com nível de significância P<0,05, em duas análises:

A) Contaminação das carcaças em relação aos volumes de água antes do chuveiro (Ponto A) e após o pré-resfriamento (Ponto C):

As variáveis foram submetidas ao teste de normalidade (PROC UNIVARIATE), que indicou que os dados apresentaram distribuição normal. Posteriormente, os dados foram submetidos à análise de variância em esquema fatorial 2 x 3 (PROC GLM), na qual foram testados os efeitos isolados de três tratamentos de acordo com o volume de água utilizado no chuveiro (T1, T2, T3), dois pontos da linha de processamento das carcaças (A, C) e suas interações. Quando os efeitos isolados ou a interação entre eles foram significativos (P<0,05), as médias foram comparadas pelo teste de Tukey (PROC MEANS).

B) Contaminação das carcaças em relação as vazões de 1,0 e 1,5 L de água:

As variáveis foram submetidas ao teste de normalidade (PROC UNIVARIATE) para verificação da distribuição dos dados. Aquelas que não apresentaram distribuição normal foram transformadas (PROC RANK) para normalizar os dados. Posteriormente, procedeu-se a análise de variância em esquema fatorial 2 x 3 (PROC GLM), na qual foram testados os efeitos isolados de dois volumes de água no momento da lavagem das carcaças (T2 e T3), três pontos da linha de processamento das carcaças (A, B, C) e suas interações. Quando os efeitos isolados ou a interação entre eles foram significativos ($P < 0,05$), as médias foram comparadas pelo teste de Tukey (PROC MEANS).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 CARGA MICROBIANA SUPERFICIAL DAS CARÇAÇAS NO PONTO A E NO PONTO C

Independente do ponto de coleta, o volume de água utilizado na lavagem das carcaças influenciou a contaminação das mesmas por enterobactérias ($P = 0,000$), coliformes totais ($P = 0,004$) e *Escherichia coli* ($P = 0,001$) (TABELA 1). Já a contaminação das carcaças por aeróbios mesófilos não foi afetada ($P = 0,446$) pelo volume de água utilizado na lavagem das mesmas. No entanto, para contagem de aeróbios mesófilos (AM) não foi observado efeito significativo ($p=0,446$) (TABELA 1). Não houve ($P>0,05$) efeito isolado dos pontos de coleta e interação entre volume de água utilizado na lavagem das carcaças e ponto de coleta para os grupos de microrganismos avaliados.

TABELA 1 – RESULTADO DE ANOVA PARA OS TRÊS TRATAMENTOS (T1, T2, T3) E DOIS PONTOS DE COLETA (A, C) E A INTERAÇÃO ENTRE ELES PARA TODAS AS VARIÁVEIS MICROBIOLÓGICAS ESTUDADAS

Fator	Valor-p*			
	AM	EB	CT	EC
Tratamento (T1, T2, T3)	0,446	0,000*	0,004*	0,001*
Ponto de coleta (A, C)	0,256	0,190	0,377	0,566
Tratamento x Ponto de coleta	0,489	0,125	0,416	0,148

AM-aeróbios mesófilos, **EB**-Enterobactérias, **CT**-coliformes totais, **EC**-*Escherichia coli*
A-antes do chuveiro; **C**-após *chiller*; **T1**- tratamento 1; **T2**- tratamento 2; **T3**-tratamento
 *valor-p <0,05, pelo teste Tukey

FONTE: o autor (2017).

As médias (Log UFC/cm²) e desvio padrão das contagens obtidas do Ponto A até o C nos três tratamentos para cada grupo de micro-organismos indicadores estudados estão na Tabela 2. Por estes resultados foi possível observar que o volume de água utilizado para descontaminação das carcaças não contribuiu para redução das contagens de AM nas carcaças quando analisadas na saída do sistema de pré-resfriamento. Inclusive, foi observado fenômeno inverso, uma vez que, houve um incremento médio de 0,11 Log UFC/cm² nas amostras avaliadas no tratamento com maior vazão do chuveiro, T3, quando comparado ao tratamento sem uso do chuveiro, T1. Porém esse incremento não foi significativo ($P>0,05$). Isso pode ser

explicado pelo fato das aves já chegarem ao abatedouro com bactérias firmemente aderidas a pele (LILLARD, 1989), cuja retirada com um enxague ou mesmo vários deles não é considerada fácil (THOMAS e MCMEEKIN, 1982) e também pode estar associada a contaminação de difícil remoção e em menor quantidade de uma contaminação mais recente ocorrida durante o processo de abate, cujos efeitos não parecem estar relacionados com a presença do chuveiro final ou sua vazão, mas sim dos efeitos antimicrobianos proporcionados pelo sistema de pré-resfriamento.

TABELA 2 – MÉDIAS (LOG UFC/cm²) E DESVIO PADRÃO (DP) DAS CONTAGENS DE AM, EB, CT E EC PARA CARÇAÇAS DE FRANGO SUBMETIDAS AOS TRATAMENTOS T1, T2 E T3 ENTRE OS PONTOS A E C.

Microrganismo	T1	T2	T3
	Média (DP)	Média (DP)	Média (DP)
Aeróbios mesófilos	3,16 (±0,34) ^a	3,28 (±0,41) ^a	3,27 (±0,28) ^a
Enterobactérias	1,22 (±0,47) ^b	1,47 (±0,50) ^{ab}	1,70 (±0,35) ^a
Coliformes totais	1,49 (±0,37) ^b	1,48 (±0,34) ^b	1,81 (±0,28) ^a
<i>Escherichia coli</i>	1,25 (±0,40) ^b	1,26 (±0,31) ^b	1,61 (±0,30) ^a

A-antes do chuveiro; C-após *chiller*; T1- tratamento 1; T2- tratamento 2; T3-tratamento 3

Médias com letras diferentes na mesma linha diferem (P<0,05), pelo teste Tukey

FONTE: o autor (2017).

Mead, Hudson e Hinton (1994), usaram micro-organismos marcadores para estudar a contaminação cruzada durante o abate e processamento de carcaças de frango. Os autores concluíram que entre as etapas avaliadas, a água do *chiller* é um ponto de contaminação cruzada. Evidenciaram que mesmo usando contrações entre 18 a 30 ppm de cloro na água de pré-resfriamento, não impediu que 18 das 27 carcaças adjacentes a carcaça marcada com micro-organismo marcador, apresentaram alguma contagem, mesmo que baixa. Os níveis de cloro livre utilizados no experimento desses autores, está bem acima do permitido em legislação nacional, que hoje permite o uso de no máximo 5 ppm na água de renovação dos tanques de pré-resfriamento (BRASIL,1998). E quando se trata de produção para exportação deve-se atender as legislações do país de destino final do produto.

