

DENISE OLIVEIRA PACHECO

**Qualidade microbiológica da cadeia de carne de aves da região
Sul do Rio Grande do Sul, Brasil**

Dissertação apresentada ao Programa
de Pós-Graduação em Nutrição e
Alimentos da Universidade Federal de
Pelotas, como requisito parcial à
obtenção do título de Mestre em
Nutrição e Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Eliezer Ávila Gandra

Co-orientadora: Profa. Dra. Elizabete Helbig

Pelotas, 2013

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

P116q Pacheco, Denise Oliveira

Qualidade microbiológica da cadeia de carne de aves da região sul do Rio Grande do Sul, Brasil / Denise Oliveira Pacheco; Eliezer Ávila Gandra, orientador; Elizabete Helbig, coorientadora. - Pelotas, 2014.

113 f.: il.

Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos, Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Pelotas, 2014.

1. Frangos. 2. Micro-organismos indicadores. 3. *Salmonella spp.*
4. *Listeria monocytogenes*. I. Gandra, Eliezer Ávila, orient. II. Helbig, Elizabete, co-orient. III. Título.

CDD: 664.93

Catalogação na Fonte: Aline Herbstrith Batista CRB 10/ 1737
Biblioteca Campus Porto

*Ao meu porto seguro,
Sérgio, dedico.*

Agradecimentos

A Deus, fonte de vida e inspiração

A minha família, pelo carinho e incentivo mesmo à distância.

Ao meu querido orientador, Prof. Eliezer Ávila Gandra, pelo apoio e compreensão durante essa jornada intensa chamada Mestrado; por confiar e apostar no meu potencial, as vezes mais do que eu mesma, por todo o conhecimento e experiências transmitidos. Se um dia eu for metade do profissional que ele é, estarei satisfeita.

À Professora, coordenadora do PPGNA e minha co-orientadora, Elizabete Helbig, por estar sempre disposta a solucionar os nossos problemas, pela convivência e exemplo de profissionalismo e conduta.

À professora Jozi Mello, por me nortear quando precisei, pela amizade e convivência carinhosa durante a minha estada no laboratório de Microbiologia de Alimentos da Faculdade de Nutrição.

A todos os professores e funcionários do Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos, pela acolhida carinhosa.

Ao amigo Valmor, da Secretaria da Agricultura, Pecuária, Pesca e Agronegócio de Pelotas, por ter nos possibilitado a realização deste trabalho, pelas ideias valiosas, por toda ajuda.

Aos estagiários mais queridos e eficientes que existe, Fatiele, Lenon e Karen. Eles foram mais do que presentes, foram essenciais para a realização deste trabalho. Saibam que eu nunca vou esquecer toda a ajuda que me deram, de todos os finais de semana e feriados que vocês abdicaram de seus afazeres para apoiar os meus, de todas as vezes que nos reunimos pra escrever trabalhos pra congressos e afins, e acima de tudo, da amizade recíproca que construímos. “Unir-se é um bom começo, manter a união é um progresso, e trabalhar em conjunto é a vitória”. A minha vitória também é de vocês.

As colegas Jakke e Luciana, pela ajuda nas análises e convivência durante a nossa jornada.

As queridas colegas, Fernanda e Larissa, minhas companheiras e parceiras já no final da minha jornada. Foi um prazer e uma alegria ter

trabalhado com vocês, espero que essa parceria continue por muito tempo e renda ainda muitos frutos.

As colegas do Laboratório de Microbiologia de Alimentos – MICROBIAL, Simone, Márcia e Tatiane, pelas orientações e ensinamentos que me passaram, valiosos para a realização da pesquisa em laboratório.

As técnicas dos laboratórios da Faculdade de Nutrição: Ângela, Joana, Rosi, Evelise e Renata, pelos conhecimentos transmitidos, pelas longas conversas, risadas e rodadas de chimarrão que fizeram meus dias mais alegres e descontraídos.

À Dna. Marilda, pelos deliciosos quitutes e cafezinhos, sempre salvando nossas manhãs famintas.

À tia mais querida da portaria, Eliane, pelo carinho, conversas irreverentes e todos os almoços que fizemos juntas.

Aos colegas da melhor turma de mestrado que já existiu, por tornarem tudo mais alegre, pela harmonia que sempre existiu, pelo espírito de unidade e amizade que formamos.

A minha cunhada Talita, que mesmo distante me incentiva e vibra com as minhas conquistas.

As minhas amigas queridas Marina, Débora, Indria e Luísa pelo apoio e incentivo, por acreditarem em mim, pela amizade bonita e duradoura que nutrimos há tanto tempo.

Ao meu namorado Sérgio, pelo apoio incondicional, pela compreensão, pelos momentos de distração, pela ajuda durante as coletas, por ter “vestido a camiseta” e até mesmo o jaleco quando precisei. Por tudo. Boa parte de quem eu me tornei também é mérito teu.

A todos que ajudaram e contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho.

Muito obrigada!

"Se te contentas com os frutos ainda verdes, toma-os, leva-os, quantos quiseres. Se o que desejas, no entanto, são os mais saborosos, maduros, bonitos e suculentos, deverás ter paciência. Senta-te sem ansiedades. Acalma-te, renuncia, medita e guarda silêncio. Aguarda. Os frutos vão amadurecer."

Hermógenes.

RESUMO

Pacheco, Denise Oliveira. **Qualidade microbiológica da cadeia de carne de frangos da região Sul do Rio Grande do Sul, Brasil**. 2013. 112f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

A carne de frango é uma importante fonte de proteína animal de custo acessível para a população brasileira. No entanto, sua inocuidade também deve ser considerada e avaliada haja vista a possibilidade de contaminação eminente em toda a cadeia deste produto. Diante do exposto, objetivou-se avaliar a qualidade microbiológica da cadeia de frangos da região Sul do Rio Grande do Sul, Brasil, bem como, fazer uma comparação desta qualidade entre cortes de diferentes marcas disponíveis no comércio varejista na cidade de Pelotas. Para isso, realizou-se a quantificação de coliformes totais e termotolerantes, *Escherichia coli*, micro-organismos psicrotróficos, *Pseudomonas spp.*, e pesquisa de *Salmonella spp.* e *Listeria monocytogenes*. Pela elevada contagem de coliformes totais, observou-se que as etapas do processamento industrial não atuaram com eficácia na diminuição da concentração de coliformes, como era esperado. Já para coliformes termotolerantes, observou-se decréscimo da contaminação com o decorrer da cadeia. Porém, na análise dos cortes de frangos de três marcas distintas, os das marcas A e B apresentaram 30% (para ambas as marcas) das amostras acima do limite máximo estipulado pela legislação brasileira, seguidos pelas amostras da marca C (5,6%). Foi possível enumerar *E. coli* em todos os pontos avaliados da cadeia de frangos, exceto nas amostras de água da escaldagem e do pré-chiller. Nas amostras do varejo, em três (16,7%) amostras de cortes da marca C observou-se contaminação por esta bactéria enquanto nas outras marcas não houve incidência. As médias de contagens para microorganismos psicrotróficos e bactérias do gênero *Pseudomonas spp.* aumentaram consideravelmente nas etapas varejo e ambiente doméstico. Verificou-se presença de *Salmonella spp.* em todos os pontos amostrados no abatedouro. Nos pontos varejo e ambiente doméstico obteve-se ausência deste patógeno. Isolou-se bactérias do gênero *Listeria spp.* em toda a cadeia de frangos, havendo maior incidência de *L. monocytogenes*, observada nas etapas antes

da escaldagem e ambiente doméstico. Ao comparar as três marcas avaliadas, apenas na marca A foi obtido presença deste patógeno. Conclui-se que houve deficiência higiênico-sanitária no processamento e armazenamento em toda a cadeia de frangos, evidenciando a necessidade de readequação e maior atenção aos Programas de Autocontrole ainda no abatedouro, e, às práticas higiênicas em toda cadeia.

Palavras-chave: Frangos. Micro-organismos Indicadores. *Salmonella spp.*. *Listeria monocytogenes*.

ABSTRACT

Pacheco, Denise Oliveira. **Microbiological quality of the chain of broiler from southern Rio Grande do Sul, Brazil.** 2013. 112f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

Chicken meat is an important source of affordable animal protein for the Brazilian population. However, its safety must also be considered and evaluated in view of the imminent possibility of contamination throughout the chain of this product. Therefore, it was aimed to evaluate the microbiological quality of broiler chain in southern Rio Grande do Sul, Brazil, as well as making a comparison between different quality of cuts in brands available in the retail trade in the city of Pelotas. To achieve this goal, it was made the quantification of total and fecal coliforms, *Escherichia coli*, psychrotrophic microorganisms, *Pseudomonas spp.* and *Salmonella spp.* and *Listeria monocytogenes* research. By the high counts of coliforms, it was observed that the industrial processing steps did not act with efficacy in decreasing the concentration of coliforms, as expected. As for thermotolerant coliforms, there was a decrease of contamination in the course of the chain. However, in the analysis of chicken cuts in three distinct brands, A and B presented 30% (for both brands) of samples exceeding the maximum limit stipulated by Brazilian law, followed by samples of brand C (5.6%). It was possible to enumerate *E. coli* at all evaluated points in the chain of broiler, except for the samples of scalding water and pre-chiller. In the retail samples, in three (16.7%) cut samples from mark C was observed contamination by this bacteria while in the other brands there was no incidence. The mean scores for psychrotrophic microorganisms and bacteria of the genus *Pseudomonas spp.* increased considerably in the retail and consumer stages. It was found *Salmonella spp.* at all points sampled at the abattoir. In retail and consumer points obtained absence of this pathogen. Bacteria of the genus *Listeria spp.* were isolated throughout the chain of broiler, with a higher incidence of *L. monocytogenes* observed in stages prior to scalding and consumer. When comparing the three brands evaluated, only the A brand has obtained the presence of this pathogen. It was concluded that there was hygienic deficiency

in processing and storage in the entire chain of broiler, highlighting the need for readjustment of hygienic practices throughout the chain, being necessary to direct actions for all involved, including the final consumer.

Keywords: Chickens. Indicator Microorganisms. *Salmonella* spp.. *Listeria monocytogenes*.

Lista de Figuras

Artigo 1 - *Salmonella spp.*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas spp.*, *Listeria monocytogenes* e micro-organismos indicadores na cadeia de carne de aves da região Sul do Rio Grande do Sul, Brasil

- Figura 1 -** Média e desvio padrão das concentrações de coliformes totais (a) e termotolerantes (b) em amostras provenientes de pontos específicos da cadeia de carne de aves da região Sul do Rio Grande do Sul, Brasil..... 63
- Figura 2 -** Média e desvio padrão da enumeração de *Escherichia coli* em amostras provenientes de pontos específicos da cadeia de carne de aves da região Sul do Rio Grande do Sul, Brasil 69
- Figura 3 -** Média e desvio padrão da quantificação de micro-organismos psicrotróficos (a) e bactérias do gênero *Pseudomonas spp.* (b) em amostras provenientes de pontos específicos da cadeia de carne de aves da região Sul do Rio Grande do Sul, Brasil..... 71

Artigo 2 - Qualidade microbiológica de cortes de frango de diferentes marcas comercializadas na região Sul do Rio Grande do Sul, Brasil.

- Figura 1 -** Médias das concentrações de coliformes termotolerantes e *Escherichia coli* em cortes de frangos de três marcas distintas comercializadas na região Sul do Rio Grande do Sul, Brasil..... 100

Lista de Tabelas

Artigo 1 - *Salmonella spp.*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas spp*, *Listeria monocytogenes* e micro-organismos indicadores na cadeia de carne de aves da região Sul do Rio Grande do Sul, Brasil.

- Tabela 1 -** Médias das concentrações de coliformes totais e termotolerantes, *Escherichia coli*, psicotróficos e *Pseudomonas spp* em pontos específicos da cadeia de carne de aves da região Sul do Rio Grande do Sul, Brasil 65
- Tabela 2 -** Valores de p^* obtidos no Teste de Tukey na comparação entre as concentrações de coliformes totais e termotolerantes, *Escherichia coli*, psicotróficos e *Pseudomonas spp* em pontos específicos da cadeia de carne de aves da região Sul do Rio Grande do Sul, Brasil 66
- Tabela 3 -** Espécies de *Listeria spp.* isoladas em amostras provenientes de pontos específicos da cadeia de carne de aves da região Sul do Rio Grande do Sul, Brasil..... 76

Artigo 2 - Qualidade microbiológica de cortes de frango de diferentes marcas comercializadas região Sul do Rio Grande do Sul, Brasil.

- Tabela 1 -** Enumeração de coliformes termotolerantes e *Escherichia coli* em cortes de frangos de três marcas distintas comercializadas na região Sul do rio Grande do Sul, Brasil 101
- Tabela 2 -** Presença de *Salmonella spp.*, *Listeria monocytogenes* e *Listeria ivanovii* em cortes de frangos de três marcas distintas comercializados na região Sul do Rio Gande do Sul, Brasil 102

Sumário

1 Introdução geral	14
2 Projeto de Pesquisa	17
3 Revisão de Literatura	43
3.1 Carne de Frango	43
3.1.1 Mercado interno e externo.....	43
3.1.2 Microbiologia do processamento de frangos	44
3.1.3 Microbiologia da carne de frango	45
3.1.3.1 Coliformes totais e termotolerantes	46
3.1.3.2 <i>Escherichia coli</i>	47
3.1.3.3 Micro-organismos psicotróficos e <i>Pseudomonas spp.</i>	48
3.1.3.4 <i>Salmonella spp</i>	49
3.1.3.5 <i>Listeria monocytogenes</i>	50
4 Relatório do trabalho de campo.....	52
Artigo a ser submetido à revista Food Control : <i>Salmonella spp.</i>, <i>Escherichia coli</i>, <i>Pseudomonas spp</i>, <i>Listeria monocytogenes</i> e micro- organismos indicadores na cadeia de carne de aves da região Sul do Rio Grande do Sul.....	53
Resumo	54
1 Introdução.....	55
2 Material e Métodos	57
2.1 Coleta das amostras	57
2.2 Análises microbiológicas	59
2.2.1 Quantificação de coliformes totais e termotolerantes	59
2.2.2 Quantificação de <i>Escherichia coli</i>	59
2.2.3 Quantificação de micro-organismos psicotróficos.....	60

2.2.4 Quantificação de <i>Pseudomonas</i> spp.....	60
2.2.5 Análise de <i>Salmonella</i> spp.	60
2.2.6. Análise de <i>Listeria monocytogenes</i>	61
2.3 Análise estatística	61
3 Resultados e Discussão	61
3.1 Coliformes totais e termotolerantes	61
3.2 <i>Escherichia coli</i>	69
3.3 Micro-organismos psicrófilos e <i>Pseudomonas</i> spp.....	71
3.5 Análise de <i>Salmonella</i> spp.	75
3.6 Análise de <i>Listeria monocytogenes</i>	76
4 Conclusões	79
5 Referências	80
Artigo a ser submetido à Revista Ciência Rural: Qualidade microbiológica de cortes de frango de diferentes marcas comercializadas na região Sul do Rio Grande do Sul, Brasil.....	86
RESUMO.....	87
INTRODUÇÃO	88
MATERIAL E MÉTODOS	90
COLETA E AMOSTRAGEM.....	90
ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS.....	90
ANÁLISE ESTATÍSTICA	92
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	92
CONCLUSÃO.....	96
REFERÊNCIAS.....	96
5 Conclusões	104
6 Referências	105

1 Introdução geral

A incorporação de modernas tecnologias em nutrição, manejo, sanidade e genética resultaram no avanço da importância da carne de frango como uma fonte de proteína animal de custo acessível para a população brasileira. Esta intensificação na produção possibilitou também o alcance do Brasil como um dos maiores produtores de frangos de corte do mundo (UBABEF, 2013).

O desenvolvimento e o avanço tecnológico na produção e industrialização de carnes e produtos cárneos resultaram em melhorias consideráveis nas condições higiênico-sanitárias encontradas nestes alimentos. Contudo, apesar de inúmeros avanços, as doenças de origem alimentar continuam ocorrendo (CALLAWAY et al., 2008).

Produtos cárneos estão frequentemente associados à surtos de Doença Transmitida por Alimentos – DTA (SVS, 2013), uma vez que representam excelentes meios para o crescimento microbiano, devido à variedade de nutrientes, à alta atividade de água e à baixa acidez (ICMSF, 2005). Além disso, a carne pode ser facilmente contaminada durante as etapas de abate dos animais (GALHARDO et al., 2006).

A inocuidade e a qualidade de produtos cárneos podem ser estimadas através da pesquisa de diversos micro-organismos indicadores, como os dos grupos coliformes totais e termotolerantes, e psicrotróficos (JAY, 2005).

A enumeração de coliformes totais é utilizada para avaliar as condições higiênico-sanitárias do produto, pois, quando em alto número, indica contaminação decorrente de falha durante o processamento, limpeza inadequada ou tratamento térmico insuficiente. Bactérias do grupo coliformes termotolerantes, representados principalmente *Escherichia coli*, geralmente são associados à contaminação por matéria fecal e sugerem a presença de patógenos de origem entérica (CARVALHO et al, 2005 ;JAY , 2005; FRANCO & LANDGRAF, 2008).

Os micro-organismos psicrotróficos, como as bactérias do gênero *Pseudomonas* spp., predominam nas carcaças e podem multiplicar-se, mesmo que lentamente, em temperaturas iguais ou inferiores a 0° C, sendo a

temperatura ótima de 15 a 30° C, e são responsáveis por grande parte das alterações dos produtos, o que faz com que a vida comercial das carnes de aves dependa tanto da conservação, quanto do número de micro-organismos presentes nas mesmas (SILVA et al., 2002; CARVALHO et al., 2005). Segundo Andrew e Ron (1998), a etapa de resfriamento, no processamento do frango, se não for bem executada favorece a contaminação e multiplicação deste grupo de bactérias.

A contagem de micro-organismos psicrotróficos identifica o grau de deterioração de alimentos refrigerados, como carnes e produtos de frango, pois quando sua concentração atinge 10^8 UFC.g⁻¹ tem início a decomposição do tecido muscular e a limosidade na superfície do alimento torna-se evidente, confirmando sua inaptidão ao consumo (JAY, 2005).

Apesar de alguns micro-organismos indicadores sugerirem a presença de certos perigos microbiológicos, a pesquisa efetiva de patógenos é fundamental para a garantia da segurança de produtos cárneos. Assim, micro-organismos frequentemente associados à carne de frango devem ser pesquisados e controlados na linha de abate e processamento (ICMSF, 2005; FRANDO & LANDGRAF, 2008). Há consenso internacional que dentre os patógenos de maior relevância em produtos cárneos estão *Salmonella* spp., *E. coli* e *Listeria monocytogenes* (ICMSF, 2005; SCHLUNDT, 2002).

Bactérias do gênero *Salmonella* spp., representam o mais importante micro-organismo envolvido em contaminações de alimentos à base de frango. Inúmeros surtos de infecção alimentar por *Salmonella* spp. são conhecidos, envolvendo os mais variados tipos de alimentos, principalmente os de origem animal (BRASIL, 2012; JAY, 2005). A contaminação por esta bactéria pode ser oriunda do próprio ambiente, dos manipuladores, além da contaminação cruzada de outras aves (TESSARI et al., 2008).

Outras enterobactérias, como *E. coli* também podem contaminar carcaças e produtos de frango durante toda a cadeia (ISOLAN, 2007). Este fato é preocupante, pois esta espécie pode causar doenças graves de origem alimentar pela invasão de células intestinais ou pela produção de toxinas (TORTORA, 2005).

L. monocytogenes é agente etiológico da Listeriose, doença grave que possui elevada taxa de mortalidade (entre 20% e 30% para grupos de risco).

Devido a esse alto índice, a Listeriose ocupa o segundo lugar no ranking das causas mais frequentes de morte por consumo de alimentos contaminados (VAILLANT et al., 2005). A ampla distribuição ambiental desta bactéria é favorecida pela capacidade de se desenvolver entre 0 e 44°C e, embora sua faixa ótima seja entre 30 e 37°C, pode sobreviver em alimentos congelados. Tolerância a pH extremos entre 5 e 9, baixa atividade de água e altas concentrações de cloreto de sódio, até superiores a 10% (JAY, 2005; TORTORA, 2005). Este conjunto de características faz com que esta bactéria seja um patógeno emergente e de grande interesse na área de alimentos e explica o destaque que este micro-organismo vem ocupando nos últimos anos no controle de qualidade na indústria de alimentos (JAY, 2005; TORTORA, 2005).

Diante do exposto e, a fim de contribuir para o suprimento de informações visando avaliar os riscos microbiológicos na cadeia de carne de aves na região Sul do Rio Grande do Sul, através da determinação do perfil microbiológico e da prevalência de micro-organismos indicadores, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Pseudomonas* spp. e *Listeria monocytogenes* em toda a cadeia se justificou o desenvolvimento deste projeto.

2 Projeto de Pesquisa

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
FACULDADE DE NUTRIÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO E ALIMENTOS



**PRESENÇA, ENUMERAÇÃO E PREVALÊNCIA DE *Salmonella spp.*,
Pseudomonas spp., *Listeria monocytogenes* E MICRO-ORGANISMOS
INDICADORES EM CARCAÇAS DE FRANGO NAS ETAPAS DE ABATE**

Pelotas, 2012

MESTRANDA – DENISE OLIVEIRA PACHECO

**PRESENÇA, ENUMERAÇÃO E PREVALÊNCIA DE *Salmonella spp.*,
Pseudomonas spp, *Listeria monocytogenes* E MICRO-ORGANISMOS
INDICADORES EM CARCAÇAS DE FRANGO NAS ETAPAS DE ABATE**

Orientador: Prof. Dr. Eliezer Ávila Gandra

Co-Orientadora: Profa. Dra. Elizabete Helbig

Pelotas, 2012

RESUMO

PRESENÇA, ENUMERAÇÃO E PREVALÊNCIA DE *Salmonella* spp., *Pseudomonas* spp, *Listeria monocytogenes* E MICRO-ORGANISMOS INDICADORES EM CARCAÇAS DE FRANGO NAS ETAPAS DE ABATE

Este projeto tem por objetivo quantificar *Pseudomonas* spp., coliformes totais e termotolerantes, avaliar a presença e a prevalência de *Salmonella* spp., e *Listeria monocytogenes* em carcaças de frango em três pontos da linha de abate. A pesquisa será realizada, por intermédio da Unidade de Fiscalização da Coordenadoria de Inspeção de Produtos de Origem Animal-CISPOA, órgão da Secretaria da Agricultura, Pecuária e Agronegócio do Rio Grande do Sul, no Frigorífico de Aves da Cosulati. Serão realizadas seis coletas, e a cada coleta, amostras de três carcaças serão coletadas. A mesma carcaça será avaliada em três pontos da linha de abate escolhidos para o estudo: antes da escaldagem, após a evisceração e após o resfriamento. Além das etapas citadas, ainda será avaliado a “água de lavagem” das etapas de escaldagem e resfriamento, totalizando 11 amostras por coleta. As análises microbiológicas serão realizadas no Laboratório de Análises Microbiológicas da Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Pelotas/ RS. As determinações microbiológicas seguirão recomendações propostas por Dowes & Ito (2001) e Silva et.al (1997).

Palavras chave: abate de frango; micro-organismos indicadores; *Pseudomonas* spp.; *Salmonella* spp.; *Listeria monocytogenes*

1 INTRODUÇÃO

A carne e os derivados do frango são alimentos cada vez mais consumidos no mundo inteiro, em virtude do seu preço altamente competitivo, causado principalmente por baixos custos de produção (SANTOS, 2009).