No estabelecimento onde foi realizado o presente estudo o cloro residual era mantido entre 0,2 a 0,5 ppm, e água do *pré-chiller* a temperatura média de 7,5°C e do *chiller* a 1,9°C, com renovação de 1,5L no *pré-chiller* e 1L no *chiller* conforme

legislação (BRASIL, 1998). Acredita-se que estes fatores foram, de fato, os responsáveis pela quantidade de micro-organismos encontrados no Ponto C independentemente do efeito do chuveiro final, como destacado anteriormente. Além disso, e de acordo Mead, Hudson e Hinton (1994) não é possível controlar a contaminação cruzada entre as carcaças, por menor que seja, durante o pré-resfriamento por imersão. Estudo realizado por Jiménez et al. (2002) corrobora com Mead, Hudson e Hinton (1994), onde observaram aumento da prevalência de *Salmonella* em carcaças de frango após o *chiller* e que não apresentavam contaminação por material fecal visível antes do *chiller*, e atribuíram esse aumento a contaminação cruzada ocorrida na água do pré-resfriamento.

A contagem de EB nas carcaças que foram lavadas no T3 (1,70 Log UFC/cm²) foi superior ($P = 0,000$) a contagem nas carcaças que não foram lavadas no T1 (1,22 Log UFC/cm²) (TABELA 2). As carcaças que foram lavadas com 1,0 L de água não diferiram ($P > 0,05$) das demais para contaminação por EB (1,47 Log UFC/cm²).

A contagem de CT foi semelhante ($P > 0,05$) entre as carcaças que não foram lavadas no T1 e aquelas que foram lavadas no T2 (média de 1,48 Log UFC/cm²), sendo inferiores ($P = 0,004$) às carcaças que foram lavadas no T (1,81 Log UFC/cm²) (TABELA 2).

Northcutt et. al. (2006), avaliaram a contagem de bactérias em carcaças de frango após o resfriamento em *chiller* utilizando altos e baixas vazões de renovação dos tanques, e afirma que o aumento da vazão em *chiller* resultou numa redução da contaminação superficial das carcaças analisadas.

Para Ritter (2000) uma maior contagem bacteriana na água, prejudica a descontaminação durante o resfriamento destas, podendo inclusive favorecer a contaminação.

Com base nos resultados obtidos em estudos anteriores (RITTER, 2000; NORTHUTT et. al., 2006) e considerando os pontos avaliados (A e C), mesmo usando grande volume de água (T3) ou retirando o chuveiro (T1) todas as carcaças chegaram ao Ponto C com contagem estatisticamente iguais ao Ponto A indiferente da contagem inicial ser ou não maior imediatamente antes da aplicação dos tratamentos. Outros estudos mostram (PACHOLEWICZ et. al., 2015) que embora as concentrações micro-organismos dos lotes de aves que chegam aos abatedouros

sejam semelhantes, após o *chiller* a contaminação pode ser significativamente menor em uma planta comparado a outra. Essa diferença pode ser explicada pelos parâmetros de processamento de um abatedouro serem aplicados mais consistentes e padronizados em relação a outros.

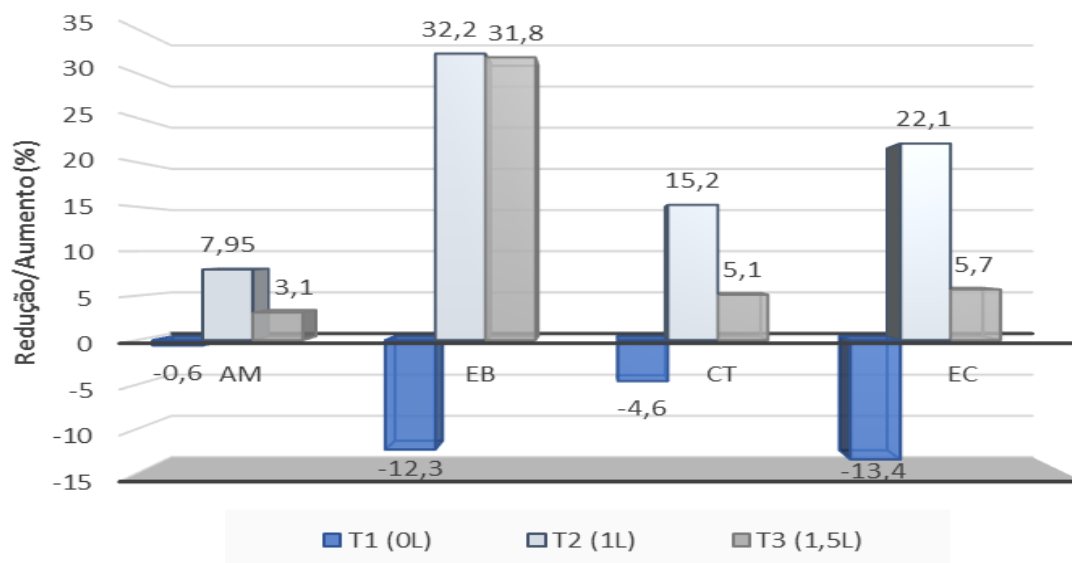
De acordo com dados encontrados no presente estudo, nos tanques de pré-resfriamento há um tendência de equalização da contaminação pelos micro-organismos indicadores estudados, devido a lavagem das carcaças durante a etapa de pré-resfriamento que independem da carga microbiana na entrada do *pre-chiller* desde que a mesma seja baixa (item 4.2), indicando que todos os controles aplicados pela indústria, anteriormente a esta etapa, sejam feitos de forma correta (como inspeção das carcaças e monitoramento do PCC2, temperaturas e vazões de água dos tanques controladas, entre outros). Estes fatores propiciam uma quantidade menor de bactérias na superfície das carcaças. Uma menor carga microbiana entrando nos *chillers*, faz com que a contaminação superficial das carcaças, mesmo antes da lavagem e após o resfriamento não se altere significativamente, devido à baixa quantidade de bactérias presentes nas águas dos *chillers*.

A seguir estão apresentados graficamente os resultados dos percentuais de redução ou incremento populacional para cada grupo de micro-organismos avaliado entre os pontos A e C (GRÁFICO 1).

Nota-se percentuais de redução de contagens somente para o T1 e incremento das contagens para T2 e T3.

Para os tratamentos que houve aumento da contaminação, maiores incrementos foram observados para EB, seguido de EC, CT e por último para o grupo de AM. No tratamento T1, único em que ocorreu a redução da contaminação e a maior redução foi observada para EC, seguido de EB, CT e, assim como no aumento, AM foi o último grupo e com menor redução das contagens. Isso mostra que AM é um grupo que teve menor oscilação, e sugere um estudo mais aprofundado se é o micro-organismo mais indicado para avaliar a higiene do processo. Pelo fato de não apresentar muita oscilação talvez possa não indicar claramente quando há desvios significativos nos controles de higiene e qualidade.

GRÁFICO 1 – DIFERENÇA DA CONTAMINAÇÃO ENTRE OS PONTOS A E C EM CADA TRATAMENTO (T1, T2, T3) EM TODOS GRUPOS DE MICRO-ORGANISMOS AVALIADOS.



Aeróbios mesófilos (AE); Enterobactérias (EB); Coliformes totais (CT); *E. coli* (EC)
 FONTE: o autor, 2017.