As etapas de processamento de frango objetivam tornar o produto apto ao consumo, eliminando ou diminuindo a carga microbiana. Devido a sua composição rica em nutrientes, à atividade de água elevada e ao pH próximo à neutralidade a carne de frango é um alimento muito suscetível à deterioração microbiológica (SILVA, 2010), e estes fatores favoráveis ao desenvolvimento de micro-organismos podem ser oriundos da própria ave ou de fontes externas. Por essas razões, além de processada, a carne de frango deve ser mantida sob refrigeração ou congelamento (SILVA et al., 2002; GALHARDO et al., 2006).

O tipo e o número de micro-organismo presentes na carne refletem o grau de sanitização do abatedouro, como também das condições de processamento e armazenamento após o abate dos animais (JAY, 2005).

Quando se considera a qualidade microbiológica de alimentos, freqüentemente se utiliza a pesquisa de micro-organismos indicadores, como os do grupo coliformes e micro-organismos mesófilos e psicrótrófos, que quando presentes em um alimento fornecem informações sobre o nível de sua contaminação e as condições higiênico-sanitárias durante o processo, produção ou armazenamento (SANTOS, 2009).

A presença das bactérias do grupo coliformes, cujo habitat da maioria é o trato intestinal de humanos e animais homeotermos, indica contaminação de origem ambiental e/ou fecal do produto (JAY, 2005; SOUZA, 2007)..

Os micro-organismos psicrótrófos, como *Pseudomonas* spp., que predominam em carcaças refrigeradas e podem multiplicar-se, mesmo que lentamente, em temperaturas iguais ou inferiores a 0°C, são responsáveis por grande parte das alterações dos produtos, o que faz com que a vida comercial destas carnes dependa tanto da conservação quanto do número de micro-organismos presentes após a sua obtenção (CARVALHO et al., 2005; JAY, 2005).

Também podem ser isoladas bactérias mesófilas produtoras de toxinfecções alimentares como *Salmonella* spp. (SOUZA, 2007). A contaminação por bactérias deste gênero pode ser oriunda do próprio ambiente, dos manipuladores, além da contaminação cruzada de outras aves (TESSARI, 2008). Durante o abate e o processamento dos frangos, a presença de *Salmonella* spp. nos intestinos, pele e penas, resulta em contaminação da carne e seus subprodutos. Algumas operações de abate como escaldagem, depenagem e evisceração exercem papel fundamental na distribuição microbiana na carcaça de frango durante o processo de abate. Essa última operação está associada à contaminação por micro-organismos de origem entérica (VON RÜCKERT et al., 2009).

De acordo com Tortora (2005), as aves domésticas também podem albergar *Listeria* spp. no intestino, que por meio de manipulação e operações de abate mal conduzidas e sem a observação de práticas higiênicas, podem contaminar carcaça e as vísceras.

Os alimentos de origem animal, como fontes de contaminação por *Listeria monocytogenes*, são uma constante preocupação, pela capacidade que esse patógeno tem em resistir a várias etapas de processamento na indústria. Além disso, esta bactéria apresenta alta capacidade de colonização de superfícies e de formação de biofilmes, podendo tornar-se endêmico em plantas de processamento e, dessa forma, contaminar o produto final (LUKINMAA et al., 2004; ICMSF, 2006).

No Brasil não existem dados oficiais a respeito da presença, da virulência e da disseminação de *Listeria* spp. no abate de aves e processamento de carnes. Considerando a importância que a carne de aves representa para a economia do país, o mapeamento de possíveis pontos de contaminação por *Listeria monocytogenes* na linha de abate de frango é fundamental para garantir qualidade e segurança microbiológica dos produtos cárneos. A partir desses dados é possível propor medidas de controle e eliminação desse patógeno em pontos específicos da linha de abate de aves e processamento de seus derivados.

A fim de contribuir para o suprimento de informações visando minimizar os riscos microbiológicos na cadeia de aves, através da determinação do perfil microbiológico no processo de abate e da prevalência de micro-organismos

indicadores, *Salmonella* spp., *Pseudomonas* spp. e *Listeria monocytogenes* nestes ambientes se justifica o desenvolvimento deste projeto.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Carne de Frango

2.1.1 Mercado interno e externo

O Brasil é um grande produtor mundial de proteína animal e tem no mercado interno o principal destino de sua produção. A produção de carne de frango chegou a 12,230 milhões de toneladas em 2010, em um crescimento de 11,38% em relação a 2009, quando foram produzidas 10,980 milhões de toneladas (UBABEF, 2011).

Com este desempenho o Brasil se aproxima da China, hoje o segundo maior produtor mundial, cuja produção em 2010 teria somado 12,550 milhões de toneladas, abaixo apenas dos Estados Unidos, com 16,648 milhões de toneladas, conforme projeções do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos da América (USDA) (AVISITE, 2012; UBABEF, 2011)

O crescimento em 2010, no Brasil, foi impulsionado principalmente pelo aumento de consumo de carne de frango e pela expansão de 5,1% nas exportações (AVISITE, 2012; UBABEF, 2011). Do volume total de frangos produzido pelo país, 69% foi destinado ao consumo Interno, e 31% para exportações. Com isto, o consumo per capita de carne de frango foi de 44 quilos, em 2010 (BRASIL, 2012; UBABEF, 2011).

Os embarques de 3,819 milhões de toneladas em 2010 representaram um aumento de 5,1% em relação a 2009, em novo recorde histórico para a carne de frango, principal produto das exportações avícolas brasileiras. O Oriente Médio se manteve como a principal região de destino da carne de frango brasileira, seguido pela Ásia, África, União Européia (UE), países da América e países da Europa extra UE (UBABEF, 2011).

A cada ano, a participação brasileira no comércio internacional vem crescendo, com destaque para a produção de carne bovina, suína e de frango. Segundo o Ministério da Agricultura, até 2020, a expectativa é que a produção nacional de carnes suprirá 44,5% do mercado mundial. Já a carne de frango

terá 48,1% das exportações mundiais e a participação da carne suína será de 14,2%. (BRASIL, 2010). Essas estimativas indicam que o Brasil pode manter posição de primeiro exportador mundial de carnes bovina e de frango.

2.1.2 Composição e valor nutricional

A carne de aves constitui uma fonte importante de proteínas. Trata-se de proteínas de boa qualidade já que são ricas em aminoácidos indispensáveis e, têm, por conseguinte, um bom valor biológico que é comparável ao das outras carnes (VENTURINI, et al 2007).

O peito, que é o corte mais magro contém apenas 2% de lipídios (VENTURINI, et al 2007; ORDOÑEZ et al, 2005). A carne de frango ainda é rica em ferro, e é considerada fonte importante de vitaminas do grupo B, principalmente, B2 e B12 (VENTURINI, et al 2007).

Os componentes majoritários da carne de frango são água (73 a 75%), proteínas (20 a 24%), gordura (2 a 5%) e cinzas (1%), embora também exista pequenas quantidades de outras substâncias, como as nitrogenadas não-protéicas, carboidratos, ácido láctico, e vitaminas. A composição química da carne depende da espécie, pode variar amplamente dependendo de vários fatores, como idade, sexo, alimentação e zona anatômica estudada (ORDOÑEZ et al, 2005)

2.1.3 Microbiologia da carne de frango

A importância dos micro-organismos em relação à carne reside principalmente no fato de que eles estão intimamente ligados aos processos de deterioração, infecção e intoxicação alimentar (GALHARDO, 2006).

A microbiota inicial da carne de aves é muito variada, a maioria dos micro-organismos que alteram a carne fresca refrigerada são bactérias psicrófilas do gênero *Pseudomonas*, estando também presentes espécies anaeróbicas facultativas como enterobactérias psicrófilas. Também podem ser isoladas bactérias causadoras de toxinfecções alimentares com a *Salmonella spp* e *Listeria spp*. (JAY, 2005; SOUZA, 2007).

Dentre os patógenos de importância em carnes de aves destaca-se *Listeria monocytogenes*. Esta bactéria é agente etiológico da listeriose, doença grave que possui elevada taxa de letalidade (entre 20% e 30% para grupos de risco). Devido a esse alto índice, a listeriose ocupa o segundo lugar no ranking das causas mais frequentes de morte por consumo de alimentos contaminados (VAILLANT et al., 2005).

No Brasil, a salmonelose vem liderando os rankings epidemiológicos sobre doenças transmitidas por alimentos (SVS, 2005). Causada pela ingestão de alimentos contaminados por *Salmonella* spp., esta doença é geralmente autolimitada, apresentando sintomas como cólicas abdominais, vômito, febre e diarreia, e particularmente em crianças e idosos pode se tornar grave (TESSARI et al., 2008).

2.1.3.1 Coliformes totais e termotolerantes

O grupo dos coliformes totais inclui todas as bactérias na forma de bastonetes Gram-negativos, não esporogênicos, aeróbios ou anaeróbios facultativos, capazes de fermentar a lactose com produção de gás, em 24 a 48 horas a 35°C. Esta definição é a mesma para o grupo de coliformes termotolerantes, porém, restringindo-se aos capazes de fermentar a lactose com produção de gás, em 24 a 48 horas a 44,5-45,5°C (SILVA et al., 2007)

A enumeração de coliformes totais é utilizada para avaliar as condições higiênicas do produto, pois, quando em alto número, indica contaminação decorrente de falha durante o processamento, limpeza inadequada ou tratamento térmico insuficiente. Já a detecção de elevado número de bactérias do grupo dos coliformes termotolerantes em alimentos é interpretada como indicativo da presença de patógenos intestinais (CARVALHO et al, 2005; JAY, 2005).

2.1.3.2 Micro-organismos psicotróficos e *Pseudomonas* spp.

A contagem de micro-organismos psicotróficos identifica o grau de deterioração de alimentos refrigerados, já que se desenvolvem na faixa de 0 a 15°C, sendo a temperatura ótima de 15 a 30°C (SILVA et al., 2002).

De acordo com Jay (2005), quando a carne de aves sofre deterioração sob baixas temperaturas, os principais micro-organismos envolvidos neste processo são as psicotróficas do gênero *Pseudomonas*.

Pseudomonas spp são bastonetes Gram-negativos aeróbicos que se locomovem por um único flagelo polar ou por meio de tufo, comuns em solo e em outros ambientes naturais (TORTORA, 2005).

2.1.3.3 *Salmonella* spp.

Salmonella spp representa o mais importante micro-organismo envolvido em contaminações de alimentos à base de frango

As salmonelas são micro-organismos aeróbios e anaeróbios facultativos, desenvolvendo-se bem em ambas as condições e à temperatura ótima de 37°C, sendo observado crescimentos entre 5 e 45°C. Estas bactérias podem crescer em pH entre 4 e 9, sendo o pH ótimo em torno de 7. Para o desenvolvimento das colônias de *Salmonella* spp., os meios de cultura devem conter fontes de carbono e nitrogênio e as culturas podem ser mantidas por muitos anos em ágar contendo peptona (FRANCO, LANDGRAF, 1996; TORTORA, 2005).

Inúmeros surtos de infecção alimentar por *Salmonella* spp. são conhecidos, envolvendo os mais variados tipos de alimentos, principalmente os de origem animal (SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE, 2012; JAY, 2005). Dados publicados nos Estados Unidos, Canadá e Japão indicam que os relatos de ocorrência de salmonelose de origem alimentar aumentam a cada ano, enquanto na Inglaterra e países vizinhos 90% dos casos são causados pela referida bactéria (FRANCO, LANDGRAF, 1996).

A ausência de determinados micro-organismos específicos em produtos de origem animal, é uma exigência de regulamentos nacionais e internacionais.

Em vista disso, o Ministério da Agricultura, da Pecuária e do Abastecimento (MAPA) estabeleceu o “Programa de redução de patógenos - Monitoramento microbiológico e controle de *Salmonella* spp. em carcaças de frangos e perus”, com o objetivo de realizar um monitoramento constante do nível de contaminação por este patógeno em estabelecimentos de abate de aves. Esse plano foi estabelecido por meio da Instrução Normativa nº. 70 (BRASIL, 2003), que confere um controle minucioso sobre o processo de abate e atende as exigências de segurança do alimento baseado nos princípios de Boas Práticas de Fabricação (BPF), no Procedimento Padrão de Higiene Operacional (PPHO) e na Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC).

No Brasil, os dados da prevalência e da ecologia microbiana de *Salmonella* spp. no processo de abate de frangos são dispersos e pouco conclusivos, sobretudo quanto à sua participação em diferentes fases do processo (JAY 2005; VON RÜCKERT et al., 2009).

2.1.3.4 *Listeria monocytogenes*

Listeria spp. é uma bactéria Gram-positiva, não esporulada, aeróbia e anaeróbia facultativa. Apresenta ampla distribuição ambiental, tendo sido isolada em águas de esgoto doméstico, águas residuárias de indústrias de laticínios e de abatedouros, solos, insetos, adubo orgânico, e em fezes de animais e inclusive de humanos. Pode também ser isolada em diversos produtos alimentícios, principalmente os de origem animal (JAY, 2005; TORTORA, 2005).

A espécie *L. monocytogenes* é patogênica para o homem e diversos animais, e sua ampla distribuição ambiental, é favorecida pela capacidade de se desenvolver entre 0 e 44°C e, embora sua faixa ótima seja entre 30 e 37°C, pode sobreviver em alimentos congelados. Toleram pH extremos de 5 e 9, baixa atividade de água e concentrações de NaCl de 10% e até superiores. Este conjunto de características faz com que esta espécie de *Listeria* seja um patógeno emergente e de grande interesse na área de alimentos e explica o destaque que este micro-organismo vem ocupando nos últimos anos no controle de qualidade na indústria de alimentos, haja vista a dificuldade de sua

eliminação, assim como a possibilidade de causar doenças graves no consumidor (JAY, 2005; TORTORA, 2005).

Além disso, esta bactéria é a única da espécie conhecida capaz de causar listeriose em humanos. A doença inclui infecções severas, como septicemias, encefalite, meningite e aborto, com altas taxas de hospitalizações e mortes. Acomete principalmente pessoas idosas, recém-nascidos, gestantes e indivíduos imunocomprometidos, o chamado grupo de risco (PERES et al, 2010; SILVA, 2010).

Segundo dados disponíveis pelo Center for Disease Control and Prevention - CDC (2010), *L. monocytogenes* provoca em média, 2.500 casos de listeriose por ano nos Estados Unidos, afetando normalmente, indivíduos suscetíveis que se encontram no grupo de risco. Na Europa, a incidência de listeriose também tem aumentado desde 2000, sendo indivíduos com mais de 65 anos os maiores envolvidos em casos da doença (ALLERBERGER; WAGNER, 2010).

2.2 Microbiologia do processamento de frangos

2.2.1 Linha de abate de frangos

A linha de abate de frangos é composta por várias etapas, na maioria das vezes são: recepção, descanso/inspeção, pendura, insensibilização, sangria, escaldagem, depenagem, corte dos pés, evisceração, corte da cabeça, pré-resfriamento, resfriamento, gotejamento, classificação/corte, embalagem, resfriamento rápido, estocagem e expedição, conforme Fig. 1.

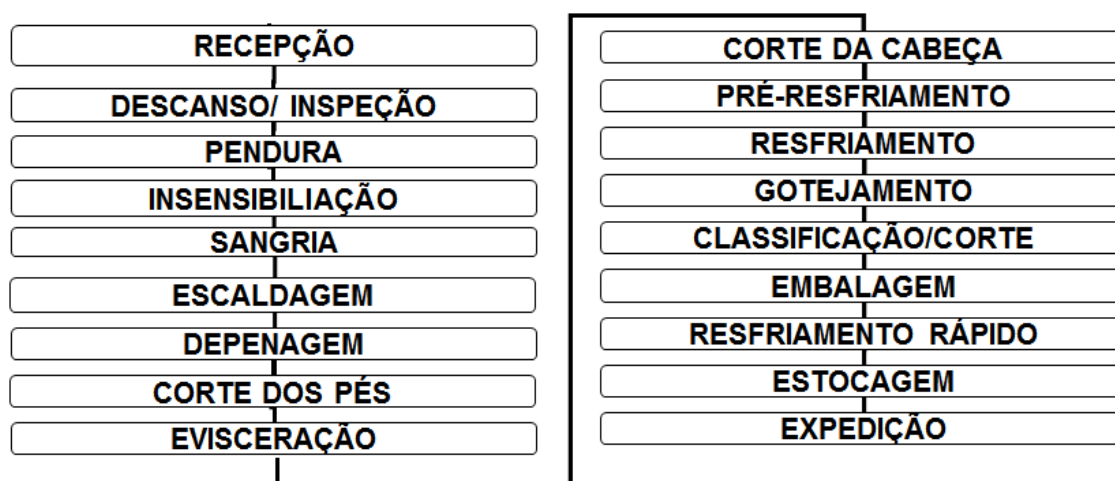


Figura 1 – Fluxograma da linha de abate de frango.

Fonte: GONÇALVES (2001).

2.2 Perfil e riscos microbiológicos associados ao processamento de frangos

A carga microbiana das carcaças de frango e seus derivados é oriunda, principalmente, das aves vivas e, outra parte, incorporada em qualquer uma das etapas de abate ou do processamento. A microbiota da ave viva se encontra essencialmente na superfície externa, no trato digestivo e, em menor grau, no aparelho respiratório (BOULOS, 1999).

A segurança e qualidade da carne *in natura* é geralmente estimada pela contagem de micro-organismos indicadores, como os do grupo coliformes e os micro-organismos psicrótróficos (LOPES et al., 2007).

Os níveis de contaminação variam no processo industrial de abate, sendo que os níveis mais elevados são detectados durante o processo de escaldagem e na depenadeira, não se alterando após a evisceração. O aumento da contaminação após a etapa de escaldagem indica contaminação cruzada, provavelmente pela contaminação da água de “lavagem” utilizada neste ponto (ABU-RUWAIDA, 1994). As grandes quantidades de água usadas durante o processamento das aves pode contribuir para disseminar e manter a sobrevivência da bactéria.

O pré-resfriamento é interpretado por alguns autores como uma etapa controvertida quanto à sua participação na composição ou no controle da microbiota da carcaça de frango. Se por um lado, ela pode retardar a multiplicação de bactérias deterioradoras e inibir o crescimento de patógenos, por outro pode atuar na contaminação cruzada das carcaças. Desse modo,

medidas preventivas, como o emprego da imersão em água gelada e clorada, sob controle da temperatura, sempre são recomendadas nessa fase do abate (ABU-RUWAIDA, 1994; VON RÜCKERT et al., 2009).

Para seguir uma política de obtenção de qualidade de produtos de origem animal, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento instituiu alguns programas de controle no Brasil. Destaca-se o Sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) (BRASIL, 1998), implantado gradativamente nas indústrias de produtos de origem animal sob o regime do Serviço de Inspeção Federal (SIF), do Programa de Redução de Patógenos (BRASIL, 2003), que contempla a análise laboratorial sistemática de carcaças de frangos e perus *in natura*, para a pesquisa de *Salmonella* spp., envolvendo os estabelecimentos de abate de aves registrados no SIF.

Paralelamente aos programas mencionados, o SIF realiza, sistematicamente, a supervisão sanitária do abate de frangos nos abatedouros por meio de medição e do registro de vários parâmetros de controle higiênico sanitário previstos pela Portaria Ministerial nº 210 (BRASIL, 1998). No Brasil, os dados da prevalência e da ecologia microbiana de *Salmonella* spp. no processo de abate de frangos são dispersos e pouco conclusivos, sobretudo quanto à sua participação em diferentes fases do processo referencia (JAY 2005; VON RÜCKERT et al., 2009).

As aves domésticas também podem albergar *L. monocytogenes* no intestino, e operações de abate mal conduzidas podem disseminar esta bactéria na carcaça e vísceras (TORTORA, 2005).

Os níveis de contaminação por estas bactérias variam no processo industrial de abate sendo que os níveis mais elevados são detectados durante o processo de escaldagem e na depenadeira, não se alterando após a evisceração. A contaminação pode aumentar durante a escalda, o que indica contaminação cruzada neste ponto (ABU-RUWAIDA, 1994). As grandes quantidades de água usadas durante o processamento das aves pode contribuir para disseminar e manter a sobrevivência da bactéria

3 HIPÓTESE

Há presença de *Salmonella* spp., *Pseudomonas* spp e *Listeria monocytogenes*, coliformes totais e termotolerantes em carcaças de frangos, e estes podem prevalecer na linha abate.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo geral

Quantificar *Pseudomonas* spp., coliformes totais e termotolerantes, avaliar a presença e a prevalência de *Salmonella* spp., e *Listeria monocytogenes*, em carcaças de frango em três pontos da linha de abate.

4.2 Objetivos específicos

Verificar a prevalência de *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*., *Pseudomonas* spp, coliformes totais e termotolerantes em carcaças e na linha de processamento de frangos;

Verificar as condições higiênicas do processamento através da enumeração de micro-organismos indicadores do grupo coliformes e psicrotróficos em carcaças e na linha de processamento de frangos;

Gerar dados locais consistentes sobre prevalência, nível de contaminação e origens de contaminação de carne de aves em relação à *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas* spp, coliformes totais e termotolerantes;

5 MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa será realizada em um Frigorífico Abatedouro de Aves, localizado na região Sul do Rio Grande do Sul - Brasil, por intermédio da Coordenadoria de Inspeção de Produtos de Origem Animal-CISPOA, órgão da Secretaria da Agricultura, Pecuária e Agronegócio do Rio Grande do Sul. As análises microbiológicas serão realizadas no Laboratório de Análise Microbiológicas da Faculdade de Nutrição da Universidade Federal de Pelotas/RS.

5. 1 Material

Para a realização das análises será utilizado vidraria comum de laboratório de microbiologia de alimentos, além de reagentes, meios de cultura e soluções.

Serão realizadas 6 coletas em um frigorífico abatedouro de aves da região sul do Rio Grande do Sul, onde serão coletadas amostras de três carcaças de frango a cada coleta. A mesma carcaça será avaliada em três pontos da linha de abate escolhidos para o estudo: antes da escaldagem, após a evisceração e após o resfriamento, totalizando 9 amostras de carcaça por coleta. Além das etapas citadas, ainda será avaliada a água de “lavagem” das etapas de escaldagem e resfriamento, totalizando 66 amostras (11 amostras por coleta).

5. 2 Métodos

5.2.1 Amostragem e preparo das amostras

A amostragem será realizada por imersão da carcaça em saco de polietileno estéril, contendo 450mL de água peptonada tamponada 0,1%. O processo de enxague será, padronizadamente, realizado por 30 segundos e em seguida a solução obtida será transferida para um frasco estéril de vidro.

As amostras de água serão coletadas em frascos estéreis, coletando-se um volume de 225mL por frasco.

5.2.2 Delineamento experimental

Tabela 1. Delineamento experimental para quantificação de *Pseudomonas* spp., coliformes totais e termotolerantes e avaliação da presença e da prevalência de *Salmonella* spp., e *Listeria monocytogenes*, em carcaças de frango em três pontos da linha de abate em frigorífico abatedouro da região sul do Rio Grande do Sul.

Estudos	Variáveis	
	Independentes	Dependentes
1– Processamento (11 amostras x 6 coletas x 6 análises = 396 determinações)	Amostras	
	1. antes da escaldagem (3 carcaças)	Isolamento e/ou quantificação de micro- organismos
	2. após a evisceração (3 carcaças)	- Coliformes totais - Coliformes
	3. após o resfriamento (3 carcaças)	termotolerantes - Psicrotróficos
	4. água de escaldagem (1 amostra)	- <i>Pseudomonas</i> spp - <i>Salmonella</i> spp
	5. água de resfriamento (1 amostra)	- <i>Listeria monocytogenes</i>

5.2.3 Análises microbiológicas

As análises microbiológicas seguirão os procedimentos propostos por Downes e Ito, (2001) e Silva *et al.*, (1997). Para as análises microbiológicas as amostras serão submetidas a diluições seriadas até a diluição 10^{-3} .

5.2.3.1 Coliformes totais e termotolerantes

Para a enumeração de coliformes totais e termotolerantes será utilizada a técnica do Número Mais Provável (NMP). A análise presuntiva de coliformes será realizada em Caldo Lauril Sulfato de Sódio (LST), com incubação por 48 horas a 35°C. A enumeração de coliformes totais será efetuada em Caldo Lactosado Bile Verde Brilhante, com incubação a 35°C por 24 a 48 horas. A enumeração de coliformes termotolerantes será realizada em Caldo *Escherichia coli*, (EC) com incubação a 45,5°C por 24 horas.

5.2.2.2 Micro-organismos psicotróficos

Para a determinação de micro-organismos psicotróficos, as diluições serão plaqueadas em superfície (*spreader plate*) em meio Ágar Padrão para Contagem (PCA). As placas serão incubadas a 7°C por 10 dias, e, decorrido o período de incubação, analisadas.

5.2.2.3 *Pseudomonas* spp.

A quantificação de *Pseudomonas* spp será efetuada por plaqueamento em superfície no meio *Pseudomonas* Agar Base com adição do suplemento CFC-CAT FD 0366, com incubação durante 48 horas a 30°C.

5.2.2.4 *Samonella* spp.

Para o isolamento de *Salmonella* spp. será realizado um pré-enriquecimento em água peptonada tamponada (24h a 37°C) e enriquecimento seletivo em Caldo Rappaport-vassiliadis (24h a 42°C) e Caldo Tetracionato (24h a 37°C), seguido por semeadura em ágar XLD e Hektoen-enteric (HE), sendo ambos incubados por 24h a 37°C. Colônias típicas serão submetidas à identificação bioquímica em Ágar Tríplice Ferro, Ágar Lisina Ferro e Ágar Urease (24h a 37°C) e as que apresentarem reação bioquímica característica à identificação sorológica, utilizando-se os soros polivalentes anti-salmonella somático e flagelar (Probac).

5.2.2.5 *Listeria monocytogenes*

As amostras obtidas serão submetidas à pesquisa de *Listeria* spp. conforme a metodologia preconizada pelo International Organization for Standardization (ISO 11.290-1), com modificações. A etapa de pré-enriquecimento será realizada em caldo Half Fraser com incubação a 30°C por 24 horas, seguida da incubação de uma alíquota em caldo Fraser a 35°C por 48 horas. A semeadura será realizada nos ágaros Oxford e Cromogênio a 35°C por 48 horas. Os isolados purificados oriundos da enumeração e da detecção serão submetidos a testes fenotípicos de motilidade, fermentação de carboidratos (dextrose, xilose, ramnose e manitol) e presença de catalase e de β -hemolisina.

6 CRONOGRAMA DE ATIVIDADES

Na Tab. 1 está descrito o cronograma de atividades a ser seguido durante o projeto.

Tabela 2 – Cronograma das atividades a serem desenvolvidas

Atividades	2012						2013					
	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez	Jan	Fev	Mar	Abr	Maio	Jun
Primeira coleta de amostras	X											
Análises Microbiológicas	X											
Segunda coleta de amostras		X										
Análises Microbiológicas		X										
Terceira coleta de amostras			X									
Análises Microbiológicas			X									
Quarta coleta de amostras				X								
Análises Microbiológicas				X								
Quinta coleta de amostras					X							
Análises Microbiológicas					X							
Sexta coleta de amostras							X					
Análises Microbiológicas							X					
Análise dos Resultados e Dissertação									X	X	X	

7 REFERÊNCIAS

ABU-RUWAIDA, A.S.; SAWAYA, W.N.; DASHTI, B.H.; MURAD, M.; AL-OTHMAN, H.A. Microbiological quality of broilers during processing in a modern commercial slaughterhouse in Kuwait. [Journal of Food Protection](#), v.57, n.10, p. 887-892, 1994.

ALLERBERGER, F.; WAGNER, M. Listeriosis: a resurgent foodborne infection. *Clinical Microbiology Infection*, v.16, p.16-23, 2010.

AVISITE. Produção de carne de frango. Disponível em: <<http://www.avisite.com.br/economia/index.php?acao=carnefrango>>. Acesso em: 19 maio 2012.

BARBALHO, T. C. F. Prevalence of *Listeria* spp. at a poultry processing plant in Brazil and a phage test for rapid confirmation of suspect colonies. **Food Control**, v.16, p. 211–216, 2005.

BOULOS, M. E. M. S. Segurança Alimentar: uma preocupação – questão de atualizar e viabilizar informação. **Nutrição em Pauta**, p. 21-23, nov/dez, 1999.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 70, de 06 de outubro de 2003. Programa de Redução de Patógenos – Monitoramento Microbiológico e Controle de *Salmonella* sp. em Carcaças de Frangos e Perus, 2003. **DOU**, Brasília, 10/10/2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria Nº 46, de 10 de fevereiro de 1998. Institui o Sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle - APPCC a ser implantado, gradativamente, nas indústrias de produtos de origem animal sob o regime do serviço de inspeção federal - SIF, de acordo com o manual genérico de procedimentos. **DOU**. 16/03/1998.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Aves**. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/animal/especies/aves>>. Acesso em: 08/06/2011

CARVALHO, et. al., Presença de microrganismos mesófilos, psicrotróficos e coliformes em diferentes amostras de produtos avícolas. **Arquivo Instituto Biologia**, São Paulo, v.72, n.3, p.303-307, jul./set., 2005

CARVALHO, M. M. **Avaliação das condições para implantação do sistema APPCC em uma unidade de abate de aves**. 2004. 80f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

CDC. CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. *Listeria monocytogenes*. 2010. Disponível em: <http://www.cdc.gov/pulsenet/pathogens_pages/listeria_monocytogenes.htm>. Acesso em: 29 maio 2012

DOWNES, F. P., ITO, H. *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. ed. Washington: American Public Health Association (APHA), 2001. 676p.

FRANCO, B. D. G. M; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**, São Paulo. Ed Atheneu, 1996.182p.

GALHARDO, J. A.; LOPES, M; OLIVEIRA, J. T.; TAMANINI, R; SANCHES, S. F.; FREITAS, J. C; MÜLLER, E. E. Eficácia dos tanques de pré-resfriamento na redução de contaminação bacteriana em carcaças de frango. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 27, n. 4, p. 647-656, out./dez. 2006

GONÇALVES, C. R. **Fluxograma de abate de aves**. 2008. 59f. Trabalho (Especialização em Higiene e Inspeção de Produtos de Origem Animal) – Instituto Qualittas, Goiânia.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS (ICMSF). Microorganisms in Foods. 6. Microbial Ecology of Food Commodities. Kluwer Academic/Plenum Publishers, 2006

JAY, J. M. Microbiologia de Alimentos. 6 ed. Porto Alegre:Artmed, 2005

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS (ICMSF). Microorganisms in Foods. 6. Microbial Ecology of Food Commodities. Kluwer Academic/Plenum Publishers, 2006

LOPES, M; GALHARDO, J. A.; OLIVEIRA, J. T.; TAMANINI, R; SANCHES, S. F.; MULLER, E. E. Pesquisa de *Salmonella* spp. e microrganismos indicadores em carcaças de frango e água de tanques de pré-resfriamento em abatedouro de aves. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 28, n. 3, p. 465-476, 2007.

LUKINMAA, S.; AARNISALO, K.; SUIHKO, M. L.; SIITONEN, A. Diversity of *Listeria monocytogenes* isolates of human and food origin studied by serotyping, automated ribotyping and pulsed-field gel electrophoresis. *Clinical Microbiology and Infections*. v. 10, n. 6, p. 563-568, 2004.

ORDOÑEZ, et al. **Tecnologia de alimentos – Origem Animal**. Vol 2. Porto Alegre:Artmed, 2005.

PERES, N.D.; LANGE, C.C.; BRITO, M.A.V.P.; ARCURI, E.F.; CERQUEIRA, M.M.O.P. Detecção de *Listeria monocytogenes* pela técnica de PCR em leite contaminado artificialmente. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.62, n.4, p.973-979, 2010

SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE (SVS). Boletim Eletrônico Epidemiológico. 2005. Disponível em:
<http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/ano05_n06_ve_dta_brasil.pdf>. Acesso em: 17 maio 2012.

SILVA, A. C. M. **A influência do tempo de refrigeração na virulência inicial de *Listeria monocytogenes*. 2010.** 73f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Alimentar – Qualidade e Segurança Alimentar) Universidade Tecnica de Lisboa, Lisboa.

SILVA, N; JUNQUEIRA, V; SILVEIRA, N; **Manual de métodos de análise microbiológicas de alimentos.** Varela, 544p. 1997.

SILVA, J. A.; AZERÊDO, G. A.; BARROS, C. M. R.; COSTA, E. L.; FALCÃO, M. M. S. Incidência de bactérias patogênicas em carne de frango refrigerada. **Revista Higiene Alimentar**, v.16, n.100, p.97-101, 2002.

SANTOS, J. S. **Avaliação da qualidade microbiológica de carnes de frango comercializadas na cidade de Aracaju – SE.** 2009. 41f. Monografia (Especialização em Gestão da Qualidade Vigilância Sanitária em Alimentos) Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFERSA, Recife.

SOUZA, G. C. **Detecção de betalactamases de espectro expandido (ESBL) em cepas de coliformes isoladas de carne de frango comercializadas na cidade de Fortaleza, Ceará.** 2007. 120f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

TESSARI, E. N. C; CARDOSO, A. L. P.; KANASHIRO, A. M. I.; STOPPA, G. F. Z.; LUCIANO, R. L.; CASTRO, A. G. M. Ocorrência de *Salmonella* spp. em carcaças de frangos industrialmente processadas, procedentes de explorações industriais do Estado de São Paulo, Brasil. **Rev Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, n.9, p 2557--2560, 2008.

TORTORA, G. J. et al. **Microbiologia.** 8.ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

VAILLANT, V.; DE VALK, H.; BARON, E.; ANCELLE, T.; COLIN, P.; DELMAS, M. C.; DUFOUR, B.; POUILLLOT, R.; LE STRAT, Y.; WEINBRECK, P.; JOUGLA, E.; DESENCLOS, J. C. Foodborne infections in France. **Foodborne Pathogens and Disease**, v.2, p.221-232, 2005.

VENTURINI, K. S; SARCINELLI, M. F.; SILVA, L. C. Características da carne de frango. **Boletim Técnico** - PIE-UFES:01307. 2007. Disponível em: <http://www.agais.com/telomc/b01307_caracteristicas_carnefrango.pdf>. Acesso em 16 maio 2012.

UNIÃO BRASIEIRA DE AVICULTURA (UBABEF), 2011, São Paulo. **Relatório Anual 2010/2011**. Disponível em: <http://www.abef.com.br/ubabef/publicacoes_relatoriosanuais.php>. Acesso em: 19 maio de 2012.

VON RÜCKERT, D.A.S.; PINTO, P.S.A.; SANTOS, B.M.; MOREIRA, M.A.S.; RODRIGUES, A.C.A. Pontos críticos de controle de *Salmonella* spp. no abate de frangos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.61, n.2, p.326-330, 2009.

3 Revisão de Literatura

3.1 Carne de Frango

3.1.1 Mercado interno e externo

A produção de carne de frango chegou a 12,645 milhões de toneladas em 2012, em uma redução de 3,17% em relação a 2011. O Brasil manteve a posição de maior exportador mundial e de terceiro maior produtor de carne de frango, atrás dos Estados Unidos e da China. Do volume total de frangos produzido pelo país, 69% foi destinado ao consumo interno, e 31% para exportações. Com isto, o consumo per capita de carne de frango atingiu 45 quilos por pessoa (UBABEF, 2013).

Dentro dos produtos, as exportações de cortes somaram embarques de 2,143 milhões de toneladas (+3,7%) e receita cambial de US\$ 4,3 bilhões. As vendas de frango inteiro totalizaram 1,4 milhão de toneladas. As exportações de frango industrializado se mantiveram estáveis, em 180 mil toneladas. Nos outros produtos os embarques foram de 177 mil toneladas (AVISITE, 2012; UBABEF, 2013)

O Oriente Médio se manteve como a principal região de destino da carne de frango brasileira, ao importar 1,396 milhão de toneladas em 2012, com pequena retração de 1,2% em relação ao ano anterior. Para a Ásia as exportações foram de 1,137 milhão de toneladas, com redução de 0,5%. No caso da África, o terceiro maior mercado de destino em volumes, as encomendas foram de 598 mil toneladas (+20%). A União Europeia respondeu por compras de 448,4 mil toneladas, ou 8,2% a menos que o verificado em 2011. Para os países das Américas, o Brasil exportou 216,7 mil toneladas de carne de frango, 25,2% menor na comparação com o ano anterior. Para os países da Europa extra UE, os embarques foram de 118 mil toneladas, o que representa uma aumento de 10% em relação a 2012 e, para a Oceania, as vendas somaram 2,188 mil toneladas (-22%) (AVISITE, 2012; UBABEF, 2013).

A cada ano, a participação brasileira no comércio internacional de carnes vem crescendo, com destaque para a produção de carne bovina, suína e de frango. Segundo o Ministério da Agricultura, até 2020, a expectativa é que a produção nacional de carnes suprirá 44,5% do mercado mundial. Já a carne de frango terá 48,1% das exportações mundiais e a participação da carne suína será de 14,2%. (BRASIL, 2010). Essas estimativas indicam que o Brasil pode manter posição de primeiro exportador mundial de carnes bovina e de frango.

3.1.2 Microbiologia do processamento de frangos

Carnes de qualidade microbiológica aceitável são extremamente difíceis de se obter quando sua fonte (no caso, os animais) não é produzida em condições de qualidade comprovada. No caso específico na indústria avícola, isto se torna mais eminente, pois durante a transformação da ave em carne para o consumo, as carcaças são submetidas a diferentes estágios de temperatura (CARVALHO, 2004).

A carga microbiana das carcaças de frango e seus derivados é oriunda, principalmente, das aves vivas e, outra parte, incorporada em qualquer uma das etapas de abate ou do processamento. A microbiota da ave viva se encontra essencialmente na superfície externa, no trato digestivo e, em menor grau, no aparelho respiratório (BOULOS, 1999).

A segurança e qualidade da carne *in natura* é geralmente estimada pela contagem de micro-organismos indicadores, como os do grupo coliformes e os micro-organismos psicrótrófos (LOPES et al., 2007).

Os níveis de contaminação variam no processo industrial de abate, sendo que os níveis mais elevados são detectados durante o processo de escaldagem e na depenadeira, não se alterando após a evisceração. O aumento da contaminação após a etapa de escaldagem indica contaminação cruzada, provavelmente pela contaminação da água de “lavagem” utilizada neste ponto (ABU-RUWAIDA, 1994). As grandes quantidades de água usadas durante o processamento das aves pode contribuir para disseminar e manter a sobrevivência da bactéria (ABU-RUWAIDA, 1994).

O pré-resfriamento é interpretado por alguns autores como uma etapa controvertida quanto à sua participação na composição ou no controle da microbiota da carcaça de frango. Se por um lado, ela pode retardar a multiplicação de bactérias deterioradoras e inibir o crescimento de patógenos, por outro pode atuar na contaminação cruzada das carcaças. Desse modo, medidas preventivas, como o emprego da imersão em água gelada e clorada, sob controle da temperatura, sempre são recomendadas nessa fase do abate (ABU-RUWAIDA, 1994; VON RÜCKERT et al., 2009).

Para seguir uma política de obtenção de qualidade de produtos de origem animal, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento instituiu alguns programas de controle no Brasil. Destacam-se o do Sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) (BRASIL, 1998), implantado gradativamente nas indústrias de produtos de origem animal sob o regime do Serviço de Inspeção Federal (SIF), do Programa de Redução de Patógenos (BRASIL, 2003), que contempla a análise laboratorial sistemática de carcaças de frangos e perus *in natura*, para a pesquisa de *Salmonella* spp., envolvendo os estabelecimentos de abate de aves registrados no SIF.

Paralelamente aos programas mencionados, o SIF realiza, sistematicamente, a supervisão sanitária do abate de frangos nos abatedouros por meio de medição e do registro de vários parâmetros de controle higiênico sanitário previstos pela Portaria Ministerial nº 210 (BRASIL, 1998). No Brasil, os dados da prevalência e da ecologia microbiana de *Salmonella* spp. no processo de abate de frangos são dispersos e pouco conclusivos, sobretudo quanto à sua participação em diferentes fases do processo referencia (JAY 2005; VON RÜCKERT et al., 2009).

As aves domésticas também podem albergar *L. monocytogenes* no intestino, e operações de abate mal conduzidas podem disseminar esta bactéria na carcaça e vísceras (TORTORA, 2005).

3.1.3 Microbiologia da carne de frango

A importância dos micro-organismos em relação à carne reside principalmente no fato de que eles estão intimamente ligados aos processo de

deterioração, infecção e intoxicação alimentar (GALHARDO, 2006), além de indicarem falhas de higiene durante e após o processamento (JAY, 2005).

A microbiota inicial da carne de aves é muito variada, a maioria dos micro-organismos que alteram a carne fresca refrigerada são bactérias psicotróficas do gênero *Pseudomonas*, estando também presentes espécies anaeróbias facultativas como enterobactérias psicotróficas. Também podem ser isoladas bactérias causadoras de toxinfecções alimentares com a *Salmonella spp* e *Listeria spp*. (JAY, 2005; SOUZA, 2007).

Dentre os patógenos de importância em carnes de aves destacam-se também *Escherichia coli* e *Listeria monocytogenes*.

E. coli faz parte da microbiota entérica de aves e é o mais importante indicador de contaminação fecal, embora possa ser introduzida nos alimentos a partir de fontes não fecais (JAY, 2005). *L. monocytogenes* é o agente etiológico da listeriose, doença grave que possui elevada taxa de letalidade (entre 20% - 30% para grupos de risco). Devido a esse alto índice, a listeriose ocupa o segundo lugar no ranking das causas mais frequentes de morte por consumo de alimentos contaminados (TORTORA, 2005; VAILLANT et al., 2005).

No Brasil, a salmonelose vem liderando os rankings epidemiológicos sobre doenças transmitidas por alimentos (BRASIL, 2012). Causada pela ingestão de alimentos contaminados por *Salmonella spp.*, esta doença é geralmente autolimitada, apresentando sintomas como cólicas abdominais, vômito, febre e diarreia, e particularmente em crianças e idosos pode se tornar grave (TESSARI et al., 2008).

3.1.3.1 Coliformes totais e termotolerantes

O grupo dos coliformes totais inclui todas as bactérias na forma de bastonetes Gram-negativos, não esporogênicos, aeróbios ou anaeróbios facultativos, capazes de fermentar a lactose com produção de gás, em 24 a 48 horas a 35°C. Esta definição é a mesma para o grupo de coliformes termotolerantes, porém, restringindo-se aos capazes de fermentar a lactose com produção de gás, em 24 a 48 horas a 44,5-45,5°C. Pertencem a este grupo os gêneros *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter* e *Klebsiella* (TRABULSI; ALTERTHUM, 2008).

A enumeração de coliformes totais é utilizada para avaliar as condições higiênicas do produto, pois, quando em alto número, indica contaminação decorrente de falha durante o processamento, limpeza inadequada ou tratamento térmico insuficiente. Já a detecção de elevado número de bactérias do grupo dos coliformes termotolerantes em alimentos é interpretada como indicativo da presença de patógenos intestinais (CARVALHO et al, 2005; JAY, 2005).

A legislação brasileira não estabelece limites para coliformes totais em carcaças ou cortes de frango, estabelece apenas o limite máximo de 10^4 NMP.g⁻¹, ou 3 log NMP.g⁻¹, para coliformes termotolerantes em carnes resfriadas, ou congeladas, "in natura", de aves (carcaças inteiras, fracionadas ou cortes) (BRASIL, 2001). No entanto, Chambers (2002) ressalva que contagens acima 2 Log UFC.mL⁻¹, para coliformes totais, indicam falhas de higiene da matéria prima e/ou durante o processo.

3.1.3.2 *Escherichia coli*

Dentre as bactérias de *habitat* originalmente fecal, *E. coli* é a mais conhecida e a mais facilmente diferenciada dos gêneros não entéricos. Embora também possa ser introduzida nos alimentos a partir de fontes não fecais é o melhor indicador de contaminação fecal conhecido até o momento, principalmente, pela sua relação com a presença de outros enteropatógenos, como a *Salmonella* spp. (JAY, 2005).

O gênero *Escherichia* pertence a Família *Enterobacteriaceae* e é encontrado como parte da microbiota intestinal de animais de sangue quente. Compreende as espécies *E. coli*, *E. blattae*, *E. fergusonii*, *E. hemanii* e *E. vulneris* (HOLT et al., 1994) sendo *E. coli*, a espécie de maior importância em microbiologia de alimentos (BOPP et al., 2003).

E. coli são bacilos anaeróbios facultativos, cuja temperatura ideal para desenvolvimento é de 37°C. Podem apresentar motilidade através de flagelos peritríquios, são capazes de metabolizar glicose e outros carboidratos com formação de ácido e gás, tanto em aerobiose como em anaerobiose; não produzem oxidase, mas produzem catalase (HOLT et al., 1994).

Certos sub-grupos de *E. coli* apresentam fatores de virulência que os tornam capazes de causar doenças intestinais e extra-intestinais (KAPER et al., 2004). Isso é devido ao fato de o genoma desta bactéria ser extremamente flexível, isto é, pode perder e ganhar genes de virulência com relativa frequência. (KUHNERT et al., 2000).

As cepas de *E. coli* consideradas como patógenos entéricos são encontradas em perfeita simbiose com cepas comensais (KUHNERT et al., 2000), e podem ser divididas em categorias de acordo com os mecanismos de virulência específicos, tipo de interação que estas cepas apresentam com linhagens celulares, síndromes clínicas que desencadeiam e sorotipos.

Com base nessas características, as *E. coli* podem ser divididas em: *E. coli* enterotoxigenicas (ETEC); *E. coli* enteropatogenicas (EPEC); *E. coli* enteroagregativas (EAaggEC); *E. coli* enteroinvasivas (EIEC); *E. coli* difusamente aderentes (DAEC) e *E. coli* verotoxigenicas, também chamadas de *E. coli* produtoras de toxina de Shiga (VTEC ou STEC) (KUHNERT et al., 2000; KAPER et al., 2004).

3.1.3.3 Micro-organismos psicotróficos e *Pseudomonas* spp.

A contagem de micro-organismos psicotróficos identifica o grau de deterioração de alimentos refrigerados, já que se desenvolvem na faixa de 0 a 15°C, sendo a temperatura ótima de 15 a 30°C (SILVA et al., 2002). Este grupo de bactérias predomina nas carcaças e pode multiplicar-se, mesmo que lentamente, em temperaturas iguais ou inferiores a 0°C e é responsável por grande parte das alterações dos produtos, o que faz com que a vida comercial das carnes de aves dependa tanto da conservação quanto do número de micro-organismos presentes após a sua obtenção (CARVALHO et al., 2005; JAY, 2005).