Ainda, quando avaliamos o Gráfico 1, houve redução da contaminação após o *chiller* quando não se usou água. De acordo com Bashor et al. (2004) a eficiência da lavagem é influenciada pela extensão da contaminação da carcaça, temperatura da água, pressão e disposição dos bicos de aspersão, velocidade da linha de abate e o tipo de antimicrobiano utilizado no processo. Os autores não citam volume. E Escudero-Gilete, González-Miret e Heredia (2005) afirmam que não apresentou influência significativa no volume na redução das contagens de micro-organismos indicadores nas carcaças.

4.2 CARGA MICROBIANA SUPERFICIAL DAS CARÇAÇAS ANTES E APÓS A LAVAGEM

Foi realizada uma análise fatorial com os dois tratamentos (T2 e T3) e os três pontos de coletas de amostra (A, B e C), para avaliar o efeito do volume de água utilizada na vazão do chuveiro para lavagem em relação a redução da contaminação das carcaças em cada ponto.

As médias de CT e EC diferiram ($P < 0,05$) entre os volumes de água utilizados na lavagem das carcaças e entre os pontos de coleta (TABELA 3). Já AM

e EB diferiram ($P < 0,05$) apenas entre os pontos de coleta. Não houve interação ($P > 0,05$) entre volume água e pontos de coleta para os quatro grupos de microrganismos avaliados.

TABELA 3 – RESULTADO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA (ANOVA) PARA OS GRUPOS MICRO-ORGANISMOS AVALIADOS EM RELAÇÃO AOS VOLUMES DE ÁGUA TESTADOS, OS PONTOS DE COLETA E SUAS INTERAÇÕES.

Fator	*Valor-p			
	AM	EB	CT	EC
Tratamento (T2, T3)	0,986	0,174	0,016*	0,009*
Ponto de coleta (A, B, C)	0,008*	<,000*	0,000*	0,000*
Tratamento x Ponto de coleta	0,777	0,245	0,180	0,157

AM-aeróbios mesófilos, **EB**-Enterobactérias, **CT**-coliformes totais, **EC**-*Escherichia coli*

A-antes do chuveiro; **B**-após o chuveiro; **C**-após *chiller*; **T2**- tratamento 2; **T3**-tratamento 3

*pelo teste Tukey $< 0,05$

FONTE: o autor (2017).

A contagem de AM nos pontos antes e após o chuveiro não diferiu estatisticamente ($P > 0,05$), mas houve redução numérica de 0,21 Log UFC/cm² na contagem desses microrganismos entre os dois pontos de coleta (TABELA 4). Do ponto após o chuveiro ao ponto após o *chiller* houve aumento ($P = 0,008$) de 0,38 Log UFC/cm² na contagem desses microrganismos, apresentando contagem semelhante ($P > 0,05$) ao ponto antes do chuveiro. Dado o efeito isolado de ponto de coleta, a lavagem das carcaças com maior volume de água não reduz a contaminação da carcaça por esses microrganismos, refletindo em contagens semelhantes dos mesmos ao final do processo de resfriamento (média de 3,17 Log UFC/cm²).

O objetivo dessas etapas (chuveiro e *chillers*) é melhorar ou manter a qualidade microbiológica das carcaças após o resfriamento e se a comparação dos momentos antes e após estas etapas não foi observada mudança significativa é possível considerar que houve controles ao longo do processo de abate, fazendo com o resultado final não dependesse exclusivamente de pontos isolados, mas de um conjunto de medidas de controle ao longo do processo.

TABELA 4 – MÉDIAS E DESVIO PADRÃO (DP) (Log UFC/cm²) PARA CONTAGEM DE AERÓBIOS MESÓFILOS NOS TRÊS PONTOS (A, B, C) EM CARÇAÇAS DE FRANGO QUE FORAM SUBMETIDAS A LAVAGEM COM DOIS VOLUMES DE ÁGUA (T2 E T3).

Ponto de coleta	T2	T3	Média (DP)
A	3,16 (±0,34)	3,22 (±0,34)	3,19 (±0,33) ^{ab}
B	2,96 (±0,25)	3,00 (±0,51)	2,98 (±0,39) ^b
C	3,41 (±0,47)	3,32 (±0,21)	3,36 (±0,35) ^a
Média (DP)	3,17 (±0,41) ^A	3,18 (±0,28) ^A	

A-antes do chuveiro; **B**-após o chuveiro; **C**-após o *chiller*; **T2**- tratamento 2; **T3**-tratamento 3
Médias seguidas por letras maiúsculas diferentes na mesma linha (COMPARAM VOLUME DE ÁGUA) e por letras minúsculas diferentes na mesma coluna (COMPARAM PONTOS DE COLETA) diferem pelo teste de Tukey (P<0,05)

FONTE: o autor (2017).

A contagem de EB antes e após o chuveiro não diferiu estatisticamente (P<0,05), e teve redução numérica de 0,41 Log UFC/cm² entre os dois pontos de coleta (TABELA 5). Houve um incremento (P = <0,000) na contagem desses microrganismos do ponto após o chuveiro ao ponto após o *chiller*, apresentando contagem semelhante (P>0,05) ao ponto antes do chuveiro. A contagem de bactérias das carcaças não diferiu estatisticamente para os dois volumes de água testados. Para os pontos de coletas, a média do Ponto B foi diferente do Ponto A e C. Os pontos A e C não diferiram entre si.

TABELA 5 – MÉDIAS E DESVIO PADRÃO (DP) (Log UFC/cm²) PARA CONTAGEM DE ENTEROBACTÉRIAS NOS TRÊS PONTOS (A, B, C) EM CARÇAÇAS DE FRANGO QUE FORAM SUBMETIDAS A LAVAGEM COM DOIS VOLUMES DE ÁGUA (T2 E T3).

Ponto de coleta	T2	T3	Média (DP)
A	1,27 (±0,40)	1,60 (±0,38)	1,44 (±0,42) ^a
B	0,97 (±0,76)	1,09 (±0,33)	1,03 (±0,57) ^b
C	1,68 (±0,52)	1,80 (±0,31)	1,74 (±0,42) ^a
Média (DP)	1,31 (±0,63) ^A	1,50 (±0,45) ^A	

A-antes do chuveiro; **B**-após o chuveiro; **C**-após o *chiller*; **T2**- tratamento 2; **T3**-tratamento 3:
Médias seguidas por letras maiúsculas diferentes na mesma linha (COMPARAM VOLUME DE ÁGUA) e por letras minúsculas diferentes na mesma coluna (COMPARAM PONTOS DE COLETA) diferem pelo teste de Tukey (P<0,05)

FONTE: o autor (2017).

Estudo realizado por Zweifel, Althaus e Stephan (2015) para contagem total de micro-organismos viáveis, Enterobacteriaceae e *E. coli* em três abatedouros e em diferentes etapas da linha de abate, mostrou que em dois dos três abatedouros

apresentaram redução da contagem de micro-organismos após o chuveiro e um incremento após o *chiller*, para os três grupos de micro-organismos avaliados.

Estas alterações entre os pontos de coletas se comportaram de forma semelhante ao que foi encontrado no presente trabalho, mesmo em menor contagem, onde para todos os grupos avaliados houve incremento da contaminação entre os pontos B e C, mas diferiram estatisticamente. E a média de contagem do Ponto A foi menor que a média do Ponto C, mas também não diferiram tanto para EB quanto para demais grupos de micro-organismos avaliados nos pontos A e C. Houve diferença estatística do Ponto A para o Ponto B, e do Ponto B para o Ponto C, conforme dados apresentados nas TABELAS 4, 5, 6 E 7.