De acordo com Miyaguskú et al. (2003) e Jay (2005), quando a carne de aves sofre deterioração sob baixas temperaturas, os principais micro-organismos envolvidos neste processo são as psicotróficas do gênero *Pseudomonas*.

Pseudomonas spp. são bastonetes Gram-negativos que se locomovem por um único flagelo polar ou por meio de tufo, comuns em solo e em outros

ambientes naturais, que produz diversas exotoxinas protéicas com atividade biológica (TORTORA, 2005). Esse gênero inclui espécies que apresentam um tempo de geração curto, entre 0 °C e 7 °C, e uma temperatura mínima de crescimento baixa, de até -10 °C (MUNMANN, 2008). Em decorrência destas características, alguns autores apontam que a contagem de *Pseudomonas* spp. indicativa de término de vida útil é de 6 a 7 log UFC.g⁻¹ (COX et al., 1975; ALLEN et al., 1997; MEHYAR et al., 2005).

3.1.3.4 *Salmonella* spp

Salmonella spp representa o mais importante micro-organismo envolvido em contaminações de alimentos à base de frango

As salmonelas são micro-organismos aeróbios e anaeróbios facultativos, desenvolvendo-se bem em ambas as condições e à temperatura ótima de 37°C, sendo observado crescimentos entre 5 e 45°C. Estas bactérias podem crescer em pH entre 4 e 9, sendo o pH ótimo em torno de 7. Para o desenvolvimento das colônias de *Salmonella* spp., os meios de cultura devem conter fontes de carbono e nitrogênio e as culturas podem ser mantidas por muitos anos em ágar contendo peptona (FRANCO, LANDGRAF, 1996; TORTORA, 2005).

Inúmeros surtos de infecção alimentar por *Salmonella* spp. são conhecidos, envolvendo os mais variados tipos de alimentos, principalmente os de origem animal (BRASIL, 2012; JAY, 2005). Dados publicados nos Estados Unidos, Canadá e Japão indicam que os relatos de ocorrência de salmonelose de origem alimentar aumentam a cada ano, enquanto na Inglaterra e países vizinhos 90% dos casos são causados pela referida bactéria (FRANCO, LANDGRAF, 1996).

A ausência de determinados micro-organismos específicos em produtos de origem animal, é uma exigência de regulamentos nacionais e internacionais. Em vista disso, o Ministério da Agricultura, da Pecuária e do Abastecimento (MAPA) estabeleceu o “Programa de redução de patógenos - Monitoramento microbiológico e controle de *Salmonella* spp. em carcaças de frangos e perus”, com o objetivo de realizar um monitoramento constante do nível de

contaminação por este patógeno em estabelecimentos de abate de aves. Esse plano foi estabelecido por meio da Instrução Normativa nº. 70 (BRASIL, 2003), que confere um controle minucioso sobre o processo de abate e atende as exigências de segurança do alimento baseado nos princípios de Boas Práticas de Fabricação (BPF), no Procedimento Padrão de Higiene Operacional (PPHO) e na Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC).

No Brasil, os dados da prevalência e da ecologia microbiana de *Salmonella* spp. no processo de abate de frangos são dispersos e pouco conclusivos, sobretudo quanto à sua participação em diferentes fases do processo (JAY 2005; VON RÜCKERT et al., 2009).

3.1.3.5 *Listeria monocytogenes*

Listeria spp. é uma bactéria gram-positiva, não esporulada, aeróbia e anaeróbia facultativa. Apresenta ampla distribuição ambiental, tendo sido isolada em águas de esgoto doméstico, águas residuárias de indústrias de laticínios e de abatedouros, solos, insetos, adubo orgânico, e em fezes de animais e inclusive de humanos. Pode também ser isolada em diversos produtos alimentícios, principalmente os de origem animal (JAY, 2005; TORTORA, 2005).

A espécie *L. monocytogenes* é patogênica para o homem e diversos animais, e sua ampla distribuição ambiental, é favorecida pela capacidade de se desenvolver entre 0 e 44°C e, embora sua faixa ótima seja entre 30 e 37°C, pode sobreviver em alimentos congelados. Tolerância a pH extremos de 5 e 9, baixa atividade de água e concentrações de NaCl de 10% e até superiores. Este conjunto de características faz com que esta espécie de *Listeria* seja um patógeno emergente e de grande interesse na área de alimentos e explica o destaque que este micro-organismo vem ocupando nos últimos anos no controle de qualidade na indústria de alimentos, haja vista a dificuldade de sua eliminação, assim como a possibilidade de causar doenças graves no consumidor (JAY, 2005; TORTORA, 2005).

A eliminação de *L. monocytogenes* em ambientes de indústrias de alimentos é sabidamente difícil pela sua conhecida resistência a agentes antimicrobianos e substâncias químicas, como ácidos e álcalis. A capacidade

de adesão e consequente formação de biofilmes são consideradas como principais fatores de persistência de *L. monocytogenes* em indústrias de alimentos (MORETRO & LANGSRUD, 2004).

L. monocytogenes é o agente etiológico da listeriose. Os principais sintomas clínicos desta infecção em humanos são o aborto, septicemia e meningite (GANDHI & CHIKINDAS, 2007). Estes sintomas ocorrem na doença invasiva e se manifestam naqueles indivíduos considerados grupos de risco para a doença, incluindo: portadores de neoplasias, AIDS, alcoolismo, diabetes (principalmente a tipo I), doenças cardiovasculares, idosos (acima de 65 anos) e crianças (abaixo de 5 anos), gestantes, transplantados renais e terapias com corticóides (JAY, 2005). Surtos de listeriose mostram uma correlação entre a infecção e a ingestão de alimentos, principalmente produtos de origem animal contaminados com *L. monocytogenes* (GUERRA & BERNARDO, 2004).

Há, ainda, a listeriose não invasiva, cuja característica principal é uma gastroenterite febril, não acometendo grupos específicos da população (SCHLECH, 1997).

Embora a prevalência de *L. monocytogenes* seja maior em países de clima frio e temperado do que em países tropicais, a ocorrência de listeriose em suas formas neurológicas ou abortivas tem aumentado consideravelmente no Brasil nos últimos 25 anos (SCARCELLI & PIATTI, 2002), fato que deve ser considerado para que se sejam intensificadas as pesquisas visando minimizar os seus efeitos deletérios, através da prevenção da contaminação de carcaças no processamento do abate.

4 Relatório do trabalho de campo

Inicialmente havia-se optado por analisar somente carcaças de frangos durante as etapas na linha de abate em um frigorífico abatedouro de aves da região Sul do Rio Grande do Sul, Brasil, no entanto, surgiu a possibilidade de realizar uma avaliação mais ampla e representativa da cadeia de frangos, recolhendo amostras no varejo e fazendo uma simulação dos procedimentos de armazenamento e manipulação praticados pelos consumidores. As amostras obtidas na linha de abate foram analisadas em conjunto com os frangos adquiridos do comércio varejista e aqueles obtidos da simulação dos procedimentos feitos pelos consumidores, obtendo-se ao final, amostras representativas da cadeia de frangos da região Sul do Rio Grande do Sul, Brasil.

A análise da bactéria *Escherichia coli* também foi incluída nesta pesquisa, considerando o fato de que esta bactéria é indicadora da presença de bactérias intestinais, além do fato de esta espécie poder causar doenças graves de origem alimentar causadas pela invasão de células intestinais ou pela produção de toxinas.

Além disso, considerando as elevadas contagens bacterianas verificadas nas amostras provenientes do varejo, optou-se por investigar outras duas marcas de cortes de frango comercializadas na região Sul, para assim compará-las e verificar se as contagens estavam associadas a marca do produto. Nestes cortes realizou-se as análises de coliformes termotolerantes, *Salmonella* spp., *Escherichia coli* e *Listeria monocytogenes*.

**Artigo a ser submetido à revista Food Control : *Salmonella spp.*,
Escherichia coli, *Pseudomonas spp*, *Listeria monocytogenes* e micro-
organismos indicadores na cadeia de carne de aves da região Sul do Rio
Grande do Sul, Brasil**

Denise Oliveira Pacheco, Jacqueline Valle de Bairros, Luciana Diéguez Ferreira
Passos, Elizabete Helbig, Eliezer Ávila Gandra

Resumo

A carne de frango é um alimento cada vez mais presente na vida dos consumidores, no entanto, também é um produto muito suscetível à deterioração microbiológica. Objetivou-se avaliar a qualidade microbiológica da cadeia de frangos da região Sul do Rio Grande do Sul, Brasil. Para isso, foram coletadas 66 amostras de um frigorífico-abatedouro de aves e 18 amostras do comércio varejista da mesma região, onde eram comercializados os frangos abatidos. Foram também avaliadas 18 amostras submetidas aos procedimentos domésticos comumente realizados por consumidores. Na linha de abate, a amostragem foi realizada em três pontos: antes da escaldagem, após a evisceração e pós *chiller*. Também foram coletadas amostras de água do processamento, nas etapas de escaldagem e resfriamento. Foram realizadas análises de quantificação de coliformes totais e termotolerantes, bactérias psicotróficas, *Pseudomonas* spp, *Escherichia coli* e pesquisa de *Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes*. Pela elevada contagem de coliformes totais, observou-se que as etapas de escaldagem e resfriamento não atuaram com eficácia na diminuição da concentração de coliformes como era esperado. Já para coliformes termotolerantes, houve redução da contaminação conforme o abate transcorreu; amostras dos pontos pós *chiller* e varejo estavam com 27,8% e 5,6% das contagens, respectivamente, acima do limite estipulado pela legislação brasileira, diferente das amostras do ponto ambiente doméstico, onde não se observou contagens acima do limite máximo permitido. Em todos os pontos avaliados na cadeia de frangos (exceto amostras de água) verificou-se presença de *Escherichia coli*, sendo o ponto amostral ambiente doméstico o que apresentou maior concentração microbiana média. As médias de contagens para micro-organismos psicotróficos e bactérias do gênero *Pseudomonas* spp. aumentaram consideravelmente nas etapas varejo e ambiente doméstico. Verificou-se presença de *Salmonella* spp. em todos os pontos amostrados no abatedouro. Nos pontos varejo e ambiente doméstico obteve-se ausência deste patógeno. Isolou-se bactérias do gênero *Listeria* spp. em toda a cadeia de frangos, havendo maior incidência de *L. monocytogenes*, observada nas etapas antes da escaldagem e ambiente

doméstico. Com os resultados obtidos é possível evidenciar a necessidade de readequação das práticas higiênico-sanitárias em toda cadeia de frangos, direcionando ações para todos os envolvidos, inclusive o consumidor final.

Palavras-chave: abate de aves; coliformes totais e termotolerantes; patogênicos

1 Introdução

A carne de frango está cada vez mais presente na vida dos consumidores e sua produção tornou-se bastante abrangente, tanto que nos últimos anos observam-se aumentos significativos na produção, consumo e exportação desta carne (UBABEF, 2013).

O abate de aves no Brasil é bastante pulverizado, abrangendo todo o território nacional. Há várias regiões produtoras de frango e muitos tipos de produtos avícolas no mercado, como cortes, miúdos, cortes especiais, industrializados e frango inteiro, sendo este último o mais vendido para o mercado externo (SCHERER FILHO, 2009; UBABEF, 2013).

Na industrialização do frango vivo e consequente transformação em carcaça, uma série de operações devem ser realizadas no frigorífico, implicando na qualidade final deste produto (SCHERER FILHO, 2009). Estas etapas de processamento de frango objetivam tornar o produto apto ao consumo, diminuindo a carga microbiana.

Devido a sua composição rica em nutrientes, à atividade de água elevada e ao pH próximo à neutralidade, a carne de frango é um alimento muito suscetível à deterioração microbiológica (ICMSF, 2005; SILVA, 2010). Os fatores que influenciam o desenvolvimento de micro-organismos podem ser oriundos da própria ave ou de fontes externas (JAY, 2005)

Nos processos industriais de abate e processamento de aves, bem como durante a distribuição do produto final, a quantificação de micro-organismos indicadores é utilizada para avaliar a qualidade higiênico-sanitária do produto. Além desses indicadores, a pesquisa direta de micro-organismos patogênicos também é fundamental para análise da inocuidade destes alimentos (CARVALHO et al, 2005).

A enumeração de coliformes totais é utilizada para avaliar as condições higiênicas do produto, pois, quando em alto número, indica contaminação decorrente de falha durante o processamento, limpeza inadequada ou tratamento térmico insuficiente. Já a detecção de elevado número de coliformes termotolerantes é interpretada como indicativo da presença de patógenos intestinais, como *Escherichia coli* (JAY, 2005; FRANCO & LANDGRAF, 2008).

É relevante também a enumeração de micro-organismos psicrotróficos, como *Pseudomonas* spp., que predominam em carcaças e cortes refrigeradas e podem multiplicar-se, mesmo que lentamente, em temperaturas iguais ou inferiores a 0°C; sendo responsáveis por grande parte das alterações dos produtos, o que faz com que a vida comercial destas carnes dependa tanto da conservação quanto do número de micro-organismos presentes após a sua obtenção (CARVALHO et al., 2005; JAY, 2005).

Com relação aos produtos cárneos, há consenso internacional que dentre os patógenos de maior relevância estão *Salmonella* spp., *E. coli* e *Listeria monocytogenes* (ICMSF, 2005; SCHLUNDT, 2002).

Inúmeros surtos causados por *Salmonella* spp. e *E. coli* são conhecidos, envolvendo os mais variados tipos de alimentos, principalmente os de origem animal (BRASIL, 2012; JAY, 2005). Também de extrema importância, *L. monocytogenes* é agente etiológico da Listeriose, doença grave que possui elevada taxa de letalidade (entre 20% e 30% para grupos de risco). Devido a esse alto índice, a Listeriose ocupa o segundo lugar no ranking das causas mais frequentes de morte por consumo de alimentos contaminados (VAILLANT et al., 2005).

Muitas são as pesquisas referentes à contaminação por estes micro-organismos, tanto em carcaças de frango durante as etapas de abate como em cortes disponíveis à compra em estabelecimentos varejistas. Estes estudos demonstram que a contaminação por micro-organismos indicadores, deteriorantes e patogênicos como *Salmonella* spp. e *L. monocytogenes*, ainda é uma realidade a ser corrigida em frigoríficos abatedouros de aves e em estabelecimentos onde são comercializados o produto e seus derivados (GALHARDO et al, 2006; LOPES et al, 2007; VON RÜCKERT et. al, 2009;

PENTEADO & ESMERINO, 2011; GOH et al., 2012; SVOBODOV et al. 2012; ROSSA et al., 2013)

Vale ressaltar que a contaminação microbiana também pode ocorrer durante os procedimentos praticados pelos consumidores, como o armazenamento em refrigeradores domésticos convencionais, por falta de manipulação higiênica ou até por contaminação cruzada através do contato com outros alimentos contaminados, muitas vezes gerando a falsa impressão de que ocorreram falhas durante o processamento das carcaças, ainda na indústria. Contudo, são escassos e inconclusivos os dados sobre a qualidade higiênico-sanitária de cortes de frango neste ambiente (MIYAGUSKU, et al, 2003; GALARZ et a., 2010), o que impede conhecer pontos específicos de contaminação e propor medidas eficazes na redução e/ou eliminação microbiana neste ponto da cadeia.

Diante do exposto, o presente trabalho teve por objetivo avaliar a qualidade microbiológica de amostras da cadeia de aves da região Sul do Rio Grande do Sul, Brasil, através da quantificação de coliformes totais e termotolerantes, de bactérias psicrófilas, de *Pseudomonas* spp, de *Escherichia coli* e da pesquisa de *Salmonella* spp e *Listeria monocytogenes*.

2 Material e Métodos

2.1 Coleta das amostras

Para a avaliação microbiológica da cadeia de aves da região Sul do Rio Grande do Sul, Brasil, foram coletadas 66 amostras de um frigorífico abatedouro de aves e 18 amostras do comércio varejista da mesma região, onde eram comercializados os frangos abatidos. Foram também avaliadas 18 amostras submetidas a procedimentos domésticos comumente realizados por consumidores.

As amostras foram coletadas entre outubro de 2012 e abril de 2013, em uma planta de abate de aves, localizada na região sul do Rio Grande do Sul, Brasil.

No frigorífico abatedouro foram realizadas seis coletas, onde nove carcaças de frango eram amostradas por coleta. Também eram coletadas duas amostras de água do processamento.

A amostragem era realizada em três pontos da linha de abate: antes da escaldagem (AE), após a evisceração (AEV) e após o resfriamento/"chiller" (AC), sendo coletadas três carcaças de frango a cada ponto amostral. As amostras de água do processo eram coletas nas etapas de escaldagem (AES) e pré-resfriamento/pré-chiller (APC), onde se retiravam alíquotas de 300 mL em frascos estéreis de vidro.

A amostragem das carcaças foi realizada por lavagem, como o proposto pela *United States Departamento of Agriculture* (2004) com modificações, através da imersão e friccionamento da carcaça em saco de polietileno estéril, contendo, 450 mL de água salina 0,85% para o primeiro ponto de amostragem e 225 mL de água salina 0,85% para os outros dois pontos, como recomendado por Lansini (2010), já que as aves ainda com penas demandam maiores quantidades de líquido para lavagem. As soluções obtidas foram posteriormente transferidas para frascos estéreis de vidro e conduzidos em caixas isotérmicas ao laboratório para análise.

Ainda no ambiente industrial, as carcaças foram pesadas para que a conversão dos resultados fosse realizada (de mL para g)

Para realizar a avaliação das amostras do varejo e ambiente doméstico (pela simulação dos procedimentos praticados pelo consumidor), eram adquiridas 6 bandejas de cortes (coxa e sobrecoxa) de frango, do mesmo lote das amostras que eram coletadas no frigorífico abatedouro. Os cortes eram adquiridos no comércio varejista (supermercados) da região dois dias após chegarem aos estabelecimentos, quando eram expostos à venda. Três, das seis bandejas, eram encaminhadas imediatamente para amostragem e análise, as outras três eram levadas para ambiente doméstico (residência de consumidor) e armazenadas em refrigerador (7°C) por mais dois dias, simulando as condições de armazenamento praticadas por consumidores.

Os cortes de frango coletados no varejo e submetidos ao armazenamento doméstico foram amostrados do mesmo modo, através de lavagem por imersão e friccionamento em 225 mL de água salina 0,85%. Para isso, eram colocados dois cortes (1 coxa e 1 sobrecoxa) em cada saco de

polietileno estéril, originando amostras do varejo e do ambiente doméstico. A cada coleta eram analisadas 3 amostras dos cortes do varejo e 3 do ambiente doméstico. As amostras eram pesadas para posterior conversão dos resultados (de mL para g).

2.2 Análises microbiológicas

As análises foram realizadas no Laboratório de Microbiologia de Alimentos da Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Pelotas, de acordo com os procedimentos propostos pela *American Public Health Association* (APHA) (DOWNES & ITO, 2001). Ao chegarem no laboratório todas as amostras eram pesadas com e sem embalagem e identificadas. As amostras foram submetidas a diluições seriadas até a diluição 10^{-3} , com exceção da análise de coliformes, totais e termotolerantes, que foram diluídas até 10^{-6} .

2.2.1 Quantificação de coliformes totais e termotolerantes

Para a enumeração de coliformes totais e termotolerantes foi utilizada a técnica do Número Mais Provável (NMP). A análise presuntiva de coliformes foi realizada em Caldo Lauril Sulfato de Sódio (LST), com incubação a 35°C por 48 horas. A enumeração de coliformes totais foi efetuada em Caldo Lactosado Bile Verde Brilhante (CLBVB), com incubação a 35°C por 48 horas. A enumeração de coliformes termotolerantes foi realizada em Caldo *Escherichia coli* (EC), com incubação a 45,5°C por 48 horas. Os resultados foram expressos em NMP.g⁻¹ (DOWNES & ITO, 2001).

2.2.2 Quantificação de *Escherichia coli*

Para a enumeração de *E. coli* utilizou-se a técnica do Número Mais Provável (NMP). A análise foi realizada a partir dos tubos positivos de EC, realizando-se semeadura destes em placas com meio de cultura Eosin Methylene Blue Agar (EMB), incubadas a 37°C por 24 horas. As colônias com

morfologia característica foram identificadas como *E. coli* através dos testes de produção de indol, reações de vermelho de metila e Voges-Proskauer, e utilização de citrato. Os resultados foram expressos em NMP.mL⁻¹ (DOWNES & ITO, 2001).

2.2.3 Quantificação de micro-organismos psicrotróficos

A quantificação de micro-organismos psicrotróficos foi efetuada por plaqueamento *pour plate* das diluições com adição do meio Ágar Padrão para Contagem (PCA). As placas foram incubadas a 7°C por 10 dias. O resultado foi expresso em UFC.g⁻¹ (DOWNES & ITO, 2001).

2.2.4 Quantificação de *Pseudomonas* spp.

A quantificação de *Pseudomonas* spp. foi efetuada por plaqueamento em superfície no meio *Pseudomonas* Ágar Isolamento contendo 2% de glicerina, com incubação durante 48 horas a 30 °C. O resultado foi expresso em UFC.g⁻¹ (DOWNES & ITO, 2001).

2.2.5 Análise de *Salmonella* spp.

Para o isolamento de *Salmonella* spp. foi realizado pré-enriquecimento em água peptonada tamponada a 37°C por 24 horas, enriquecimento seletivo em Caldo Rappaport-Vassiliadis a 42°C por 24 horas e Caldo Tetracionato, a 37°C por 24 horas. Em seguida foi feito semeadura em placas de ágar Desoxicolato-Lisina-Xilose (XLD) e Hektoen-Enteric (HE), sendo ambos incubados por 24h a 37°C. Colônias típicas foram submetidas à identificação bioquímica em Ágar Tríplice Ferro, Ágar Lisina Ferro e Ágar Urease, a 37°C por 24 horas. As amostras que apresentaram reação bioquímica característica foram submetidas à identificação sorológica, utilizando-se os soros polivalentes anti-salmonella somático e flagelar (Probac) (DOWNES & ITO, 2001).

2.2.6. Análise de *Listeria monocytogenes*

A pesquisa de *L. monocytogenes* foi realizada conforme a metodologia preconizada pelo *International Organization for Standardization*, ISO 11.290-1 – *Detection method* (ISO, 1996), com modificações. A etapa de pré-enriquecimento foi realizada em Caldo Enriquecimento Listeria (LEB), com incubação a 30°C por 24 horas, seguida da incubação de uma alíquota em caldo Fraser (adicionado de suplemento SR 0156E Oxoid®) a 35°C por 48 horas. Após, foi realizada semeadura nos ágar Oxford (adicionado de suplemento SR 0140E Oxoid®) e Palcam (adicionado de suplemento SR 0150E Oxoid®) a 35°C por 48 horas. Os isolados purificados foram submetidos a testes fenotípicos de motilidade, fermentação de carboidratos (dextrose, xilose, ramnose e manitol) e presença de catalase e de β -hemolisina.

2.3 Análise estatística

Os dados obtidos nas quantificações de coliformes totais e termotolerantes, *Escherichia coli*, psicrotróficos e *Pseudomonas* spp. foram submetidos à análise de variância seguida pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) utilizando o software STATISTICA 7 (2004).

3 Resultados e Discussão

3.1 Coliformes totais e termotolerantes

Os resultados obtidos nas análises de coliformes totais e termotolerantes em amostras provenientes de pontos específicos da cadeia de aves da região Sul do Rio Grande do Sul, Brasil, estão dispostos na Fig.1.