Os resultados são diferentes daqueles encontrados por Cason et al. (2004), que usaram um protótipo de *chiller* contendo gelo e água sem cloro adicional, em amostras de meia carcaças, e obtiveram resultados com diminuição de aproximadamente 0,7 Log₁₀ UFC nas contagens de Enterobacteriaceae, coliformes a 35°C e *E. coli* após o pré-resfriamento em *chiller*, cujas contagens antes *chiller* foram de 6,23 Log₁₀ UFC para amostras controle e 6,46 Log₁₀ UFC amostras contaminadas com fezes propositalmente. Estas médias são mais altas do que as observadas antes do *chiller* e para os mesmos micro-organismos, do presente estudo, média de 1,25 Log UFC/cm².

Bilgili et. al. (2002) estudaram a influência da contaminação gastrointestinal visível em carcaças de frango em duas plantas de abate, e concluíram houve diferença significativa das contagens bacterianas antes e após o pré-resfriamento por imersão entre plantas avaliadas. No entanto as carcaças amostradas com contaminação visível não diferiram (P> 0,05) daquelas sem contaminação visível em ambos os *chillers* amostrados. Essa diferença pode estar associada ao gerenciamento dos programas de autocontrole que cada empresa faz, que pode gerar menor ou maior impacto na qualidade microbiológica das carcaças ao final do processo, conforme destacado anteriormente, item 4.1.

A contagem de CT diminuiu (P = 0,000) em 0,46 Log UFC/cm² do ponto antes do chuveiro ao ponto após o chuveiro, um incremento de 0,61 Log UFC/cm² do ponto após o chuveiro ao ponto após o *chiller* (TABELA 6). As contagens de CT nos pontos antes do chuveiro e após o *chiller* foram semelhantes (P>0,05), com valor médio de 1.65 Log UFC/cm². Já para o volume de água, registrou-se maior

contaminação por CT nas carcaças que foram lavadas no T3 (1,58 Log UFC/cm²) comparadas aquelas que foram lavadas no T2 (1,35 Log UFC/cm²).

TABELA 6 – MÉDIAS E DESVIO PADRÃO (DP) (Log UFC/cm²) PARA CONTAGEM DE COLIFORMES TOTAIS NOS TRÊS PONTOS (A, B, C) EM CARCAÇAS DE FRANGO QUE FORAM SUBMETIDAS A LAVAGEM COM DOIS VOLUMES DE ÁGUA (T2 E T3).

Ponto de coleta	Tratamento		Média (DP)
	T2	T3	
A	1,38 (±0,43)	1,76 (±0,32)	1,57 (±0,42) ^a
B	1,10 (±0,63)	1,13 (±0,54)	1,11(±0,57) ^b
C	1,59 (±0,18)	1,85 (±0,25)	1,72 (0,25) ^a
Média (DP)	1,35 (±0,48) ^B	1,58 (±0,50) ^A	

A-antes do chuveiro; **B**-após o chuveiro; **C**-após o *chiller*; **T2**- tratamento 2; **T3**-tratamento 3
Médias seguidas por letras maiúsculas diferentes na mesma linha (COMPARAM VOLUME DE ÁGUA) e por letras minúsculas diferentes na mesma coluna (COMPARAM PONTOS DE COLETA) diferem pelo teste de Tukey (P<0,05)

FONTE: o autor (2017).

Na contagem obtida para EC observou-se que os resultados com comportamento muito similares às contagens de CT, na qual houve diferença entre os tratamentos e também entre os pontos de coleta, com redução de 0,29 Log UFC/cm² para T2 e 0,51 Log UFC/cm² para T3, do ponto A para o B. A média geral do T2 foi 0,24 Log UFC/cm² a menos que T3 (TABELA 7). Entre os pontos de coleta A e B, e B e C houve diferença estatística, e entre os pontos A e C não houve diferença estatística.

TABELA 7 – MÉDIAS E DESVIO PADRÃO (DP) (Log UFC/cm²) PARA CONTAGEM DE *Escherichia coli* NOS TRÊS PONTOS (A, B, C) EM CARCAÇAS DE FRANGO QUE FORAM SUBMETIDAS A LAVAGEM COM DOIS VOLUMES DE ÁGUA (T2 E T3).

Ponto de coleta	Tratamento		Média (DP)
	T2	T3	
A	1,13 (±0,36)	1,56 (±0,32)	1,35 (±0,40) ^a
B	0,99 (±0,53)	1,02 (±0,53)	1,01 (±0,52) ^b
C	1,38 (±0,20)	1,65 (±0,29)	1,51 (±0,36) ^a
Média (DP)	1,17 (±0,41) ^B	1,41 (±0,47) ^A	

A-antes do chuveiro; **B**-após o chuveiro; **C**-após o *chiller*; **T2**- tratamento 2; **T3**-tratamento 3
Médias seguidas por letras maiúsculas diferentes na mesma linha (COMPARAM VOLUME DE ÁGUA) e por letras minúsculas diferentes na mesma coluna (COMPARAM PONTOS DE COLETA) diferem pelo teste de Tukey (P<0,05)

FONTE: o autor (2017).

A diferença entre os tratamentos mostra que a quantidade de água usada na lavagem pode ter contribuído para redução da contaminação, entre os pontos A e B, o mesmo observado para CT e que será visto mais adiante para EC.

Na avaliação da influência da etapa de lavagem na contaminação superficial de carcaças de frango na Espanha, Escudero-Gilete, González-Miret e Heredia (2005), lavaram carcaças com água após a evisceração em uma capela contendo quatro blocos, com 12-15 kg/cm² e 2 kg/cm² de pressão, posicionados em capela de 225 cm de comprimento, com 32 bicos (28 para laterais e 4 para cima). Após diferentes combinações de volume e pressão, os autores chegaram a conclusão por análises estatísticas multivariadas que o tempo e a quantidade de água não interferiram nos resultados para contagem total de micro-organismos, Enterobacteriaceae e *Staphylococcus*. Somente *Pseudomonas* spp. foi afetado pelo tempo e quantidade de água.

Comparando os resultados das contagens encontradas no presente estudo com os resultados encontrados em estudos anteriores (CASON et. al., 2004; SMITH, et. al. 2005; NORTH CUTT, et. al., 2008; BERRANG e BAILEY, 2009; ZWEIFEL, ALTHAUS e STEPHAN, 2015), tanto as contagens antes do *chiller* (A) e após *chiller* (C) são bem menores para todos os grupos de micro-organismos avaliados.

O reflexo das baixas contagens encontradas nas carcaças no presente estudo, pode estar associado aos autocontroles bem implementados pela indústria nas etapas anteriores, conforme já destacado, contribuindo para baixa quantidade de matéria orgânica nos *chillers* e não sendo possível observar efeito da lavagem nas carcaças quando comparadas imediatamente antes de serem lavadas e após resfriadas. Conforme resultados das médias dos pontos de coletas avaliados A e C de todos os grupos de micro-organismos avaliados.