A legislação brasileira não estabelece limites para coliformes totais em carcaças ou cortes de frango, estabelece apenas o limite máximo de 10^4 NMP.g⁻¹, ou 3 log NMP.g⁻¹, para coliformes termotolerantes em carnes resfriadas ou congeladas, "in natura", de aves (carcaças inteiras, fracionadas ou cortes) (BRASIL, 2001). No entanto, Chambers (2002) ressalva que

contagens acima 2 Log UFC.mL⁻¹, para coliformes totais, indicam falhas de higiene da matéria prima e/ou durante o processo.

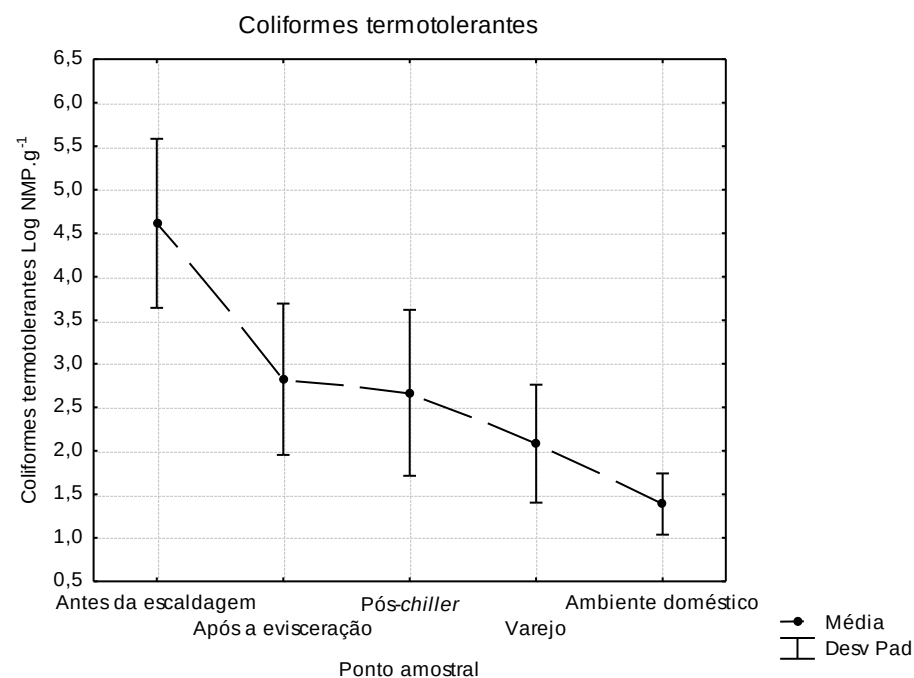
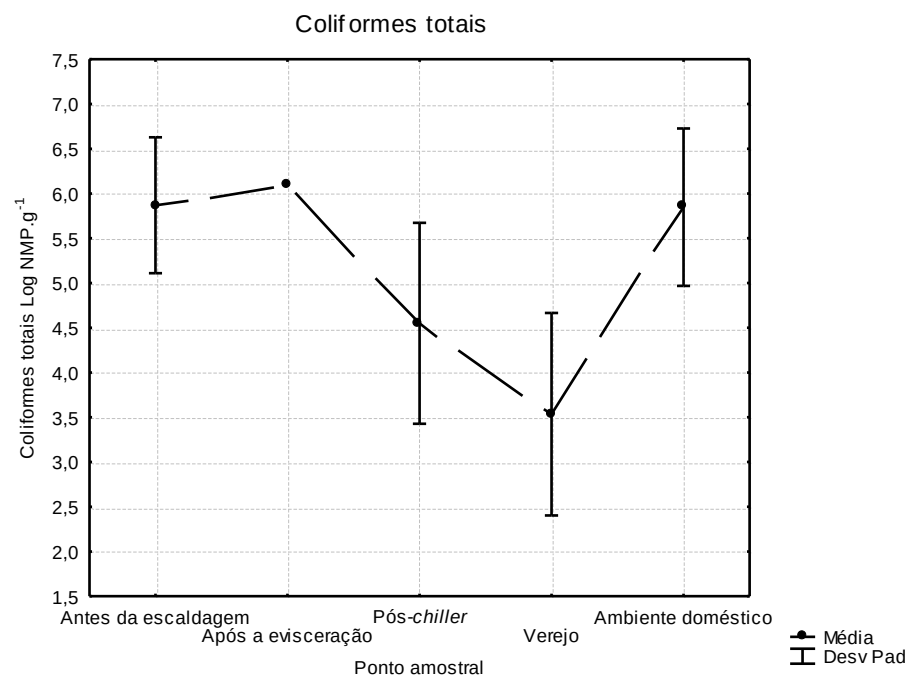


Figura 1 – Média e desvio padrão das concentrações de coliformes totais (a) e termotolerantes (b) em amostras provenientes de pontos específicos da cadeia de aves da região Sul do Rio Grande do Sul, Brasil.

Se considerado o limite estipulado por Chambers (2002), 88,9% (16/18) das amostras da etapa AE estavam acima do limite, na etapa AEV 100% (18/18) e na etapa PC obteve-se 72,2% (13/18) das amostras acima do limite (tab 1). Totalizando, 87% (47/54) das amostras analisadas durante o abate apresentaram concentrações para coliformes totais acima do limite máximo apontado por Chambers (2002). Nas amostras das etapas varejo e ambiente doméstico, 72,2% (13/18) e 94,4% (17/18) das amostras extrapolaram o limite indicado, respectivamente (tab. 1) (CHAMBERS, 2002). Estes resultados apontam deficiência higiênica no processamento e armazenamento em toda a cadeia de produção

Ainda com relação a coliformes totais, observou-se que não houve redução significativa na contagem deste grupo de bactérias nas amostras coletadas no frigorífico (tab 2), evidenciando que as etapas do processamento industrial não atuaram com eficácia na diminuição da concentração de coliformes como era esperado, sendo possível inferir que as carcaças de frango foram expostas a condições inadequadas de higiene durante o processamento.

Embora tenha havido uma diminuição na média de contagem no ponto pós-*chiller* com relação ao ponto amostral após a evisceração, esta redução não foi significativa ($p > 0,05$). Porém quando se compara apenas as amostras do varejo e do ambiente doméstico é possível verificar um aumento significativo (tab 2) nas contagens deste último ponto.

Nas amostras de água da escaldagem e do pré-*chiller* foram verificadas contagens com médias para coliformes totais de 2,5 log NMP.mL⁻¹ e 3 log NMP.mL⁻¹, respectivamente.

Ao analisar-se o gráfico das médias de contagens para coliformes termotolerantes, na Fig 1 (b), pode-se observar o decréscimo da concentração média no decorrer da cadeia, confirmado pela análise estatística (tab 1 e tab 2). Nas etapas AEV e PC houve redução significativa das contagens (tab. 2) quando comparadas a etapa AE. Já entre as etapas AEV e PC não houve diferença significativa. O que confirma que a etapa de escaldagem foi mais eficiente do que o pré-resfriamento na redução microbiana de bactérias do grupo coliformes termotolerantes. As médias de contagem para estas bactérias

obtidas nas análises da água da escaldagem e água do pré-*chiller* foram de 2,4 e 3,04 log NMP.mL⁻¹, respectivamente.

Entre as amostras do varejo e ambiente doméstico não houve diferença significativa (tab. 2).

Tabela 1 – Médias das concentrações de coliformes totais e termotolerantes, *Escherichia coli*, psicrotróficos e *Pseudomonas spp* em pontos específicos da cadeia de aves da região Sul do Rio Grande do Sul, Brasil.

Ponto Amostrai	Coliformes totais		Coliformes termotolerantes		<i>Escherichia coli</i>		Psicrotróficos		<i>Pseudomonas spp.</i>	
	NMP.g ⁻¹	Log NMP.g ⁻¹	NMP.g ⁻¹	Log NMP.g ⁻¹	NMP.g ⁻¹	Log NMP.g ⁻¹	UFC.g ⁻¹	Log UFC.g ⁻¹	UFC.g ⁻¹	Log UFC.g ⁻¹
AE	2,2x10 ⁶	5,87	6,7x10 ⁵	4,61	0,26	0,005	4,4x10 ³	2,28	8,1x10 ³	2,91
AEV	1,2x10 ⁶	6,09	8,2x10 ³	2,82	0,08	- 0,05	4,3x10 ²	1,42	4,8x10 ²	1,82
PC	8,2x10 ⁵	4,55	1,4x10 ⁵	2,66	0,08	- 0,05	4,1x10 ²	1,91	8,2x10 ²	1,82
VAR	1,3x10 ⁶	3,53	7,2x10 ⁵	2,08	0,6	0,08	2,2x10 ⁴	3,87	2,1x10 ⁴	3,55
AMBD	3,4x10 ⁶	5,85	6,7x10	1,39	1,09	0,13	1,7x10 ⁵	4,45	1,1x10 ⁶	5,39

AE – antes da escaldagem; AEV – após a evisceração; PC – pós-chiller; VAR – varejo; AMBD – ambiente doméstico.

Tabela 2 – Valores de p* obtidos no Teste de Tukey na comparação entre as concentrações de coliformes totais e termotolerantes, *Escherichia coli*, psicrotróficos e *Pseudomonas* spp em pontos específicos da cadeia de aves da região Sul do Rio Grande do Sul, Brasil.

		AE	AEV	PC	VAR	AMBD
Coliformes totais	AE		0,995639	0,178577	0,001616	1,000000
	AC	0,995639		0,077800	0,000502	0,993764
	PC	0,178577	0,077800		0,429277	0,191836
	VAR	0,001616	0,000502	0,429277		0,001810
	CONS	1,000000	0,993764	0,191836	0,001810	
Coliformes termotolerantes	AE		0,010601	0,004300	0,000195	0,000120
	AC	0,010601		0,998449	0,639948	0,065723
	PC	0,004300	0,998449		0,810924	0,129240
	VAR	0,000195	0,639948	0,810924		0,694860
	CONS	0,000120	0,065723	0,129240	0,694860	
<i>Escherichia coli</i>	AE		0,865985	0,838422	0,685138	0,260259
	AC	0,865985		0,999997	0,159749	0,028060
	PC	0,838422	0,999997		0,140743	0,023724
	VAR	0,685138	0,159749	0,140743		0,951370
	CONS	0,260259	0,028060	0,023724	0,951370	
Psicrotróficos	AE		0,027361	0,718445	0,000018	0,000017
	AC	0,027361		0,444991	0,000017	0,000017
	PC	0,718445	0,444991		0,000017	0,000017
	VAR	0,000018	0,000017	0,000017		0,278141
	CONS	0,000017	0,000017	0,000017	0,278141	
<i>Pseudomonas</i> spp.	AE		0,001733	0,001727	0,174783	0,000017
	AC	0,001733		1,000000	0,000017	0,000017
	PC	0,001727	1,000000		0,000017	0,000017
	VAR	0,174783	0,000017	0,000017		0,000017
	CONS	0,000017	0,000017	0,000017	0,000017	

AE – antes da escaldagem; AEV –após a evisceração; PC – pós-chiller; VAR – varejo; AMBD – ambiente doméstico

*Valores de p<0,05 na célula correlacionada entre linha e coluna indica que houve diferença significativa.

Ainda de acordo com a tab. 1 é possível observar que 27,8% (5/18) e 5,6% (1/18) das amostras nos pontos amostrais pós-chiller e varejo,

respectivamente, estão em desacordo com o estipulado pela legislação brasileira para carnes resfriadas ou congeladas, "in natura", de aves (carcaças inteiras, fracionadas ou cortes) (BRASIL, 2001), ou seja, estão acima de 3 Log NMP.g⁻¹. Já as amostras do ponto amostral ambiente doméstico não apresentaram concentração microbiana acima do limite para coliformes termotolerantes.

Em seu estudo, Lansini (2010), ao analisar amostras da água e carcaças de frango em abatedouros da região sul do Rio Grande do Sul, Brasil, observou que a etapa de escaldagem reduziu, mas não eliminou totalmente a contaminação por bactérias do grupo coliformes termotolerantes, corroborando com o achado pelo presente estudo.

Resultados semelhantes também foram encontrados por Lopes et. al (2007), que em sua pesquisa avaliaram carcaças de frango de um frigorífico da região Norte do estado do Paraná, antes de passarem no pré-*chiller* e após saírem do *chiller*. Os autores relataram que a passagem das carcaças de frangos pelos tanques de resfriamento não diminuiu de maneira significativa a contaminação das carcaças por bactérias dos grupos coliformes totais e termotolerantes (LOPES et al., 2007).

Já Galhardo et al. (2006), também analisaram carcaças de frangos antes e depois do resfriamento, no entanto, em três horários distintos do abate: início, meio e fim. Os autores não obtiveram resultados diferentes significativamente no final do período de abate para as análises de coliformes totais e termotolerantes, conforme o achado pelo presente estudo. Contudo, obtiveram redução estatística nas médias de contaminação, para os mesmos grupos de bactérias, nos outros dois momentos do abate: no início e no meio (GALHARDO et al., 2006).

Rodrigues et al. (2008) em seus achados também verificaram uma redução significativa nas contagens de coliformes totais e termotolerantes após a passagem das carcaças de frango pelas etapas de resfriamento.

Contudo, as concentrações verificadas pelo presente estudo foram superiores aos encontrados por outros autores, tanto para coliformes totais como para coliformes termotolerantes, nas etapas de AEV e PC (GALHARDO et al., 2006; LOPES et al., 2007; RODRIGUES et al., 2008).

No que diz respeito à qualidade dos frangos comercializados no comércio varejista, nos resultados obtidos pelo presente trabalho também verificou-se concentrações microbianas superiores as encontradas por outros autores (MOURA FILHO et al., 2008; CARVALHO et. al., 2005; ROSSA et al., 2013).

Os resultados encontrados na enumeração de coliformes totais e termotolerantes, assim como os citados anteriormente, apontam a necessidade de medidas corretivas do ponto de vista higiênico-sanitário durante o abate, processamento e comercialização na cadeia de frangos.

O fato da concentração de coliformes totais nos cortes do ambiente doméstico ter sido significativamente superior ($p < 0,05$) à obtida nas contagens dos cortes do “varejo” indica que estes cortes, quando submetidos ao ambiente doméstico, sendo armazenados em refrigeradores convencionais, foram expostos a condições que permitiram um aumento na concentração de bactérias deste grupo. Gava et al. (2009) afirmam que este tipo de micro-organismo pode ser encontrado em diversos ambientes, como superfícies e até em solos. Interessantemente, o contrário foi observado para coliformes termotolerantes, onde houve uma tendência à diminuição na média de contagem no ponto “ambiente doméstico” quando comparado ao ponto amostral anterior. Apontando que, embora as condições de higiene não fossem adequadas, não houve contato entre os cortes armazenados e potenciais fontes de bactérias do grupo coliformes termotolerantes.

3.2 *Escherichia coli*

Na Fig. 2 podem ser visualizados os resultados obtidos na quantificação de *Escherichia coli* em amostras provenientes de pontos específicos da cadeia de aves da região Sul do Rio Grande do Sul, Brasil.

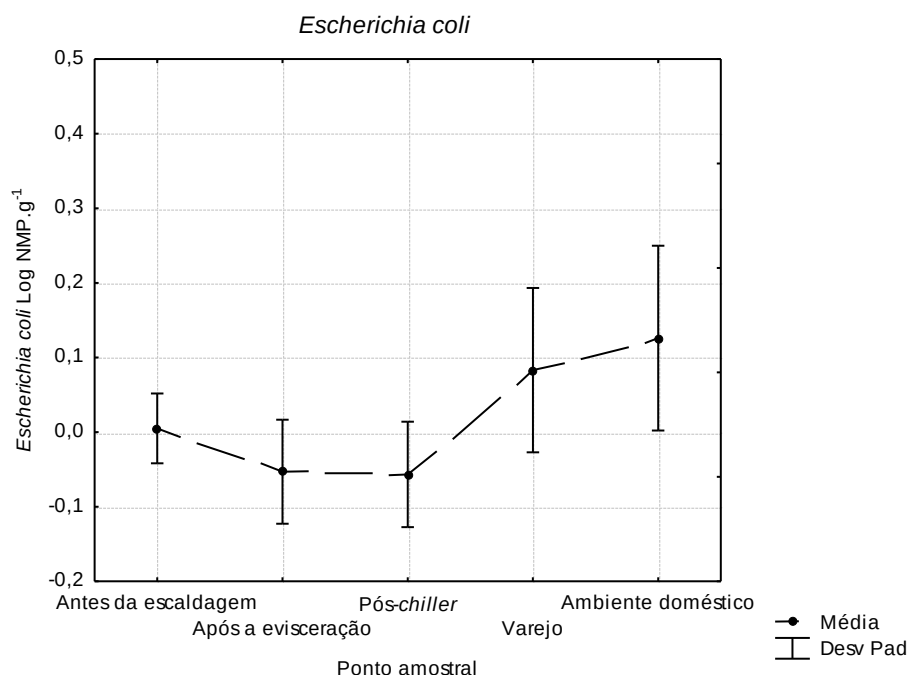


Figura 2 – Média e desvio padrão da enumeração de *Escherichia coli* em amostras provenientes de pontos específicos da cadeia de aves da região Sul do Rio Grande do Sul

Em todos os pontos avaliados na cadeia de aves (exceto amostras de água) verificou-se presença de *E.coli*. Nas amostras de água da escaldagem e do pré-*chiller*, obteve-se médias de contaminação $< 3,0 \text{ NMP.mL}^{-1}$ para ambos os pontos amostrais.

As médias de contaminação variaram de -0,09 a $0,89 \text{ Log NMP.g}^{-1}$ (tab 1), sendo o ponto amostral “ambiente doméstico” o que apresentou maior concentração microbiana média. Neste ponto a contaminação foi significativamente superior às concentrações obtidas nas etapas após a evisceração e pós-*chiller* (tab 2), entre os demais pontos avaliados não houve diferença significativa.

Os achados obtidos pelo presente estudo foram semelhantes aos encontrados por Olivier et al. (1996) que, ao avaliarem uma planta de abate de aves na África do Sul, encontraram incidência da bactéria nas três etapas avaliadas.

Entretanto, Isolan (2007), Northcutt et al. (2003) e Almeida e Silva (1992) obtiveram resultados diferentes. De acordo com os autores citados, o sistema de resfriamento, mesmo com o passar das horas e aumento da carga orgânica,

mantém sua capacidade de reduzir a contaminação por *E. coli* das carcaças de frango, fato não observado nesta pesquisa.

Isolan (2007), ao avaliar carcaças de frango em um frigorífico abatedouro de aves do Rio Grande do Sul, Brasil, antes e após o sistema de resfriamento, encontrou concentração microbiana média para *E. coli* superior a verificada pelo presente estudo na primeira etapa (0,79 Log NMP. g⁻¹). Além disso, o autor verificou uma redução significativa entre as duas etapas, apontando a eficácia dos tanques de resfriamento. Rodrigues et al. (2008) afirmam esta premissa já que também obtiveram redução significativa na contaminação por *E. coli* quando se comparou as etapas antes e após o *chiller*.

É possível notar, observando a Figura 2, que há uma tendência à redução da contaminação por *E. coli* conforme o abate transcorre, e ao aumento da contaminação dos frangos nas etapas de varejo e ambiente doméstico (tab 1). Este fato indica, assim como para coliformes totais, que houve condições propícias para aumento da concentração microbiana de *E. coli* nos cortes de frango, enquanto estavam no ambiente doméstico e armazenados em refrigerador convencional.

Svobodov et al (2012), na República Tcheca, obtiveram resultados semelhantes ao quantificar a bactéria em carcaças de frangos em várias etapas no decorrer do abate, obtendo como resultado que a contaminação por *E. coli* diminui com cada etapa subsequente do processamento.

Álvarez et al. (2002), na Espanha, quantificaram *E. coli* em cortes de frangos adquiridos no comércio da cidade de León, obtendo médias superiores às do presente estudo, variando de 2,6 a 4,3 log UFC.g⁻¹.

3.3 Micro-organismos psicotróficos e *Pseudomonas spp.*

Na Fig. 3 estão exibidas as contagens de micro-organismos psicotróficos e bactérias do gênero *Pseudomonas spp.* em amostras provenientes de pontos específicos da cadeia de aves da região Sul do Rio Grande do Sul, Brasil.

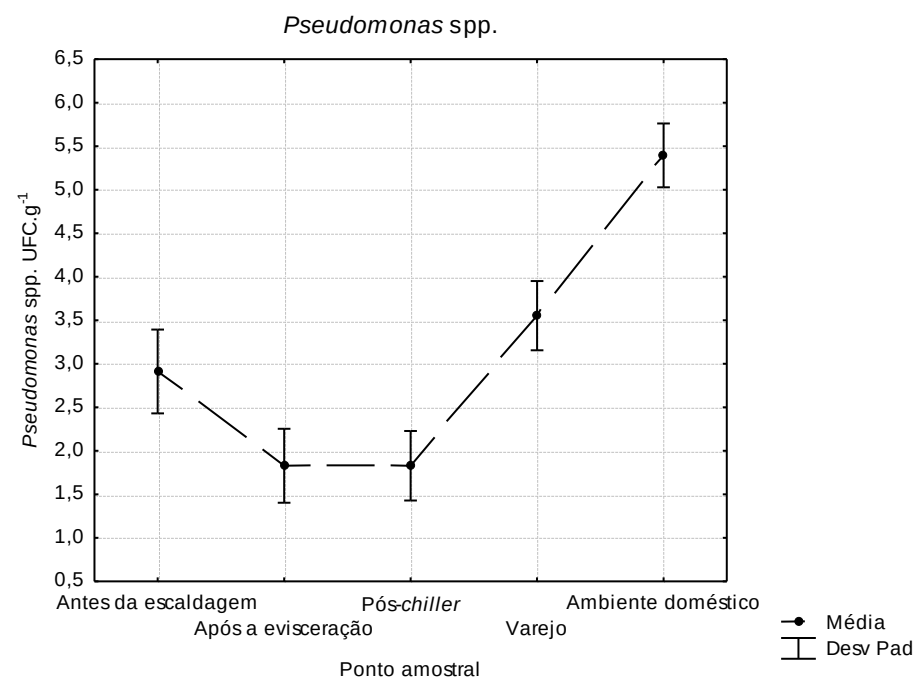
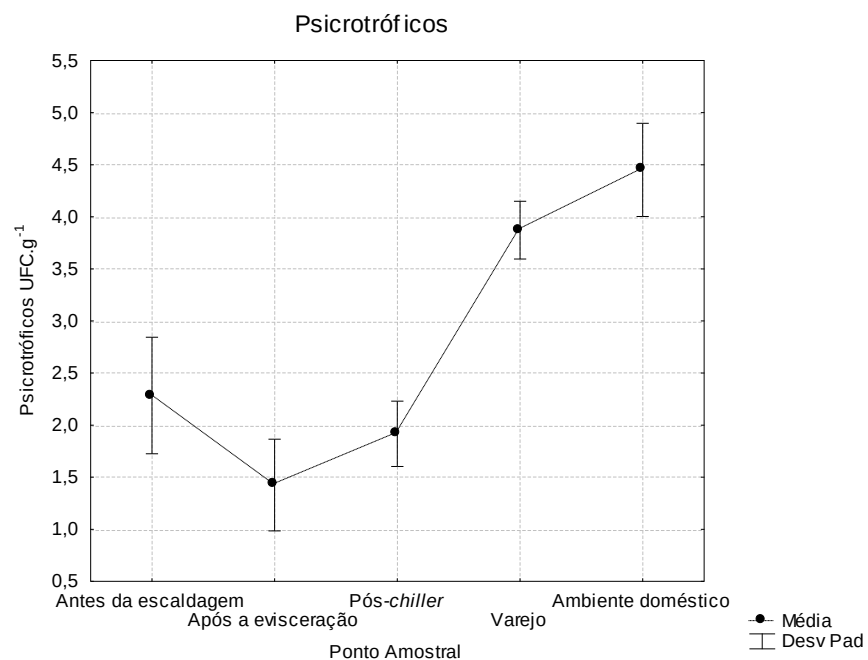


Figura 3 - Média e desvio padrão da quantificação de micro-organismos psicrotróficos (a) e bactérias do gênero *Pseudomonas* spp. (b) em amostras provenientes de pontos específicos da cadeia de aves da região Sul do Rio Grande do Sul, Brasil.