Em pesquisas diferentes Nortemans e Kampelmacher (1975); Nortemans e Kampelmacher (1980); Zweifel, Althaus e Stephan (2015) sugeriram que a lavagem frequente deve ser realizada para manter uma camada líquida na superfície da carcaça durante o processamento, com o objetivo de impedir a aderência de bactérias à pele diminuindo o número de bactérias firmemente aderidas. E também destacam a importância do ponto da lavagem, que deve ser imediatamente após o ponto de possível ocorrência da contaminação para que a lavagem seja eficiente. Como por exemplo, após a abertura da carcaça ou evisceração que são mais

aconselháveis que outros locais do processo. Estas sugestões estão de acordo com Thomas e McMeekin (1982), que afirmam que o tempo de aderência dos micro-organismos aumenta de acordo com número de bactérias presentes na pele.

Na indústria onde o experimento foi realizado, devido ao alto volume de abate, rapidamente as carcaças passam pela etapa evisceração e chegam ao *chiller* e contam com chuveiro de lavagem logo após a máquina evisceradora. Isso poderia explicar a baixa adesão e a diferença não significativa entre carcaças avaliadas após o resfriamento quando comparado as amostras antes da lavagem.

A etapa de lavagem tem como objetivo reduzir a carga microbiana das carcaças que vão entrar nos *chillers* e, portanto, reduzir a contaminação que ocorre durante o processo, principalmente a contaminação fecal. É possível perceber que a maior vazão entre o tratamento T2 e T3 teve maior influência nas contagens de CT e EC. Talvez porque as contagens desses micro-organismos fossem diferentes antes mesmo da lavagem, sendo que T2 apresentou uma contagem inicial menor que T3. E como apresentado na Tabela 8, a média de redução (Log UFC/cm²) observada entre os pontos A e B para os dois tratamentos não houve diferença estatística para estes pontos em nenhuma das análises microbiológicas realizadas.

TABELA 8 – MÉDIA DE REDUÇÃO DAS VARIÁVEIS MICROBIOLÓGICAS ESTUDADAS ENTRE OS PONTOS A E B PARA OS TRATAMENTOS T2 E T3.

Tratamento	Média Log UFC/cm ² (DP)			
	AM	EB	CT	EC
T2	0,19 (±0,42) ^a	0,29 (±0,67) ^a	0,27 (±0,51) ^a	0,14 (±0,39) ^a
T3	0,22 (±0,44) ^a	0,51 (±0,44) ^a	0,63 (±0,53) ^a	0,54 (±0,52) ^a

AM-aeróbios mesófilos, **EB**-Enterobactérias, **CT**-coliformes totais, **EC**-*Escherichia coli*
Médias seguidas por letras iguais na mesma coluna não diferem pelo teste de Tukey (P<0,05)
FONTE: o autor (2017).

De acordo com Berrang e Bailey (2009), quando são avaliadas isoladamente a eficiência dos pontos de lavagem por aspersão instalados em diferentes pontos do processo de abate não evidencia diminuição das contagens de bactérias patogênicas. Os pesquisadores avaliaram os efeitos individuais e combinados de lavagem em cinco pontos diferentes da linha de abate onde as carcaças foram amostradas antes e após cada ponto de lavagem e avaliadas quanto a presença de *Campylobacter* spp., *E. coli* e *Salmonella* spp. Observou-se diminuição para

Campylobacter spp. de 2,58 Log para 1,15 Log UFC/mL. *Salmonella* spp., a prevalência diminuiu de 80% para 24%, no entanto, essa redução não foi observada em um único ponto. Para *E. coli* a lavagem nos cinco diferentes pontos fez com que houvesse redução de 4,6 para 2,69 Log UFC/mL. Não foi evidenciado a eficiência de lavagem quando avaliado os pontos de lavagem de forma individual.

A instalação de pontos de lavagem em lugares estratégicos com maior chance de ocorrer a contaminação pode ser uma alternativa para redução da contaminação superficial em carcaças. Lillard (1989) através de microscopia eletrônica observou que as células bacterianas inicialmente aprisionadas em filme de água sobre a pele de frango, em seguida, migrou para a pele após imersão numa suspensão de células bacterianas. Mostrando que as bactérias estivessem retidas em sulcos e fendas da pele que se tornam evidentes quando a pele esta imersa em água.

Para Thomas e McMeekin (1982), a pele oferece importante influência na contaminação microbiológica das carcaças, quando são imersas em água. Segundo eles o processo de resfriamento por imersão faz com que a pele forme canais ou sulcos na superfície, como um inchaço. Estes canais podem permitir a penetração profunda de bactérias que estão presentes na superfície, e uma vez nestes canais seriam dificilmente removidas por processo convencional de lavagem, podendo ainda propiciar o incremento da contagem bacteriana após o resfriamento.

Portanto fazer a retirada contínua da camada líquida sobre a pele pode contribuir para que não haja aderência das bactérias devido a retirada destas quando ainda estão presentes no filme aquoso. Apostar em um único ponto no processo com maior volume de água não seria a melhor alternativa, mas sim pequenos volumes e com pressão controlada, para retirada de contaminação recente e manutenção do filme aquoso na superfície da carcaça, evitando adesão firme de bactérias e posterior dificuldade de remoção.

5 CONCLUSÕES

Diante dos resultados apresentados, conclui-se que o chuveiro de lavagem pode final reduzir a contaminação superficial das carcaças durante o processo de abate de aves, mas este efeito não está associado a quantidade de água utilizada. Além disso, a lavagem prévia das carcaças antes de entrar nos *chillers* não garante a qualidade microbiológica das carcaças resfriadas logo após os *chillers*.

A vazão preconizada em legislação (1,5L) comparada com redução de 1/3 (0,5L) de água, não alterou significativamente a contaminação superficial das carcaças após a lavagem, portanto não parece haver justificativa para se utilizar mais água para descontaminação das carcaças no chuveiro final, pois estatisticamente a redução da contaminação entre o maior e menor volume foram iguais.

Entre os micro-organismos indicadores estudados, aeróbios mesófilos foram únicos micro-organismos que não tiveram as contagens influenciadas pela lavagem do chuveiro final, apresentando menor oscilação, sugerindo, portanto, outros estudos para analisar se é o mais indicado para gerenciamento de desvios de higiene e qualidade microbiológica das carcaças de frango nas etapas estudadas no presente experimento, sendo que os indicadores associados a contaminação fecal (EB, CT e EC) apresentaram comportamento semelhante e pareceram responder melhor aos efeitos da descontaminação superficial das carcaças de frango após os pontos B e C.

REFERÊNCIAS

- ABPA - Associação Brasileira de Proteína Animal. **Relatório Anual ABPA 2016**. Disponível em: <<http://abpa-br.com.br/setores/avicultura/publicacoes/relatorios-aneais/2016>>. Acesso em: 02 fev. 2017.
- AIYEGOR, O. A. Spoilage, Factors Affecting Microbiological. In Diekeman & Devine, **Encyclopedia of Meat Sciences**. Edição: 2, volume 2. Reunio Unido: Elsevier, P. 289-293, 2014.
- ALLEN, V. M., CORRY, J. E. L., BURTON, C. H., WHYTE, R. T., MEAD, G. C. Hygiene aspects of modern poultry chilling. **International Journal of Food Microbiology**, 58:3948. 2000.
- APHA. American Public Health Association. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. Washington, Edição: 4, 2001.
- BASHOR, M. P.; CURTIS, P. A.; SHELDON, B. W.; KATHARIOU, S.; ORBORNE, J. A.; Effect of carcass washers on Campylobacter contamination in large broiler processing plants. **Poultry Science**, v.38, p.1232-1239, 2004.
- BELLUCO, S., BARCO, L., ROCCATO, A., RICCI, A. Escherichia coli and Enterobacteriaceae counts on poultry carcasses along the slaughterline: A systematic review and meta-analysis. **Food Control**. v. 60, p. 269-280, 2016.
- BERRANG, M.E.; BAILEY, J.S. On-line brush and spray washers to lower numbers of Campylobacter and Escherichia coli and presence of Salmonella spp. on broiler carcasses during processing. **Journal Applied Poultry Research**. v.18:74-78. 2009.
- BILGILI, S.F.; WALDROUP, A.L.; ZELENKA, D. MARIONS, J.E. Visible ingesta on carcasses does not affect the microbiological quality of broiler carcasses after immersion chilling. **Journal Applied Poultry Research**. v.11, pag. 233-238, 2012.
- BUCHANAN, R.L.; ONI, R. Use of microbiological indicators for assessing hygiene controls for the manufacture of powdered infant formula. **Journal of Food Protection**, v. 75, p. 989-997, 2012.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E DO ABASTECIMENTO (Brasil). Portaria no. 210 de 10 de novembro de 1998. Regulamento Técnico da Inspeção Tecnológica e Higiênico-Sanitária de Carne de Aves. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 26 de nov. 1998.
- BRASIL – Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC nº 12, de 02 janeiro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. **Diário Oficial da União**. Brasília, 2001.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Circular nº 369 de 2 de junho de 2003. Instruções para elaboração e implantação dos sistemas PPHO e APPCC nos estabelecimentos habilitados à exportação de carnes. **Diário Oficial da União**. Brasília, 2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Circular nº. 175 de 16 de maio de 2005. Procedimentos de Verificação dos Programas de Autocontrole. **Diário Oficial da União**, Brasília, 2005a.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Circular nº. 176 de 16 de maio de 2005. Modificação das instruções para a verificação do PPHO, encaminhados pela Circular Nº 201/97 DCI/DIPOA e aplicação dos procedimentos de verificação dos Elementos de Inspeção previstos na Circular Nº 175/2005 CGPE/DIPOA. **Diário Oficial da União**. Brasília, 2005b.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Circular nº. 668 de 19 de setembro de 2006. Diretrizes para preparação de Plano de APPCC (HACCP) para o processo de abate de aves. **Diário Oficial da União**, Brasília, 2006.

BRASIL. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Estatística da Produção Pecuária – Setembro de 2016. Disponível em: <ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Pecuaria/Fasciculo_Indicadores_IBGE/abate-leite-couro-ovos_201602caderno.pdf>. Acesso em: 25 de janeiro 2017.

CARAWAN, R. E.; MERKA. Poultry CEO'S: You May Have a \$60 Million Opportunity! **North Carolina Cooperative Extension Service.**, ed. Publication Number: CD-24. 1996.

CASON, J.A.; BERRANG, M.E.; BUHR, R.J.; COX, A.A. Effect of prechill fecal contamination on the number of bacteria recovered from broiler chicken carcasses before and after immersion chilling. **Journal of Food Protection**, v. 67, p. 1829-1833, 2004.

CASON, J.A.; HINTON, A.; NORTHCUTT JR., J.K.; BUHR, R.J.; INGRAM, K.D.; SMITH, D.P.; COX, N.A. Partitioning of external and internal bacteria carried by broiler chickens before processing. **Journal of Food Protection**, v. 70, p. 2056-2062, 2007.

CAST - Council for Agricultural Science and Technology. Waste Management and Utilization in Food Production and Processing. Task Force Report No. 124, pag. 86-95., Ames, Iowa, 1995. Disponível em: <<http://infohouse.p2ric.org/ref/25/24474.pdf>>. Acesso em: 10 fev 2017.

CODEX ALIMENTARIUS. Hazard Analysis and Critical Control Point (HACCP) system and guidelines for its application. **Annex to CAC-RCP 1-1969**, Rev. 3, Food and Agriculture Organization on the United Nations – FOA, 1997.

COX, N. A., RICHARDSON, L. J., BAILEY, J. S., COSBY, D. E., CASON, J. A., MUSGROVE, M. T. Bacterial contamination of poultry as a risk to human health. In Mead, J. C. **Food Safety Control in the Poultry Industry**. Cambridge, England: Woodhead Publishing Limited, p. 21-35. 2005.

EC. EUROPEAN COMMISSION. **Regulamento no 1441/2007** da comissão de 5 de Dezembro de 2007. Altera o Regulamento (CE) n. 2073/2005 relativo a critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios. Jornal Oficial da União Europeia. L. 332/12, 2007.

ESCUADERO-GILETE, M.L.; GONZÁLEZ-MIRET, M.L.; HEREDIA, F. J. Multivariate study the decontamination process as function of time, pressure and quantity of water used in whashing stage after evisceration in poultry meat production. **Journal of Food Engineering**, v. 69, 245-251, 2005.

ETBPP - Environmental Technology Best Practice Programme. **Reducing Water and Effluent Costs in Poultry Meat Processing**. Guide GG233; 2000. Disponível em: <<http://www.envirowise.gov.uk>>. Acesso em: 11 fev 2017.

FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations - OECD/FAO (2016), OECD-FAO Agricultural Outlook 2016-2025, OECD Publishing, Paris, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1787/agr_outlook-2016-en>. Acesso em: 10 fev 2017.

FORMENTINI, D. F.; COSTANZI, R. N.; NETO, A.; MORAIS, J.; HASHISUCA, A.; PAULILO, G. Water conservation and reuse in poultry slaughterhouse of Matelandia-PR Brazil - A case study. In: **14th Ramiran International Conference, Lisboa, Lisboa - Portugal**. Setembro, 2010. Disponível em: <http://ramiran.uvlf.sk/ramiran2010/docs/Ramiran2010_0210_final.pdf>. Acesso em: 05 fev 2017.

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da segurança alimentar**. Porto Alegre: Artmed, 2002.

FRANCO, B. D. G. M., LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Ateneu, 2008.

FSIS. FOOD SAFETY AND INSPECTION SERVICE. Laboratory Guidebook Notice of change isolation and identification of Salmonella from meat, poultry, pasteurized egg and catfish products – MLG 4.05, Athens, GA, 2011.

FSIS. FOOD SAFETY AND INSPECTION SERVICE. The Nationwide Microbiological Baseline Data Collection Program: Raw Chicken Parts Survey. United States, 2012.