Embora a contagem de micro-organismos psicrotróficos indique o grau de deterioração de alimentos refrigerados, a legislação brasileira não estabelece um valor de concentração microbiana máxima para estes micro-organismos. Entretanto, a *International Commission on Microbiological Specifications for Foods* (1978) estabelece o intervalo de 10^6 a 10^7 UFC.g⁻¹ (6 a 7 log UFC.g⁻¹) como limite máximo, o qual foi utilizado neste trabalho.

As médias das contagens obtidas, nas etapas de abate, apresentaram-se abaixo do limite preconizado pela ICMS (1978).

Na fig. 3 verifica-se a tendência à redução microbiana conforme o abate transcorre, no entanto, esta redução foi significativa (tab 2) apenas entre o ponto após a evisceração e a etapa anterior avaliada (AE). Este fato, aliado às médias das contagem das águas da escaldagem e pré-chiller (2,5 e 2,4 log UFC.mL⁻¹, respectivamente), confirmam que a etapa de escaldagem auxiliou na redução da contaminação por este grupo microbiano, diferente da etapa de resfriamento.

Lopes et al. (2007), no estado do Paraná, Brasil, obtiveram resultados semelhantes ao avaliar carcaças de frango nas etapas de abate. Os autores não obtiveram redução significativa nas médias das contagens de micro-organismos psicrotróficos ao analisarem carcaças de frango antes e após o resfriamento. O mesmo observaram Galhardo et al. (2006) ao analisarem carcaças das mesmas etapas, os autores não obtiveram redução significativa nas médias das contagens.

Entre as amostras do varejo e do ambiente doméstico não houve diferença significativa (tab 2), contudo, as médias destes pontos amostrais foram significativamente superiores às obtidas nas contagens dos pontos amostrados durante as etapas de abate (tab 1). Provavelmente devido ao fato de que os cortes amostrados no varejo e os do ambiente doméstico foram armazenados sob temperaturas de refrigeração, entre 4°C e 8°C, respectivamente e, este grupo de micro-organismos tem a capacidade de desenvolver-se e de se multiplicar nestas condições de armazenamento (JAY, 2005).

Rossa et al. (2013), ao quantificarem micro-organismos psicrotróficos em cortes de frangos convencionais (obtidos no comércio varejista) e orgânicos,

obtiveram médias de contaminação semelhantes (4,1 e 6,5 Log UFC.g⁻¹, respectivamente) às obtidas neste trabalho. Alvarez et al. (2002) na Espanha, também enumeraram este grupo de micro-organismos em cortes de frango adquiridos no comércio, obtendo médias (5,96 a 7,87 log UFC.g⁻¹) superiores às do presente trabalho, extrapolando inclusive as orientações do país de origem para carnes de aves.

Com relação à quantificação de bactérias do gênero *Pseudomonas* verificou-se redução significativa nas contagens das carcaças no ponto após a evisceração quando comparado às do primeiro local amostrado, antes da escaldagem (tab. 2), indicando que a etapa de escaldagem (com média de contaminação de 2,3 log UFC.mL⁻¹) promoveu a redução da microbiota deste gênero, conforme sugere Andrew & Ron (1998).

Entre o segundo e o terceiro ponto amostral, após a evisceração e pós-*chiller*, não houve redução significativa nas médias de contagens, provavelmente por se tratar de uma bactéria psicrófila, sendo capaz de sobreviver e desenvolver-se em temperaturas baixas (0 a 15°C). A média de contaminação obtida das amostras de água do pré-*chiller* (3 log UFC.mL⁻¹) confirma esta hipótese.

As contagens das amostras do varejo foram significativamente superiores às obtidas nas carcaças no último ponto amostrado no abatedouro e inferiores às obtidas nas contagens dos cortes do ambiente doméstico (tab 1). Este resultado afirma a premissa de Munmann (2008), a qual menciona que esse gênero inclui espécies que apresentam um tempo de geração curto em temperatura entre 0 °C e 7 °C, e uma temperatura mínima de crescimento baixa, de até -10 °C. Ainda, corroborando com o exposto pelo autor, a média das contagens dos cortes do ambiente doméstico foi mais de duas vezes superior à do ponto amostral pós-*chiller* (tab. 1).

Em estudo semelhante, Penteado & Esmerino (2011) também encontraram contaminação por *Pseudomonas* spp. em amostras de cortes de frango comercializados na cidade de Ponta Grossa – PR, onde foi apontada presença desse micro-organismo em 70% das 50 amostras analisadas e, em todos os lotes analisados pelo menos uma das amostras estava contaminada. Miyagasku et al. (2003) ao analisarem amostras de peito de frango desossado

e sem pele, encontraram média de contaminação por bactérias do gênero *Pseudomonas* superior à deste estudo, 4,3 Log UFC.g⁻¹.

A contagem de *Pseudomonas* spp. definida como indicativa de término de vida útil é de 6 a 7 log UFC.g⁻¹ (COX et al., 1975; ALLEN; RUSSELL; FLETCHER, 1997; MEHYAR et al., 2005). Assim, de acordo com esta premissa, todas as amostras apresentaram-se apropriadas para consumo em relação a este gênero microbiano.

3.5 Análise de *Salmonella* spp.

Verificou-se presença de *Salmonella* spp. em todos os pontos amostrados no frigorífico-abatedouro. No ponto antes da escaldagem foi possível isolar a bactéria em 1,8% (1/18) das amostras, no ponto após a evisceração em 16,6% (3/18) e no ponto “pós-chiller”, em 1,8% (1/18) das amostras. No entanto, estes resultados foram obtidos em diferentes coletas, sugerindo que tenha ocorrido contaminação cruzada entre as carcaças de frango, manipuladores, superfícies e/ou equipamentos mal higienizados. As águas utilizadas nas lavagens intermediárias foram descartadas como fator de contaminação cruzada entre as carcaças já que não foi isolada *Salmonella* spp. nas amostras das águas de escaldagem e pré-chiller.

O fato de ter havido maior incidência de *Samonella* spp. nas carcaças amostradas após a evisceração pode ser atribuído à etapa anterior, de evisceração, onde a ruptura dos intestinos pode resultar em grande contaminação por micro-organismos entéricos, como *Salmonella* spp. (VON RÜCKERT et. al, 2009; THOMAS e McMEEKIN, 1982)

Os resultados obtidos neste trabalho são semelhantes aos achados por Von Rückert et al. (2009) ao analisar carcaças de frango em um frigorífico abatedouro do estado de Minas Gerais. Os autores avaliaram caraças em cinco pontos da linha da abate, obtendo maior incidência de *Salmonella* spp. nas carcaças analisadas antes de entrarem no sistema de resfriamento (14%), enquanto que, ao saírem do chiller a incidência foi de 3%.

Contudo, Lopes et al. (2007) obtiveram resultados diferentes ao analisarem a presença de *Samonella* spp. em um frigorífico-abatedouro no

estado do Paraná, quando observaram a mesma proporção desta bactéria antes e após o sistema de resfriamento. Lillard (1990) relatou que uma pesquisa realizada pelo Serviço de Inspeção nos Estados Unidos (“*Food Safety and Inspection Service*”) mostrou que 5% das aves que chegavam ao abatedouro estavam contaminadas por *Salmonella* spp. e após a etapa final do processamento a contaminação aumentou para 36% nas carcaças dos frangos. O autor relata ainda que houve um aumento significativo na incidência de *Samonella* spp. após a saída do tanque de resfriamento por imersão, indicando que este é um ponto importante para a contaminação cruzada de carcaças de frangos em plantas de processamento.

Nas amostras coletadas no varejo e naquelas obtidas através da simulação das condições de manejo e armazenamento praticado pelos consumidores, não houve incidência de *Salmonella* spp., indicando que as temperaturas de refrigeração foram eficientes na inibição e/ou inativação desta bactéria e que não houve contato dos cortes com esta bactéria durante o armazenamento nestes locais.

Este resultado vai de encontro aos achados de Carvalho e Cortez (2003), que ao analisarem cortes de frangos oriundos do comércio de uma cidade de São Paulo obtiveram 40% de incidência de *Salmonella* spp.. Em um estudo realizado no estado de Ohio, nos Estados Unidos da América, os autores obtiveram incidência de *Samonella* spp. em 43% dos cortes de frangos analisados (BOKANYI Jr., et al, 1990)

3.6 Análise de *Listeria monocytogenes*

Entre as 102 amostras analisadas da cadeia de frangos, em 10 (9,8%) foram isoladas *Listeria* spp. Destas, seis (60%) confirmaram *L. monocytogenes*, três (30%) confirmaram *L. ivanovii* e uma (10%), *L. grayi*.

Na tab 3 estão discriminados os resultados da análise de *Listeria* spp. por etapa avaliada.

Tabela 3 – Espécies de *Listeria* spp. isoladas em amostras provenientes de pontos específicos da cadeia de aves da região Sul do Rio Grande do Sul, Brasil.

Etapa na cadeia de aves	Espécie de <i>Listeria</i> spp. isolada (nº de amostras positivas/ total de amostras analisadas - %)
Antes da escaldagem	<i>L. monocytogenes</i> (3/18 – 16,7%)
Água da escaldagem	ND
Após a evisceração	<i>L. grayi</i> (1 – 5,6%)
Água do pré-chiller	<i>L. monocytogenes</i> (1 – 5,6%)
Pós-chiller	ND
Varejo	<i>L. ivanovii</i> (1/18 – 5,6%)
	<i>L. monocytogenes</i> (1/18 – 5,6%)
Ambiente doméstico	<i>L. ivanovii</i> (2/18 – 11,1%)
	<i>L. monocytogenes</i> (1/18 – 5,6%)

ND – não detectado

No frigorífico abatedouro isolou-se *L. monocytogenes* na etapa antes da escaldagem e na água do pré-chiller. A detecção deste patógeno no último ponto citado (APC) é de extrema importância, haja vista que todas as carcaças de frango passam pelo sistema de resfriamento e podem ser contaminadas através da água.

Nas amostras do varejo e ambiente doméstico isolou-se o patógeno em uma amostra em cada etapa, indicando que provavelmente tenha acontecido contaminação cruzada entre os cortes, ainda no frigorífico, no momento do espostejamento (fracionamento em cortes).

L. monocytogenes é uma bactéria patogênica largamente disseminada no ambiente, tendo sido isolada do solo, água, esgotos, vegetação, silagem, fezes humanas e de animais saudáveis (ICMSF, 1996) e, suas características ubíquas, aliadas ao seu caráter psicrótrófico, podem resultar na contaminação de numerosos produtos cárneos durante sua produção e/ou distribuição (FRANCO & LANDGRAF, 2008)

Outros autores também obtiveram presença de *L. monocytogenes* em carcaças de frango durante as etapas de abate, tais como Nalério et al. (2009), Chiarini et al. (2009) e Babalho et al. (2005).

No entanto, diferente do encontrado neste estudo, Barbalho et al. (2005) ao analisarem carcaças de frango em um frigorífico-abatedouro no Nordeste do Brasil, obtiveram incidência de *L. monocytogenes* apenas nas amostras de frangos já embalados, sugerindo que as carcaças tenham sido contaminadas durante ou após o sistema de resfriamento, corroborando com os achados de Miettinen et al. (2001), que analisaram carcaças de frango em um abatedouro na Finlândia.

Chiarini et al. (2009), no Sudeste do Brasil, isolaram *L. monocytogenes* em 20% dos pontos amostrados em um abatedouro com evisceração automática e, em 16,4% dos pontos amostrais em um abatedouro com evisceração mecânica. Na Espanha, López et al. (2008) obtiveram 31% de incidência de *L. monocytogenes* em carcaças de frangos durante as etapas de abate.

Em seu estudo, Svobodová et al. (2012) avaliaram carcaças de frangos durante as etapas do abate de um frigorífico na República Checa. Os autores isolaram 14 cepas de *Listeria* spp. em 12 carcaças, sendo o isolamento mais frequente após as etapas de depenagem e evisceração. Contudo, nenhum dos isolados foi identificado como da espécie *L. monocytogenes*.

Também são realizadas pesquisas com o intuito de identificar a presença deste patógeno em cortes e/ou produtos de frango dispostos à comercialização (YAN, et al., 2010; GOH et al., 2009; NALÉRIO et al., 2009; PÉREZ-RUBIANO et al., 2008; KOZAČINSKI ET AL., 2006). Na região Sul do Brasil, Nalério et al (2009) analisaram 45 amostras de frangos resfriados procedente do comércio e identificaram *L. monocytogenes* em 15 destas (33,3%). Na China, Yan et al. (2010) obtiveram incidência da bactéria em 6,28% (46/733) de produtos de carne crua e na Malásia, Goh et al (2009), isolaram *L. monocytogenes* em 20% dos cortes de frango analisados.

Contudo, na literatura científica são escassos relatos de estudos microbiológicos realizadas em domicílios de consumidores ou que simulem este armazenamento, como neste trabalho. Galarz et al. (2010), ao avaliar o crescimento microbiano em produtos à base de peito de frango durante simulação da cadeia de abastecimento, obtiveram ausência de *L.*

monocytogenes em todas amostras analisadas, diferente dos achados deste estudo.

Os resultados encontrados neste estudo são preocupantes no que se refere a presença de *L. monocytogenes*, haja vista que o patógeno foi isolado em toda a cadeia de frangos, inclusive nas amostras da etapa codificada como ambiente doméstico. Os frangos desta etapa representam os cortes armazenados em refrigeradores convencionais que frequentemente entram em contato com outros alimentos, prontos para consumo ou não, podendo contaminá-los. É importante ressaltar que *L. monocytogenes* é o agente etiológico da listeriose, doença que inclui infecções severas, como septicemias, encefalite, meningite e aborto, com altas taxas de hospitalizações e mortes. Acomete principalmente pessoas idosas, recém-nascidos, gestantes e indivíduos imunocomprometidos, o chamado grupo de risco (PERES et al, 2010; SILVA, 2010)

Com os resultados obtidos foi possível evidenciar problemas relacionados à qualidade microbiológica da cadeia de frangos, o que facilita o direcionamento de ações tanto preventivas como corretivas. Ficou clara também a necessidade de implementação de ações específicas para orientação e conscientização dos consumidores quanto às boas práticas relacionadas ao manejo e armazenamento de alimentos em ambientes domésticos.

4 Conclusões

A partir dos resultados das análises de coliformes totais, conclui-se que houve deficiência higiênica no processamento e armazenamento em toda a cadeia de aves. Para coliformes termotolerantes, observou-se decréscimo da contaminação com o decorrer da cadeia, porém 11% das amostras destinadas ao consumo apresentaram contagens acima do limite estipulado pela legislação brasileira. Foi possível enumerar *E. coli* em todos os pontos avaliados da cadeia de frangos, exceto nas amostras de água da escaldagem e do pré-chiller. As médias de contagens para micro-organismos psicrotróficos e

bactérias do gênero *Pseudomonas* spp. aumentaram consideravelmente nas etapas varejo e ambiente doméstico.

Verificou-se presença de *Salmonella* spp. em todos os pontos amostrados no abatedouro. Nos pontos varejo e ambiente doméstico obteve-se ausência deste patógeno. Isolou-se bactérias do gênero *Listeria* em toda a cadeia de aves, havendo maior incidência de *L. monocytogenes*, observada nas etapas antes da escaldagem e ambiente doméstico.

Com os resultados encontrados tanto na quantificação como na pesquisa da presença de micro-organismos em amostras provenientes de pontos específicos da cadeia de aves da região Sul do Rio Grande do Sul, Brasil, é possível verificar a necessidade de readequação das práticas higiênico-sanitárias em toda a cadeia, sendo necessário direcionar ações para todos os envolvidos inclusive o consumidor final.

5 Referências

ALLEN, C. D.; RUSSELL, S. M.; FLETCHER, D. L. The relationship of broiler breast meat color and pH to shelf life and odor development. **Poultry Science**, v. 76, p. 1042-1046, 1997.

ALMEIDA, P. F. de; SILVA, E. N. Estudos sobre o controle e disseminação bacteriana em carcaças de frangos de abatedouros industriais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 44, n. 2, p. 105-120, 1992.

ÁLVAREZ-ASTORGA, M. ; CAPITA, R.; ALONSO, C. C.; MORENO, B.; GARCIA, M. C. F. Microbiological quality of retail chicken by-products in Spain. **Meat Science**, v. 62, n. 1, p. 45-50, 2002

ANDREW, D.; RON, B. **The microbiology of meat and poultry**. London, Blackie Academic Professional. 1998. 346p.

BARBALHO, T. C. F.; ALMEIDA, P. F.; ALMEIDA, R. C. C.; HOFER, E. Prevalence of *Listeria* spp. at a poultry processing plant in Brazil and a phage test for rapid confirmation of suspect colonies. **Food Control** . v. 16, p 211–216, 2005

BOKANYI, J. P.; STEPHENS, J. F. FOSTER, D. N. Isolation and Characterization of *Salmonella* from Broiler Carcasses or Parts, **Poultry Science**., v. 69, n. 4, 1990, p. 592-598

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RDC n.12, de 2 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos, em seus anexos I e II. **Diário Oficial da União** de 10/01/2001. 1. Brasil. 2001.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE (SVS). **Boletim Eletrônico Epidemiológico**. 2012. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/ano05_n06_ve_dta_brasil.pdf>. Acesso em: 06 de out 2013.

CARVALHO, A. C. F. B., CORTEZ, A.L.L., SALOTTI, B.M. BÜRGER, K.P. VIDAL-MARTINS, A.M.C. Presença de microrganismos mesófilos, psicrotróficos e coliformes em diferentes amostras de produtos avícolas. **Arquivo Instituto Biologia**, São Paulo, v.72, n.3, p.303-307, jul./set., 2005

CARVALHO, A.C.F.B.; CORTEZ, A.L.L. **Salmonella** sp. em carcaças, carne mecanicamente separada, linguiças e cortes comerciais de frango. **Ciência Rural**, v.35, n.6, p.1465-1468, 2005.

CHAMBERS, J. V. The microbiology of raw milk. In: ROBINSON, R. K. *Dairy microbiology handbook: the microbiology of milk and milk products*. 3. ed. New York: John Wiley and Sons, 2002. p. 39-90.

CHIARINI, E.; TYLER, K.; FARBER, J. M.; PAGOTTO, F.; DESTRO, M. *Listeria monocytogenes* in two different poultry facilities: Manual and automatic evisceration. **Poultry Science**. v. 88, n.4, p 791–797. 2009

COX, N. A; JUVEN, B. J.; THOMSON, J. E.; MERCURI, A. J.; CHEW, V. et al. Spoilage odors in poultry meat produced by pigmented and nonpigmented *Pseudomonas*. **Poultry Science**, v. 54, p. 2001-2006, 1975.

DOWNES, F. P., ITO, H. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. ed. Washington: American Public Health Association (APHA), 2001. 676p.

FRANCO, B. D. G. M; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**, São Paulo. Ed Atheneu, 2008.

GALARZ, L. A.; FONSECA, G. G.; PRETINCE-HERNÁNDEZ, C. Crescimento microbiano em produtos à base de peito de frango durante simulação da cadeia de abastecimento. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 30, n. 4, p 870-877, out.-dez. 2010

GALHARDO, J. A.; LOPES, M; OLIVEIRA, J. T.; TAMANINI, R; SANCHES, S. F.; FREITAS, J. C; MÜLLER, E. E. Eficácia dos tanques de pré-resfriamento na

redução de contaminação bacteriana em carcaças de frango. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 27, n. 4, p. 647-656, out./dez. 2006

GAVA, A. J.; SILVA, C. A. B.; FRIAS, J. R. G. **Tecnologia de Alimentos – Princípios e Aplicações**. NBL Editora, 2009. 551p.

GOH, S. G.; KUAN, C. H.; LOO, Y. Y., CHANG, W. S.; LYE, Y. L.; SOOPNA, P.; TANG, J. Y.; NAKAGUCHI, Y.; NISHIBUCHI, M.; AFSAH-HEJRI, L.; SON, R. *Listeria monocytogenes* in retailed raw chicken meat in Malaysia. **Poultry Science**. v. 91, n. 10, p. 2686-90, Oct. 2012

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS - ICMSF. **Microorganisms in foods: their significance and methods of enumeration**. Toronto: University of Toronto, 1978.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION (ISO). Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* – Part 1: Detection method, International Standard ISO 11290-1, Geneva, Switzerland, 1996.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS. **Microbial ecology of foods commodities**. 2 ed. New York:Kluwer Academic, Plenum Publishers, 2005. 736p.

ISOLAN, L. W. **Estudo da eficiência da etapa de pré-resfriamento por imersão em água no controle da qualidade microbiológica de carcaças de frango**. 2007. 83f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

JAY, J. M. **Microbiologia de Alimentos**. 6 ed. Porto Alegre:Artmed, 2005

KOZAČINSKI, L.; HADŽIOSMANOVIĆ, M; ZDOLEC, N. Microbiological quality of poultry meat on the Croatian market. **Veterinarski Arhiv**. v. 76, p. 305-313, 2006.

LANSINI, V. **Eficiência do TIMSEN® nas etapas de escaldagem e pré-resfriamento em abatedouro de aves**. 102f. 2010. Mestrado (Ciência e Tecnologia Agroindustrial) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

LILLARD, H. S. The impact of commercial processing procedures on the bacterial contamination and crosscontamination of broiler carcasses. **Journal Food Protection**, v.53, n.3, p.202-204, mar. 1990.

LOPES, M; GALHARDO, J. A.; OLIVEIRA, J. T.; TAMANINI, R; SANCHES, S. F.; MULLER, E. E. Pesquisa de *Salmonella* spp. e microrganismos indicadores

em carcaças de frango e água de tanques de pré-resfriamento em abatedouro de aves. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 28, n. 3, p. 465-476, 2007.

LÓPEZ, V.; ORTIZ, S.; CORUJO, A.; LÓPEZ, P.; POZA, D.; NAVAS, J.; MORENO, R.; MARTÍNEZ-SUÁREZ, J. V. Different Contamination Patterns of Lineage I and II Strains of *Listeria monocytogenes* in a Spanish Broiler Abattoir. **Poultry Science**, v.87, n.9, p.1874-82, 2008

MEHYAR, G.; BLANK, G.; HAN, J. H.; HYDAMAKA, A.; HOLLEY, R. A. Effectiveness of trisodium phosphate, lactic acid and commercial antimicrobials against pathogenic bacteria on chicken skin. **Food Protection Trends**, v. 25, p. 351-362, 2005.

MIETTINEN, M. K., PALMU, L., BJORKROTH, K. J., & KORKEALA, H. Prevalence of *Listeria monocytogenes* in broilers at the abattoir, processing plant, retail level. **Journal of Food Protection**, 64, 994–999. 2001

MIYAGUSKU, L.; CHEN, F.; LEITÃO, M. F. de F.; BAFFA, O. Avaliação microbiológica e sensorial da vida útil de cortes de peito de frango irradiados. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 23, dez. 2003.