GILL, C. O.; PENNEY N. Penetration of bacteria into meat. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 33, nº 3, p. 1284–1286, 1977.

GILL, C. O. Microbial Contamination of Processed Meat. In Diekeman & Devine, **Encyclopedia of Meat Sciences**. Edição: 2, volume 3. Reunio Unido: Elsevier, P. 388-393, 2014.

GHAFFIR, Y.; CHINA, B.; DIERICK, K.; DE ZUTTER, L.; DAUBE, G. Hygiene Indicator Microorganisms for Selected Pathogens on Beef, Pork, and Poultry Meats in Belgium. **Journal of Food Protection**, v. 71, nº 1, p. 35- 45, 2008.

HONG, C. H.; TODD, E. C. D.; BAHK, G. J. Aerobic plate counts as a measure of hazard analysis critical control point effectiveness in a pork processing plant. **Journal of Food Protection**, v. 71, nº 6, p. 1248-1252, 2008.

HUTCHISON, M. L.; WALTERS, L. D.; MEAD, G. C.; HOWELL, M.; ALLEN, V. M. An assessment of sampling methods and microbiological hygiene indicators for process verification in poultry slaughterhouses. **Journal of Food Protection**, v. 69, nº 1, p. 145-153, 2006.

ICMSF - International Commission on Microbiological Specifications for Foods. **Microorganisms in Foods 8: Use of Date For Assessing Process Control and Product Acceptance**. Nova York. Editora: Springer, p. 3-11, 2011.

JAMES, C. On-line physical methods for decontaminating poultry meat. In Mead, J. C. **Food Safety Sontrol in the Poultry Industry**. Cambridge, England: Woodhead Publishing Limited, p. 393-408. 2005.

JAY, J. M.; LOESSNER, M. J.; GOLDEN, D. A. **Modern Food Microbiology**. Edição: 7. Nova York, Springer, 2005.

JAFFE, S. M.; PHILLIPS, J. D. Water Reuse and Pathogen Reduction Part of the Solution or Part of the Problem? **Zentox Corporation**, 538 Wythe Creek Road, Poquoson, VA 23662. 2004.

JIMÉNEZ, S.M.; SALSI, M.S.; TIBURZI, M.C.; PIROVANI, M.E. A comparison between broiler chicken carcasses with and without visible faecal contamination during the slaughtering process on hazard identification of Salmonella spp. **Journal of Applied Microbiology**, v.93, p.593–598, 2002.

LILLARD, H. S. Factors Affecting the Persistence of Salmonella During the Processing of Poultry. **Journal of Food Protection**. v. 52, n.11, pp. 829-832,1989.

MANAFI, M. Media for detection and enumeration of 'total' Enterobacteriaceae, coliforms and Escherichia coli from water and foods. In Corry et al. **Handbook of Culture Media for Food Microbiology**. Editora: Elsevier, 2003.

MULDER, R. W. A. W., Managing the safety and quality of poultry meat. In Mead G. C., **Poultry Meat Processing and Quality**. Edição: 1. Cambridge, England: Woodhead Publishing Limited, p. 332-344. 2004.

MEAD, G. C. Meat quality and consumer requirements. In Mead G. C. **Poultry Meat Processing and Quality**. Edição: 1. Cambridge, England: Woodhead Publishing Limited, p. 1-18, 2004a.

MEAD, G. C. Shelf-life and spoilage poultry meat. In Mead G. C. **Poultry Meat Processing and Quality**. Edição: 1. Cambridge, England: Woodhead Publishing Limited, p. 283-298, 2004b.

MEAD, G. C.; HUDSON, W. R.; HINTON, M. H. Use of a marker organism in poultry processing to identify sites of cross—contamination and evaluate possible control mea-sures. **British Poultry Science**. V. 35, p. 345–354, 1994.

MOSSEL, D. A. A.; WEENK, G. H.; MORRIS, G. P.; STRUIK, C. B. Identification, assessment, and management of food related microbiological hazards: historical, fundamental, and psycho-social essentials. **International Journal of Food Microbiology**. V. 40, p. 211–243, 1998.

NARASIMHA, D. R. & SACHINDRA, N. M. Modified atmosphere and vacuum packaging of meat and poultry products, **Food Reviews International**, v. 18, nº 4, p. 263–293, 2002.

NORTHCUTT, J.K., Jones D.R. A survey of water use and common industry practices in commercial broiler processing facilities. **Journal of Applied Poultry Research**, volume 13, pag. 48-54, Março, 2004. Disponível em: <<https://academic.oup.com/japr/article-lookup/doi/10.1093/japr/13.1.48>>. Acesso em: 10 fev 2017.

NORTHCUTT, J. K.; CASON, J. A.; SMITH, D. P.; BURH, R. J.; FLETCHER, D. L. Broiler carcass bacterial counts after immersion chilling using either a low or high volume of water. **Journal Poultry Science**. v. 85, p. 1802-1806, 2006.

NORTHCUTT, J. K.; CASON, J. A.; SMITH, D. P.; BURH, R. J.; FLETCHER, D. L. Recovery of bacteria from broiler carcasses after immersion chilling in different volumes of water, part 2. **Poultry Science**, v.87, p. 573-576, 2008.

NYCHAS, G-J. E.; MARSHALL, D. L.; SOFOS, J. N. Microbial spoilage and public health concerns: Meat, poultry, and seafood. In Doyle & Beuchat. **Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers**. Edição: 3. Whashington, DC: AMS Press, p. 69-83, 2007.

ONU – United Nations Organizations, Department of Economic and Social Affairs, Population Division, **World Population Prospects: The 2015 Revision**, Data Booklet. ST/ESA/SER.A/377 - 2015. Disponível em: <<https://esa.un.org/unpd/wpp/Publications/>>. Acesso em: 02 fev. 2017.

PACHOLEWICZ, E.; SWART, A.; SCHIPPER, M.; GORTEMAKER, B. G. M.; WAGENAAR, J. A.; HAVELAAR, A. H.; LIPMAN, L. J. A.; A comparison of fluctuations of Campylobacter and Escherichia coli concentrations on broiler chicken carcasses during processing in two slaughterhouses. **International Journal of Food Microbiology**. v. 205, p. 119-127, 2015.

PACHOLEWICZ, E.; BARUS, S. A. S.; SWART, A.; HAVELAAR, A. H.; LIPMAN, L. J. A.; LUNING, P. A. Influence of food handlers' compliance with procedures of poultry carcasses contamination: A case study concerning evisceration in broiler slaughterhouses. **Food Control**. v. 68, p. 367-378, 2016.

PIERSON, M. D.; ZINK, D. L.; SMOOT, L. M. Factors of special significance to food microbiology: Indicator microorganisms and microbiological criteria. In Doyle & Beuchat. **Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers**. Edição: 3. Whashington, DC: AMS Press, p. 69-83, 2007.

POONI, G. S.; MEAD, G. C. Prospective use of temperature function integration for predicting the shelf-life of non-frozen poultry-meat products. **Food Microbiology**, p. 67-78, 1984.