MOURA FILHO, L. G. M.; BEZERRA, S.S.; BARROS, C. G., MELO, H. M. G.; MENDES, E. S. Perfil microbiológico da carne de frangos abatidos artesanalmente e na indústria, comercializados na grande Recife-PE. **Medicina Veterinária**, v.4, n.1, p.12-17, jan/mar, 2010

MUNMANN L.; DILKIN P.; KOWALSKI H C.; ALMEIDA A C.; MALLMANN A C.; Temperaturas de conservadores a frio em estabelecimentos que comercializam Alimentos. **Revista Higiene Alimentar**, v.36, n.2, p.558-572, mar./abr.2006.

NALÉRIO, E. S.; ARAÚJO, M. R. de; MENDONÇA, K. S.; BASSANI, M. T. SILVA, W. P. da. *Listeria monocytogenes*: monitoramento desse perigo biológico na cadeia produtiva de frangos do sul do Rio Grande do Sul. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, n.3, p. 626-630, 2009

NORTHCUTT, J. K.; BERRANG, M. E.; DICKENS, J. A.; FLETCHER, D. L.; COX, N. A. Effect of broiler age, feed withdrawal, and transportation on levels of coliforms, *Campylobacter*, *Escherichia coli* and *Salmonella* on carcasses before and after immersion chilling. **Poultry Science**, v. 82, n. 1, p. 169-173, 2003.

OLIVIER, M.; VEARY, C. M.; CLOETE, T. E.; VON HOLY, A. Microbiological status of selected chicken carcasses from a non-automated poultry processing plant. **Journal of Basic Microbiology**. v 36, n 1, p, 41–49,1996

PENTEADO, F. R.; ESMERINO, L. A. Avaliação da qualidade microbiológica da carne de frango comercializada no município de Ponta Grossa – Paraná.

Publicativo UEPG: Ciências Biológicas e da Saúde. Ponta Grossa, v.17, n.1, p. 37-45, jan./jun. 2011

PERES, N.D.; LANGE, C.C.; BRITO, M.A.V.P.; ARCURI, E.F.; CERQUEIRA, M.M.O.P. Detecção de *Listeria monocytogenes* pela técnica de PCR em leite contaminado artificialmente. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.62, n.4, p.973-979, 2010

PÉRES-RUBIANO, C.; MERCADO-REYES, M. CARRASCAL-CAMACHO, A. K. Incidencia de *Listeria* spp. en carcasas de pollo congelado en un supermercado del nororiente de Bogotá. **NOVA - Publicación Científica EN Ciencias Biomédicas** . v..6, n. 10, p. 101-236, 2008

RODRIGUES, A. C. A.; PINTO, P. S. A.; VANETTI, M. C. D.; BELIVACQUA, P D.; SOUZA, M. P. NERO, L. A. Análise e monitoramento de pontos críticos no abate de frangos utilizando indicadores microbiológicos. **Ciência Rural**, v.38, n.7, p.1948-1953, 2008

ROSSA, L. S.; STAHLKE, E. V. R.; DIEZ, D. C.; WEBER, S. H.; STERTZ, S. C.; MACEDO, R. E. F. Resistência antimicrobiana e ocorrência de micro-organismos patogênicos e indicadores em frangos orgânicos e convencionais: estudo comparativo. **Biotemas**, v, 26, n. 3, p. 211-220, 2013.

SILVA, A. C. M. **A influência do tempo de refrigeração na virulência inicial de *Listeria monocytogenes*.** 2010. 73f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Alimentar – Qualidade e Segurança Alimentar) Universidade Tecnica de Lisboa, Lisboa.

SILVA, N; JUNQUEIRA, V; SILVEIRA, N; **Manual de métodos de análise microbiológicas de alimentos.** Varela, 2010.

SCHERER FILHO, M. W. **Análise dos fatores que influenciam na condenação de carcaças inteiras de frango (Griller).** 2009. 53f. Monografia (Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

SCHLUNDT, J. New directions in foodborne disease prevention. **Internation Journal of Food Microbiology**, v. 78, n.1/2, p. 3-17, 2002.

SVOBODOVÁ, I.; BOŘILOVÁ, G.; HULÁNKOVÁ R.; STEINHAUSEROVÁ, I. Microbiological quality of broiler carcasses during slaughter processing. **Acta Veterinaria Brno**, v. 81, p. 037–042, 2012.

TORTORA, G. J. et al. **Microbiologia.** 8.ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

THOMAS, C.J.; McMEEKIN, T.A. Effect of water immersion on the microtopography of the skin of chicken carcasses. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.33, p.549-554, 1982.

VAILLANT, V.; DE VALK, H.; BARON, E.; ANCELLE, T.; COLIN, P.; DELMAS, M. C.; DUFOUR, B.; POUILLLOT, R.; LE STRAT, Y.; WEINBRECK, P.; JOUGLA, E.; DESENCLOS, J. C. Foodborne infections in France. **Foodborne Pathogens and Disease**, v.2, p.221-232, 2005.

UNIÃO BRASILEIRA DE AVICULTURA – UBABEF. **Realetório Anual, 2013**. Disponível em: < <http://www.ubabef.com.br/publicacoes>>. Acesso em: 19 set 2013.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. FOOD SAFETY AND INSPECTION SERVICE. **Microbiology Laboratory Guidebook**. Outubro, 2004.

YAN, H.; NEOGI, S. B.; MO, Z.; GUAN, W.; SHEN, Z.; ZHANG, S.; LI, L.; YAMASAKI, S.; SHI, .L; ZHONG, N. Prevalence and characterization of antimicrobial resistance of foodborne *Listeria monocytogenes* isolates in Hebei province of Northern China, 2005–2007. **International Journal of Food Microbiology**. v.144, n.2, pp.310-316. 2010

VON RÜCKERT, D.A.S.; PINTO, P.S.A.; SANTOS, B.M.; MOREIRA, M.A.S.; RODRIGUES, A.C.A. Pontos críticos de controle de *Salmonella* spp. no abate de frangos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.61, n.2, p.326-330, 2009.

Artigo a ser submetido à Revista Ciência Rural: Qualidade microbiológica de cortes de frango de diferentes marcas comercializadas na região Sul do Rio Grande do Sul, Brasil.

Denise Oliveira Pacheco, Larissa Sá Britto Castro, Fatiele Bonow, Lenon Bauer Medeiros, Karen Damasceno de Souza, Elizabete Helbig, Eliezer Ávila Gandra

RESUMO

Considerando o elevado consumo da carne de frango no contexto nacional a constante preocupação dos consumidores em adquirir alimentos adequados microbiologicamente, este trabalho teve por objetivo avaliar a qualidade microbiológica de cortes de frango de três diferentes marcas comercializados na cidade de Pelotas – RS. Foram adquiridas 38 amostras (18 amostras da marca A e 10 de cada marca, B e C) em supermercados da cidade de Pelotas - RS. Foram selecionadas três marcas distintas de frigoríficos localizados no estado do Rio Grande do Sul, codificadas como “A”, “B” e “C”. A qualidade microbiológica foi avaliada através das análises de coliformes termotolerantes, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes*. Na análise de coliformes termotolerantes, verificou-se para as marcas A e B que 30% das amostras de cada marca estavam com concentrações bacterianas acima do limite máximo estipulado pela legislação brasileira, que preconiza 10^4 NMP.g⁻¹ e para os cortes da marca C, 5,6% das amostras estavam acima do limite, com valores entre $<3,0$ e 1×10^5 NMP.g⁻¹, $<3,0$ e $1,9 \times 10^5$ NMP.g⁻¹, $3,9$ e $1,4 \times 10^7$ NMP.g⁻¹, respectivamente para as três marcas. No que diz respeito à análise de *E. coli*, 16,7% das amostras de frango da marca C apresentaram contaminação por esta bactéria, com valores entre 0,6 e 1,66 NMP.g⁻¹, enquanto que nas demais marcas não foi encontrada contaminação por este micro-organismo. Em nenhuma das três marcas foi detectada presença de *Salmonella* spp., no entanto, foi verificada presença de *Listeria monocytogenes* em uma amostra (5,6%) e de *Listeria ivanovii* em uma amostra (5,6%) de cortes de frangos da marca C. Os cortes das marcas avaliadas apresentaram inadequações ao consumo, seja pela elevada contagem de coliformes termotolerantes ou pela presença de patógenos, como *E. coli* e bactérias do gênero *Listeria* spp.

Palavras-chave: aves, coliformes termotolerante, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp.,
Listeria monocytogenes

INTRODUÇÃO

A carne de frango e os seus derivados são alimentos com consumo crescente em nível mundial, em virtude do seu preço altamente competitivo, causado principalmente por baixos custos de produção (SANTOS, 2009).

O Brasil manteve a posição de maior exportador mundial e de terceiro maior produtor de carne de frango, atrás dos Estados Unidos e da China (UBABEF, 2013). Em 2012, do volume total de frangos produzido pelo país, 69% foi destinado ao consumo interno, e 31% para exportações. Com isto, o consumo per capita de carne de frango atingiu 45 quilos por pessoa, em 2012 (MAPA, 2013; UBABEF, 2013).

Devido à composição rica em nutrientes, à atividade de água elevada e ao pH próximo à neutralidade a carne de frango é um alimento muito suscetível à deterioração microbiológica (SILVA, 2010). Fatores favoráveis ao desenvolvimento de micro-organismos podem ser oriundos da própria ave ou de fontes externas. Por essas razões, além de processada, a carne de frango deve ser mantida sob refrigeração ou congelamento (SILVA et al., 2002; GALHARDO et al., 2006).

Quando se considera a qualidade microbiológica de carnes, frequentemente se utiliza a pesquisa de alguns micro-organismos tais como coliformes termotolerantes e *Escherichia coli*, indicadores de contaminação fecal, *Salmonella* spp., responsável por graves intoxicações alimentares e *Listeria monocytogenes*, agente causador de Listeriose (SILVA, 2002; JAY, 2005).

Em relação a carne de frangos, a legislação brasileira estabelece tolerância máxima para coliformes termotolerantes, em carcaças inteiras, fracionadas ou em

1 cortes, de até 10^4 NMP.g⁻¹ (BRASIL, 2001). De acordo com ISOLAN (2007), bactérias
2 deste grupo, mais especificamente *Escherichia coli*, podem estar presentes em carcaças
3 de frango e sua análise é realizada para avaliar contaminação por micro-organismos
4 patogênicos intestinais, já que certas linhagens desta espécie produzem toxinas que
5 ocasionalmente causam doenças graves de origem alimentar (TORTORA, 2005).

6 A contaminação por bactérias do gênero *Salmonella* pode ser oriunda do próprio
7 ambiente, dos manipuladores, além da contaminação cruzada de outras aves (TESSARI,
8 2008). Inúmeros surtos de infecção alimentar por *Salmonella* spp. são conhecidos,
9 envolvendo os mais variados tipos de alimentos, principalmente os de origem animal
10 (BRASIL, 2013; JAY, 2005). Dados publicados nos Estados Unidos, Canadá e Japão
11 indicam que os relatos de ocorrência de salmonelose de origem alimentar aumentam a
12 cada ano, enquanto que na Inglaterra e países vizinhos 90% dos casos são causados pela
13 referida bactéria (FRANCO, LANDGRAF, 2008).

14 Dentre os micro-organismos de importância em carnes de aves destaca-se
15 também *Listeria monocytogenes*. Esta bactéria é agente etiológico da listeriose, doença
16 grave que possui elevada taxa de mortalidade (entre 20% e 30% para grupos de risco).
17 Devido a esse alto índice, a listeriose ocupa o segundo lugar no ranking das causas mais
18 frequentes de morte por consumo de alimentos contaminados (VAILLANT et al.,
19 2005).

20 Segundo dados disponíveis pelo Center for Disease Control and Prevention -
21 CDC (2013), *L. monocytogenes* provoca em média 1.600 casos de listeriose por ano nos
22 Estados Unidos. Na Europa, a incidência de listeriose também tem aumentado desde o
23 ano 2000, sendo indivíduos com mais de 65 anos os mais frequentemente envolvidos
24 em casos da doença (ALLERBERGER; WAGNER, 2010).

Diante do exposto objetivou-se neste estudo avaliar e comparar a qualidade microbiológica de cortes de frango de três diferentes marcas comercializados na região Sul do Rio Grande do Sul, Brasil.

MATERIAL E MÉTODOS

COLETA E AMOSTRAGEM

Foram obtidas 18 amostras (de cortes coxa e sobrecoxa em bandejas) da primeira marca selecionada. Em seguida, mais 20 amostras de cortes foram adquiridas de outras duas marcas selecionadas, sendo 10 de cada marca, totalizando 38 amostras de cortes de frango (coxa e sobrecoxa) de 3 marcas distintas de frigoríficos abatedouros localizados no estado do Rio Grande do Sul. Os cortes foram adquiridos em supermercados da região, no mesmo dia em que chegavam aos estabelecimentos.

A amostragem foi realizada pela técnica de lavagem, através da imersão dos cortes em saco estéril contendo 225 mL de solução salina 0,85% estéril, por 20 segundos (SILVA et al., 2012).

ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

As análises foram realizadas seguindo os procedimentos propostos pela *American Public Health Association* (APHA) (DOWNES & ITO, 2001). As amostras foram submetidas a diluições seriadas até a diluição 10^{-6} .

Para a enumeração de coliformes termotolerantes foi utilizada a técnica do Número Mais Provável (NMP). A análise presuntiva de coliformes foi realizada em Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST), com incubação a 35°C por 48 horas. A enumeração de coliformes termotolerantes foi realizada em Caldo *Escherichia coli* – EC, com incubação a 45,5°C por 48 horas. O resultado foi expresso em NMP.g⁻¹.

A quantificação de *Escherichia coli* foi realizada pela técnica do Número Mais Provável a partir da semeadura dos tubos positivos de EC em placas com meio de cultura Eosin Methylene Blue Agar (EMB), incubadas a 37°C por 24 horas. As colônias com morfologia característica foram identificadas como *E. coli* através dos testes de produção de indol, reações de vermelho de metila e Voges-Proskauer, e utilização de citrato.

Para o isolamento de *Salmonella* spp. foi realizado pré-enriquecimento em água peptonada tamponada a 37°C por 24 horas, e enriquecimento seletivo em Caldo Rappaport-Vassiliadis a 42°C por 24 horas e Caldo Tetracionato, a 37°C por 24 horas. Em seguida foi feito semeadura em placas com ágar Desoxicolato-lisina-xilose (XLD) e Hektoen-enteric (HE), sendo ambos incubados por 24h a 37°C. Colônias com morfologia típica de *Salmonella* spp. foram submetidas à identificação bioquímica em Ágar Tríplice Ferro, Ágar Lisina Ferro e Ágar Urease, a 37°C por 24 horas. As amostras que apresentarem reações bioquímicas características foram submetidas à identificação sorológica, utilizando-se os soros polivalentes anti-salmonella somático e flagelar.

A pesquisa de *L. monocytogenes* foi realizada conforme a metodologia preconizada pelo *International Organization for Standardization*, ISO 11.290-1 – *Detection method* (ISO, 1996), com modificações. A etapa de pré-enriquecimento foi realizada em Caldo Enriquecimento Listeria (LEB), com incubação a 30°C por 24 horas, seguida da incubação de uma alíquota em caldo Fraser (adicionado de suplemento SR 0156E Oxoid®) a 35°C por 48 horas. Após, foi realizada semeadura nos ágar Oxford (adicionado de suplemento SR 0140E Oxoid®) e Palcam (adicionado de suplemento SR 0150E Oxoid®) a 35°C por 48 horas. Os isolados purificados foram submetidos a testes fenotípicos de motilidade, fermentação de carboidratos (dextrose, xilose, ramnose e manitol) e presença de catalase e de β -hemolisina.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos nas quantificações de coliformes termotolerantes e *Escherichia coli* foram submetidos à análise de variância seguida pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$), utilizando o software STATISTICA 7 (2004).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Fig. 1 pode-se verificar as concentrações médias de coliformes termotolerantes e *Escherichia coli* nas amostras de frango de três marcas distintas comercializadas região Sul do Rio Grande do Sul, Brasil.

Em relação à enumeração de coliformes termotolerantes, pode-se observar que não houver diferenças significativas ($p > 0,05$) entre as amostras de frango das marcas analisadas (Fig.1). No entanto, pode-se verificar nos resultados expostos na Tabela 1 que os frangos das marcas A e B foram os que apresentaram maior número de amostras (30% para ambas as marcas) acima do limite máximo estipulado pela legislação brasileira, de 10^4 NMP.g⁻¹ (BRASIL, 2001), seguido pelas amostras de frango da marca C (5,6%). Apesar de apresentar apenas 5,6% das amostras com contagens acima do limite estipulado pela legislação, os cortes de frango da marca C apresentaram o maior valor individual por amostra, atingindo $1,4 \times 10^7$ NMP.g⁻¹.

Verificou-se que as concentrações de *E. coli* presentes nas amostras não diferiram significativamente entre as marcas avaliadas (Fig. 1), no entanto, 3 (16,7%) amostras de frango da marca C apresentaram contaminação por esta bactéria enquanto nas outras marcas o patógeno não foi encontrado (Tabela 1)

Não foi verificada presença de *Salmonella* spp. em nenhum corte das três marcas analisadas, no entanto, isolou-se *Listeria monocytogenes* em uma (5,6%) amostra e

Listeria ivanovii também em uma (5,6%) amostra, ambas em cortes de frangos da marca C (tab. 2)

Outros autores também avaliaram a qualidade microbiológica de cortes de frango. MOURA FILHO et al. (2010), na cidade de Recife, obtiveram média de contaminação por coliformes termotolerantes inferior à obtida neste trabalho, no entanto, a incidência de amostras acima do limite estipulado pela legislação obtida pelos autores foi superior, de 41%. Em São Paulo, CARDOSO et al. (2009) ao avaliarem a qualidade microbiológica de cortes de peito de frangos, encontraram 54% das amostras com valores de contaminação acima de 10^4 NMP.g⁻¹, limite máximo preconizado pela legislação brasileira.

Os resultados encontrados neste estudo, somados aos verificados nos trabalhos de MOURA FILHO et al. (2010) e de CARDOSO et al. (2009), considerando que tratam-se de estudos em três regiões distintas do Brasil (sul, nordeste e sudeste), denotam um situação preocupante em relação às condições higiênico-sanitárias de cortes de frango comercializados no Brasil, indicando a necessidade de adequação das práticas higiênicas na cadeia de frangos no país, assim como de buscar metodologias mais eficazes para controle microbiano.

Nas contagens de *E. coli*, os resultados obtidos neste estudo foram inferiores aos achados por outros autores (ÁLVAREZ-ASTORGA et al., 2002; MIYAGUSKI et al., 2003; ROSSA et al, 2013), ainda assim, mesmo em baixa concentração, os resultados verificados para *E. coli*, mostram uma situação que exige atenção, já que esta bactéria pode causar doenças graves de origem alimentar pela invasão de células intestinais e/ou pela produção de toxinas (TORTORA, 2005).

Em relação à enumeração de *E. coli* e a pesquisa de *Salmonella* spp., os resultados verificados neste estudo se diferenciaram dos encontrados por outros autores

que encontram concentrações bacterianas superiores (ÁLVAREZ-ASTORGA et al., 2002, MIYAGUSKI et al., 2003, ROSSA et al., 2013, CARVALHO e CORTEZ, 2005, CONCEIÇÃO et al., 2005, KOZAČINSKI et al, 2006,. MAYRHOFER et al., 2004, ANTUNES et al., 2003). ÁLVAREZ-ASTORGA et al. (2002), na Espanha, quantificaram *E.coli* em cortes de frangos e obtiveram médias de contaminação entre 2,6 e 4,3 log UFC.g⁻¹. Na cidade de Campinas/SP – BR, MIYAGUSKI et al (2003) enumeraram *E. coli* em peitos de frangos, obtendo média de contaminação de 2,1 log UFC.g⁻¹. ROSSA et al (2013), ao comparar a qualidade microbiológica de frangos orgânicos e convencionais do Sul e Sudeste do Brasil, obtiveram médias de contaminação por *E. coli* maiores para os frangos orgânicos em comparação aos convencionais, de 6,2 e 3,8 log UFC.g⁻¹, respectivamente.

Não foi observada contaminação dos cortes de frangos por bactérias do gênero *Salmonella* (tab.2) indicando adequação das amostras analisadas em relação a este micro-organismo. No entanto, a presença desta bactéria em carne de aves e seus derivados tem sido relatada em várias pesquisas. CARVALHO e CORTEZ (2005) analisaram cortes de frangos da região noroeste do estado de São Paulo e obtiveram presença de *Salmonella* spp. em 20% dos cortes de coxa e sobrecoxa. CONCEIÇÃO et al. (2005), em um estudo realizado na cidade de Pelotas/RS, obtiveram incidência de *Salmonella* spp. em 16,6% das amostras de coxa e sobrecoxa de frangos analisadas.

Em um estudo realizado na Croácia os autores encontraram presença de *Salmonella* spp. em 10% das amostras de cortes de frangos adquiridos em estabelecimentos varejistas (KOZAČINSKI et al, 2006). MAYRHOFER et al. (2004) identificaram *Salmonella* em 16,4% de 281 amostras de carne de frango analisadas na Áustria. ANTUNES et al. (2003) isolaram *Salmonella* de 36 (60%) amostras de produtos de frango de um total de 60 coletadas na cidade de Porto, Portugal.

Diferente dos achados deste estudo para *L. monocytogenes*, GALARZ et al. (2010) obtiveram ausência deste patógeno em amostras de peito de frango, avaliados durante 21 dias de armazenamento a 4°C. GOH et al. (2012), na Malásia, ao analisar cortes de frango obtiveram a presença de *L. monocytogenes* em 20% das amostras. KOZACŃINSKI et al. (2006), na Croácia, avaliaram a incidência da bactéria em cortes de peito, obtidos do varejo e obtiveram 3,03% de presença do patógeno.

Apesar de *L. monocytogenes* ser a principal causa de listeriose em humanos, alguns estudos tem mostrado que *L. ivanovii* também pode causar a doença em pacientes imunocomprometidos (ELISCHEROVA et al., 1990; CUMMINS et al., 1994; LECUIT et al., 1999; GUILLET et al., 2007). Contudo, ainda são escassos na literatura pesquisas que estudem a presença desta bactéria em alimentos. Guillet et al (2007) reportaram que em seu estudo o paciente diagnosticado com *L. ivanovii* relatou ter comido queijo de cabra produzido com leite cru, no entanto, nenhuma amostra deste queijo estava disponível para análise. NYENJE et al (2012) isolaram *L. ivanovii* em amostras de alimentos prontos para o consumo, na África do Sul.

A multiplicação de bactérias do gênero *Listeria* spp. em carne de frango é favorecida pela pressão seletiva exercida pela temperatura de estocagem destes produtos, aliada a outros fatores intrínsecos da carne tais como atividade de água e valores de pH adequados ao crescimento microbiano (FRANCO, LANDGRAF, 2008; SILVA et al., 2002). Embora esses alimentos sofram tratamento térmico antes do consumo, e bactérias deste gênero sejam destruídas pelo aquecimento adequado, sua manipulação nos restaurantes e domicílios pode ser uma importante fonte de contaminação cruzada desse patógeno para alimentos prontos para o consumo (HUSS et al., 2000).