SILVA, José Luiz Araújo da. Avaliação da gestão do uso da água em abatedouros de aves. 129 folhas. **Dissertação de Mestrado**. Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2007. Disponível em: <<http://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/6441>>. Acesso em: 31 jan. 2017.

RITTER, R. Contaminação bacteriana da água do sistema de pré-resfriamento de frangos e sua influência na vida de prateleira de frangos resfriados e refrigerados. **Dissertação** (Mestrado em Ciências Veterinárias) Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2000.

SKANDAMIS, P. N.; TSIGARIDA, E. T.; NYCHAS G-J. E. Modified atmosphere packaging and the safety of poultry meat. In Mead, J. C. **Food Safety Control in the Poultry Industry**. Cambridge, England: Woodhead Publishing Limited, p. 486-513. 2005.

SMITH, D.P.; CASON, J.A.; BERRANG, M.E. Effect of fecal contamination and cross-contamination on numbers of coliform, Escherichia coli, Campylobacter, and Salmonella on immersion-chilled broiler carcasses. **Journal of Food Protection**, v. 68, p. 1340-1345, 2005.

TORTORELLO, M. L. Indicator Organisms for Safety and Quality - Uses and Methods for Detection: Minireview. **Journal of AOAC International**, vol. 86, nº 6 INTERNATIONAL VOL. 86, NO. 6, p.1208-1217, 2003.

THOMAS C. J.; D'ROUKE R. D.O.; McMEEKIN T. A.; Bacterial penetration of chicken breast muscle. **Food Microbiology**, V.4, p.87-95, 1987.

THOMAS, C. J.; McMEEKIN, T. A. Effect of water immersion on the microtopography of the skin of chicken carcasse. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 32, 549-554, 1982.

U.S. Environmental Protection Agency - USEPA. Development document for effluent limitation guidelines and new source performance standards for the poultry segment of the meat product and rendering processing point source category. **EPA-440/1-75-031b. Effluent Guidelines Division**, Office of Water and Hazardous Materials, Washington, DC. (DCN 00140). 1975.

WESSLING, C. R. Penetração de Salmonella em Peitos de Frango Mantidos em Diferentes Temperaturas de Refrigeração e Relação com a Presença da Microbiota Deterioradora. **Dissertação de Mestrado em Ciência Animal**. Universidade Federal do Paraná, Campus Palotina. Palotina: 2014.

ZWEIFEL, C.; ALTHAUS, D.; STEPHAN, R. Effects of slaughter operations on the microbiological contamination of broiler carcasses in three abattoirs. **Food Control**. V. 51, p. 37-42, 2015.

APÊNDICE A – RESULTADOS DAS ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS (LOG UFC/CM²) DOS MICRO-ORGANISMOS INDICADORES ESTUDADOS NAS AMOSTRAS DE CARÇAÇAS DE FRANGO EM CADA REPETIÇÃO.

Repetição	Microrganismo	Tratamento 1 (0L/carcaças)		Tratamento 2 (1L/carcaça)			Tratamento 3 (1,5L/carcaça)		
		A-antes chuveiro	C - após chiller	A-antes chuveiro	B- após chuveiro	C - após chiller	A-antes chuveiro	B- após chuveiro	C - após chiller
1	A. Mesófilos	3,386	3,403	3,168	3,328	2,941	3,503	3,381	3,270
2	A. Mesófilos	3,369	3,104	3,232	3,313	3,129	2,881	3,222	3,459
3	A. Mesófilos	3,899	3,465	3,556	3,014	3,205	3,674	4,110	3,551
4	A. Mesófilos	2,881	2,924	3,154	2,806	3,349	2,921	2,914	3,329
5	A. Mesófilos	2,688	3,452	3,204	2,548	3,22	3,602	3,265	3,643
6	A. Mesófilos	3,054	3,086	2,531	2,931	3,204	3,184	2,404	2,910
7	A. Mesófilos	2,763	2,709	3,529	3,024	3,358	2,580	2,602	3,096
8	A. Mesófilos	3,237	2,602	3,178	3,142	4,488	3,283	2,944	3,254
9	A. Mesófilos	3,054	3,702	2,656	2,931	4,782	3,409	2,514	3,375
10	A. Mesófilos	3,391	3,044	3,486	2,659	3,877	3,258	2,675	3,318
1	Enterobactérias	1,675	1,415	1,587	1,186	0,681	1,748	1,239	1,471
2	Enterobactérias	1,301	0,522	1,467	1,853	1,496	1,627	1,656	1,630
3	Enterobactérias	2,030	1,124	1,997	1,255	1,593	1,837	1,403	1,778
4	Enterobactérias	0,938	1,514	0,681	0,125	1,531	1,204	1,054	2,537
5	Enterobactérias	1,204	1,38	1,000	0	1,623	1,97	0,903	1,426
6	Enterobactérias	0,125	0,602	1,437	1,58	1,869	1,404	0,857	1,824
7	Enterobactérias	0,778	1,079	0,865	1,861	1,763	0,938	0,806	1,934
8	Enterobactérias	1,806	1,204	1,587	1,334	1,635	1,738	1,505	1,899
9	Enterobactérias	1,896	1,595	0,982	0,778	2,844	2,236	0,865	1,869
10	Enterobactérias	1,286	1,028	1,107	-0,176	1,811	1,392	0,669	1,675
1	C. totais	1,768	1,833	1,841	1,125	1,487	2,000	1,166	1,540
2	C. totais	1,556	1,204	1,693	1,982	1,587	1,602	1,797	1,758
3	C. totais	2,189	1,704	1,970	1,238	1,539	1,970	1,840	1,865
4	C. totais	1,271	1,329	1,028	0,125	1,888	1,727	1,166	2,41
5	C. totais	0,970	1,669	0,602	0	1,556	1,951	0,824	1,847
6	C. totais	1,166	1,329	1,602	1,38	1,917	1,656	1,028	1,758
7	C. totais	1,329	1,271	0,903	1,271	1,329	1,239	0,903	1,669
8	C. totais	1,888	1,426	1,239	1,806	1,54	1,988	1,738	2,145
9	C. totais	1,917	2,054	1,487	1,125	1,447	2,246	0,727	1,924
10	C. totais	1,204	0,727	1,447	0,970	1,669	1,301	0,125	1,669
1	E. coli	1,487	1,556	1,727	1,239	1,355	1,938	0,970	1,487
2	E. coli	1,425	1,028	1,539	1,704	1,301	1,522	1,726	1,656
3	E. coli	2,005	1,447	1,125	1,166	1,238	1,748	1,681	1,726

4	E. coli	1,125	1,125	0,970	0,125	1,758	1,467	1,125	2,158
5	E. coli	0,970	1,329	0,426	0	1,487	1,849	0,824	1,355
6	E. coli	1,028	1,028	1,355	1,125	1,587	1,616	1,028	1,556
7	E. coli	0,970	0,970	0,824	1,204	1,079	0,903	0,727	1,239
8	E. coli	1,656	0,824	1,028	1,426	1,239	1,705	1,63	2,023
9	E. coli	1,824	1,924	1,166	1,028	1,239	1,797	0,426	1,865
10	E. coli	0,970	0,426	1,239	0,970	1,540	1,125	0,125	1,505