CONCLUSÃO

Com os resultados percebe-se a necessidade de maior atenção e readequação aos programas de autocontrole ainda no frigorífico, além disso, fica evidente a importância da manutenção da cadeia do frio nos estabelecimentos comercializadores destes alimentos, haja vista a necessidade em conter o desenvolvimento e a multiplicação dos micro-organismos advindos do processamento.

REFERÊNCIAS

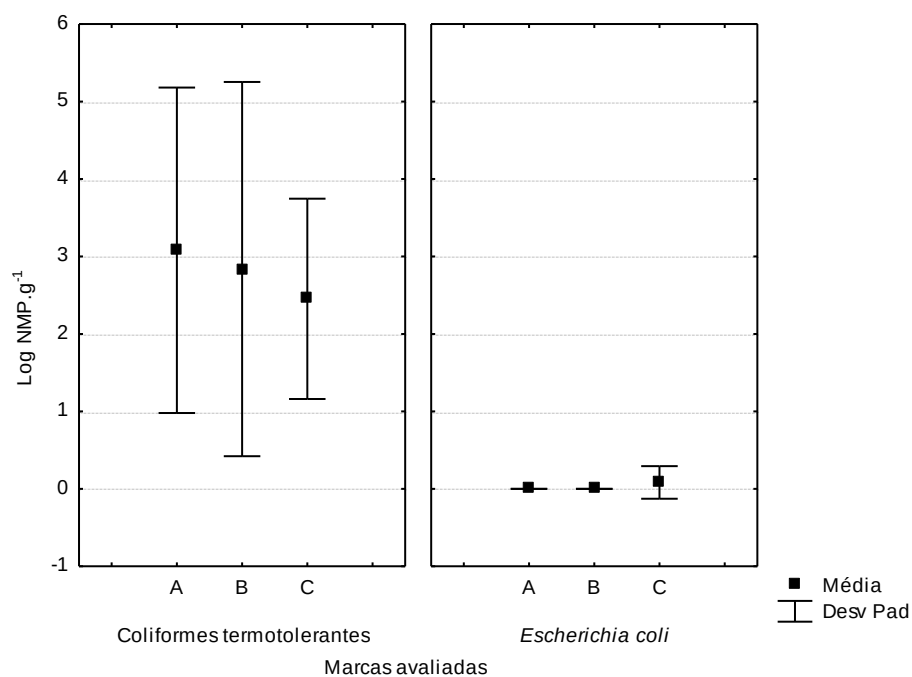
- ALLERBERGER, F.; WAGNER, M. Listeriosis: a resurgent foodborne infection. *Clinical Microbiology Infection*, v.16, p.16-23, 2010.
- ÁLVAREZ-ASTORGA, M. ; CAPITA, R.; ALONSO, C. C.; MORENO, B.; GARCIA, M. C. F. Microbiological quality of retail chicken by-products in Spain. **Meat Science**, v. 62, n. 1, p. 45-50, 2002
- ANTUNES, P.; RÉU, C.; SOUSA, J. C.; PEIXE, L.; PESTANA, N. Incidence of *Salmonella* from poultry products and their susceptibility to antimicrobial agents. *International Journal of Food Microbiology*. v. 82, p. 97-103, 2003.
- BRASIL. Resolução RDC nº 12 de 02 de janeiro de 2001. Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **DOU**. Brasília. 2001
- BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Dados Epidemiológicos – DTAs, período de 2000 a 2011. Disponível em:<http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/dados_dta_periodo_2000_2011_site.pdf>. Acesso em: 19 set 2013.
- CARDOSO et al. Pesquisa de Salmonella e coliformes termotolerantes em cortes de frango obtidos no comércio de Botucatu/SP. **Revista Higiene Alimentar**. v. 23, p. 165-168, 2009.

- 1 CARVALHO, A.C.F.B.; CORTEZ, A.L.L. *Salmonella* sp. em carcaças, carne
2 mecanicamente separada, lingüiças e cortes comerciais de frango. **Ciência Rural**, v.35,
3 n.6, p.1465-1468, 2005.
- 4 CONCEIÇÃO, R. C. S; HENTGES, A.; VASCONCELOS, A. N.; ANGELO, I. M. R.;
5 CARVALHAL, J. B.; ALEIXO, J. A. G.; TIMM, C. D. Isolamento de *Salmonella* de
6 produtos de frango e perfil de suscetibilidade dos isolados a antimicrobianos. **Revista**
7 **Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, n.1, p. 31-34, 2007.
- 8 CUMMINS, A. J.; FIELDING, A. K.; MCLAUCHLIN, J. *Listeria ivanovii* infection in
9 a patient with AIDS. *Journal of Infection*. v. 28, p. 89–91, 1994
- 10 DOWNES, F. P., ITO, H. Compendium of methods for the microbiological examination
11 of foods. ed. Washington: American Public Health Association (APHA), 2001. 676p.
- 12 DISEASE CONTROL AND PREVENTION – CDC. **Listeria (Listeriosis)**. Disponível
13 em: <<http://www.cdc.gov/spanish/listeria/statistics.html>>. Acesso em: 19/09/2013
- 14 ELISCHEROVA, K.; CUPKOVA, E.; URGEOVA, E.; LYSY, J.; SESEVICKOVA, A.
15 Isolation of *Listeria ivanovii* in Slovakia [in Slovak]. **Cesk Epidemiol Mikrobiol**
16 **Imunol**. v. 39, p. 228–36. 1990
- 17 FRANCO, B. D. G. M; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**, São Paulo. Ed
18 Atheneu, 2008..
- 19 GALARZ, L. A.; FONSECA, G. G.; PRETINCE-HERNÁNDEZ, C. Crescimento
20 microbiano em produtos à base de peito de frango durante simulação da cadeia de
21 abastecimento. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 30, n. 4, p 870-877,
22 out.-dez. 2010
- 23 GALHARDO, J. A.; LOPES, M; OLIVEIRA, J. T.; TAMANINI, R; SANCHES, S. F.;
24 FREITAS, J. C; MÜLLER, E. E. Eficácia dos tanques de pré-resfriamento na redução

- 1 de contaminação bacteriana em carcaças de frango. **Semina: Ciências Agrárias**,
- 2 Londrina, v. 27, n. 4, p. .47-656, out./dez. 2006
- 3 GOH, S. G.; KUAN, C. H.; LOO, Y. Y., CHANG, W. S.; LYE, Y. L.; SOOPNA,
- 4 P.; TANG, J. Y.; NAKAGUCHI, Y.; NISHIBUCHI, M.; AFSAH-HEJRI, L.; SON, R.
- 5 *Listeria monocytogenes* in retailed raw chicken meat in Malaysia. **Poultry Science**. v.
- 6 91, n. 10, p. 2686-90, Oct. 2012
- 7 HUSS, H. H.; JORGENSEN, L. V.; VOGEL, B. F. Control options for *Listeria*
- 8 *monocytogenes* in seafoods. **International Journal of Food Microbiology**, v. 62, n. 3,
- 9 p. 267-274, 2000.
- 10 INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION (ISO).
- 11 Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection
- 12 and enumeration of *Listeria monocytogenes* – Part 1: Detection method, International
- 13 Standard ISO 11290-1, Geneva, Switzerland, 1996.
- 14 ISOLAN, L. W. Estudo da eficiência da etapa de pré-resfriamento por imersão em água
- 15 no controle da qualidade microbiológica de carcaças de frango. 2007. 83f. Dissertação
- 16 (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Faculdade de Veterinária, Universidade Federal
- 17 do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- 18 JAY, J. M. Microbiologia de Alimentos. 6 ed. Porto Alegre:Artmed, 2005
- 19 KOZAČINSKI, L.; HADŽIOSMANOVIĆ, M; ZDOLEC, N. Microbiological quality of
- 20 poultry meat on the Croatian market. **Veterinarski Arhiv**. v. 76, p. 305-313, 2006.
- 21 LECUIT, M.; DRAMSI, S.; GOTTARDI, C.; FEDORCHAIKEN, M.; GUMBINER, B;
- 22 COSSART, P. A single amino acid in E-cadherin responsible for host specificity
- 23 towards the human pathogen *Listeria monocytogenes*. *EMBO Journal*. v. 18. p. 3956–
- 24 63, 1999.

- 1 MATHEUS, D.P.; RUDGE, A.C.; GOMES, S.M.M. Ocorrência de *Salmonella* spp em
- 2 carne de frango comercializada no município de Bauru, SP, Brasil. **Revista Instituto**
- 3 **Adolfo Lutz**, v. 62, v. 2, p.111 - 115, 2003.
- 4 MAYRHOFER, S.; PAULSEN, P.; SMULDERS, F. J. M.; HILBERT, F. Antimicrobial
- 5 resistance profile of five major food-borne pathogens isolated from beef, pork and
- 6 poultry. **International Journal of Food Microbiology**. v. 97, p.23-29. 2004.
- 7 MIYAGUSKU, L.; CHEN, F; LEITÃO, M. F. de F.; BAFFA, O. Avaliação
- 8 microbiológica e sensorial da vida útil de cortes de peito de frango irradiados. **Ciência e**
- 9 **Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 23, dez. 2003.
- 10 MOURA FILHO, L. G. M; BEZERRA, S.S.; BARROS, C. G., MELO, H. M. G.;
- 11 MENDES, E. S. Perfil microbiológico da carne de frangos abatidos artesanalmente e na
- 12 indústria, comercializados na grande Recife-PE. **Medicina Veterinária**, v.4, n.1, p.12-
- 13 17, jan/mar, 2010
- 14 NYENJE, M.; TANIH, N.; GREEN, E.; NDIP, R. N. Current Status of Antibigrams of
- 15 *Listeria ivanovii* and *Enterobacter cloacae* Isolated from Ready-To-Eat Foods in
- 16 Alice, South Africa. **International Journal of Environmental Research and Public**
- 17 **Health**. v. 9, n. 9. p 3101-3114. 2012
- 18 PIRES, D. S. L.; PACHECO, M. S.; ROLIM, M. B. Q.; SANTANA, A. L.; MOURA,
- 19 A. P. B. L. Pesquisa de *Salmonella* spp. e coliformes termotolerantes em carcaças de
- 20 frangos *in natura* comercializados no Distrito Sanitário V da Cidade do Recife – PE.
- 21 **Medicina Veterinária**, Recife, v.3, n.1, p.31-36, jan-mar, 2009
- 22 ROSSA, L. S.; STAHLKE, E. V. R.; DIEZ, D. C.; WEBER, S. H.; STERTZ, S. C.;
- 23 MACEDO, R. E. F. Resistência antimicrobiana e ocorrência de micro-organismos
- 24 patogênicos e indicadores em frangos orgânicos e convencionais: estudo comparativo.
- 25 **Biotemas**, v, 26, n. 3, p. 211-220, 2013.

- 1 SANTOS, J. S. **Avaliação da qualidade microbiológica de carnes de frango**
2 **comercializadas na cidade de Aracaju – SE.** 2009. 41f. Monografia (Especialização
3 em Gestão da Qualidade Vigilância Sanitária em Alimentos) Universidade Federal
4 Rural do Semi-Árido – UFERSA, Recife.
- 5 SILVA, J. A.; AZERÊDO, G. A.; BARROS, C. M. R.; COSTA, E. L.; FALCÃO, M.
6 M. S. Incidência de bactérias patogênicas em carne de frango refrigerada. **Revista**
7 **Higiene Alimentar**, v.16, n.100, p.97-101, 2002.
- 8 STATISTICA. StatSoft, Inc. 2004. (data analysis software system), version 7.
9 Disponível em: <www.statsoft.com>.
- 10 TESSARI, E. N. C; CARDOSO, A. L. P.; KANASHIRO, A. M. I.; STOPPA, G. F. Z.;
11 LUCIANO, R. L.; CASTRO, A. G. M. Ocorrência de *Salmonella* spp. em carcaças de
12 frangos industrialmente processadas, procedentes de explorações industriais do Estado
13 de São Paulo, Brasil. **Rev Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, n.9, p 2557--2560, 2008.
- 14 TORTORA, G. J. et al. **Microbiologia**. 8.ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.
- 15 UNIÃO BRASILEIRA DE AVICULTURA – UBABEF. **Realetório Anual, 2013.**
16 Disponível em: < <http://www.ubabef.com.br/publicacoes>>. Acesso em: 19 set 2013.
- 17 VAILLANT, V.; DE VALK, H.; BARON, E.; ANCELLE, T.; COLIN, P.; DELMAS,
18 M. C.; DUFOUR, B.; POUILLOT, R.; LE STRAT, Y.; WEINBRECK, P.; JOUGLA,
19 E.; DESENCLOS, J. C. Foodborne infections in France. **Foodborne Pathogens and**
20 **Disease**, v.2, p.221-232, 2005.



As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si ($p < 0,05$).

Figura 1 - Médias das concentrações de coliformes termotolerantes e *Escherichia coli* em cortes de frangos de três marcas distintas comercializadas na região Sul do Rio Grande do Sul, Brasil.

- 1 Tabela 1 - Enumeração de coliformes termotolerantes e *Escherichia coli* em cortes de
 2 frangos de três marcas distintas comercializadas na região Sul do Rio Grande do Sul,
 3 Brasil.

Amostra	Coliformes termotolerantes	<i>Escherichia coli</i>
	NMP.g ⁻¹	NMP.g ⁻¹
A1	2,5x10 ³	<3,0
A2	1,2x10 ³	<3,0
A3	3,8x10 ³	<3,0
A4	<3,0	<3,0
A5	<3,0	<3,0
A6	1x10 ⁵	<3,0
A7	9,5x10 ³	<3,0
A8	<3,0	<3,0
A9	1x10 ⁵	<3,0
A10	1,1x10 ⁴	<3,0
B1	1,9x10 ⁵	<3,0
B2	3,9x10 ³	<3,0
B3	4,5x10 ⁵	<3,0
B4	3x10 ³	<3,0
B5	3,1x10 ⁴	<3,0
B6	3,8x10 ³	<3,0
B7	<3,0	<3,0
B8	<3,0	<3,0
B9	<3,0	<3,0
B10	<3,0	<3,0
C1	1,2x10 ²	<3,0
C2	3,9	<3,0
C3	1,4x10	<3,0
C4	1,0x10 ²	<3,0
C5	8,7x10	<3,0
C6	4,5x10	<3,0
C7	1,9x10 ²	1,62
C8	1,0x10 ²	1,66
C9	9,5	0,67
C10	1,4x10 ⁷	<3,0
C11	2,6x10	<3,0
C12	8,7x10	<3,0
C13	1x10 ²	<3,0
C14	1x10 ²	<3,0
C15	3,8x10	<3,0
C16	1,0x10 ²	<3,0
C17	6,6x10	<3,0
C18	4,5x10 ²	<3,0

- 1 Tabela 2 – Presença de *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* e *Listeria ivanovii* em
 2 cortes de frangos de três marcas distintas comercializados na região Sul do Rio Grande
 3 do Sul, Brasil.

Amostra	<i>Salmonella</i> spp. (presença/total de amostras)	<i>Listeria monocytogenes</i> (presença/total de amostras)	<i>Listeria ivanovii</i> (presença/total de amostras)
A	0/10	0/10	0/10
B	0/10	0/10	0/10
C	0/18	1/18	1/18

5 Conclusões

Com os resultados obtidos fica evidente a necessidade de readequação das práticas higiênico-sanitárias em toda a produção de carne de frangos, com a readequação dos Programas de Autocontrole no frigorífico-abatedouro, mas principalmente, ficou clara a necessidade de implementação de ações para orientação e conscientização de comerciantes e proprietários dos estabelecimentos de venda destes produtos, no que diz respeito à importância da manutenção da cadeia do frio para esses alimentos, e também dos consumidores, quanto relevância do uso de boas práticas relacionadas ao manejo e armazenamento de alimentos em ambientes domésticos.

6 Referências

ABU-RUWAIDA, A.S.; SAWAYA, W.N.; DASHTI, B.H.; MURAD, M.; AL-OTHMAN, H.A. Microbiological quality of broilers during processing in a modern commercial slaughterhouse in Kuwait. **Journal of Food Protection**, v.57, n.10, p. 887-892, 1994.

ALLERBERGER, F.; WAGNER, M. Listeriosis: a resurgent foodborne infection. **Clinical Microbiology Infection**, v.16, p.16-23, 2010.

ALLEN, C. D.; RUSSELL, S. M.; FLETCHER, D. L. The relationship of broiler breast meat color and pH to shelf life and odor development. **Poultry Science**, v. 76, p. 1042-1046, 1997.

ALMEIDA, P. F. de; SILVA, E. N. Estudos sobre o controle e disseminação bacteriana em carcaças de frangos de abatedouros industriais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 44, n. 2, p. 105-120, 1992.

ANTUNES, P.; RÉU, C.; SOUSA, J. C.; PEIXE, L.; PESTANA, N. Incidence of *Salmonella* from poultry products and their susceptibility to antimicrobial agents. **International Journal of Food Microbiology**. v. 82, p. 97-103, 2003.

ÁLVAREZ-ASTORGA, M. ; CAPITA, R.; ALONSO, C. C.; MORENO, B.; GARCIA, M. C. F. Microbiological quality of retail chicken by-products in Spain. **Meat Science**, v. 62, n. 1, p. 45-50, 2002

ANDREW, D.; RON, B. **The microbiology of meat and poultry**. London, Blackie Academic Professional. 1998. 346p.

AVISITE. Produção de carne de frango. Disponível em: <<http://www.avisite.com.br/economia/index.php?acao=carnefrango>>. Acesso em: 19 maio 2012.

BARBALHO, T. C. F.; ALMEIDA, P. F.; ALMEIDA, R. C. C.; HOFER, E. Prevalence of *Listeria* spp. at a poultry processing plant in Brazil and a phage test for rapid confirmation of suspect colonies. **Food Control** . v. 16, p 211–216, 2005

BOKANYI, J. P.; STEPHENS, J. F. FOSTER, D. N. Isolation and Characterization of *Salmonella* from Broiler Carcasses or Parts, **Poultry Science**., v. 69, n. 4, 1990, p. 592-598

BOULOS, M. E. M. S. Segurança Alimentar: uma preocupação – questão de atualizar e viabilizar informação. **Nutrição em Pauta**, p. 21-23, nov/dez, 1999.

BOPP, C. A; BRENNER, F. W; WELLS, J. G; STROCKBINE, N. *Escherchia coli*, *Shigella* and *Salmonella*. In: MURRAY, P.R.; BARON, E.J.; PFALLER, M.A.; TENOVER, F.C.; YOLKEN, R.H. Manual of Clinical Microbiology. 9a ed. Washington: American Society for Microbiology, 2003. Cap. 28, p 459-474.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RDC n.12, de 2 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos, em seus anexos I e II. **Diário Oficial da União** de 10/01/2001. 1. Brasil. 2001.

BRASIL. Ministério Da Saúde. Secretaria de Vigilância Em Saúde (SVS). **Boletim Eletrônico Epidemiológico**. 2012. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/ano05_n06_ve_dta_brasil.pdf>. Acesso em: 06 de out 2013.

BRASIL. Ministério Da Saúde. Secretaria de Vigilância Em Saúde (SVS). **Boletim Eletrônico Epidemiológico**. 2005. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/ano05_n06_ve_dta_brasil.pdf>. Acesso em: 02 de maio 2012

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 70, de 06 de outubro de 2003. Programa de Redução de Patógenos – Monitoramento Microbiológico e Controle de *Salmonella* sp. em Carcaças de Frangos e Perus, 2003. **DOU**, Brasília, 10/10/2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria Nº 46, de 10 de fevereiro de 1998. Institui o Sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle - APPCC a ser implantado, gradativamente, nas indústrias de produtos de origem animal sob o regime do serviço de inspeção federal - SIF, de acordo com o manual genérico de procedimentos. **DOU**. 16/03/1998.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Aves**. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/animal/especies/aves>>. Acesso em: 08/06/2011

CALLAWAY, T. R.; EDRINGTON, T. S.; ANDERSON, R.C.; BYRD, J.A.; NISBET, D. J. Gastrointestinal microbial ecology and the safety of our food supply as related to *Salmonella*. **Journal of Animal Science**. v. 86, p 163-172, abril, 2008.

CARDOSO, K. F. G; RALL, V. L. M.; MENDES, A. A.; PAZ, I. C. L.; KOMIYAMA, C. M. Pesquisa de *Salmonella* e coliformes termotolerantes em cortes de frango obtidos no comércio de Botucatu/SP. **Revista Higiene Alimentar**. v. 23, p. 165-168, 2009.

CARVALHO, A. C. F. B., CORTEZ, A.L.L., SALOTTI, B.M. BÜRGER, K.P. VIDAL-MARTINS, A.M.C. Presença de microrganismos mesófilos, psicrotróficos e coliformes em diferentes amostras de produtos avícolas. **Arquivo Instituto Biologia**, São Paulo, v.72, n.3, p.303-307, jul./set., 2005

CARVALHO, A.C.F.B.; CORTEZ, A.L.L. *Salmonella* sp. em carcaças, carne mecanicamente separada, linguiças e cortes comerciais de frango. **Ciência Rural**, v.35, n.6, p.1465-1468, 2005.

CARVALHO, M. M. **Avaliação das condições para implantação do sistema APPCC em uma unidade de abate de aves.** 2004. 80f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

CDC. CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. *Listeria monocytogenes*. 2010. Disponível em: <http://www.cdc.gov/pulsenet/pathogens_pages/listeria_monocytogenes.htm>. Acesso em: 29 maio 2012

CHAMBERS, J. V. The microbiology of raw milk. In: ROBINSON, R. K. *Dairy microbiology handbook: the microbiology of milk and milk products*. 3. ed. New York: John Wiley and Sons, 2002. p. 39-90.

CHIARINI, E.; TYLER, K.; FARBER, J. M.; PAGOTTO, F.; DESTRO, M. *Listeria monocytogenes* in two different poultry facilities: Manual and automatic evisceration. **Poultry Science**. v. 88, n.4, p 791–797. 2009

COX, N. A; JUVEN, B. J.; THOMSON, J. E.; MERCURI, A. J.; CHEW, V. et al. Spoilage odors in poultry meat produced by pigmented and nonpigmented *Pseudomonas*. **Poultry Science**, v. 54, p. 2001-2006, 1975.

CONCEIÇÃO, R. C. S; HENTGES, A.; VASCONCELOS, A. N.; ANGELO, I. M. R.; CARVALHAL, J. B.; ALEIXO, J. A. G.; TIMM, C. D. Isolamento de *Salmonella* de produtos de frango e perfil de suscetibilidade dos isolados a antimicrobianos. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, n.1, p. 31-34, 2007.

CUMMINS, A. J.; FIELDING, A. K.; MCLAUCHLIN, J. *Listeria ivanovii* infection in a patient with AIDS. **Journal of Infection**. v. 28, p. 89–91, 1994

DOWNES, F. P., ITO, H. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. ed. Washington: American Public Health Association (APHA), 2001. 676p.

DISEASE CONTROL AND PREVENTION – CDC. ***Listeria (Listeriosis)***. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/spanish/listeria/statistics.html>>. Acesso em: 19/09/2013

ELISCHEROVA, K.; CUPKOVA, E.; URGEOVA, E.; LYSY, J.; SESEVICKOVA, A. Isolation of *Listeria ivanovii* in Slovakia [in Slovak]. **Cesk Epidemiol Mikrobiol Imunol**. v. 39, p. 228–36. 1990

KAPER, J. B.; NATARO, J. P.; MOBLEY, H. L. T. Pathogenic *Escherichia coli*. **Nature Reviews – Microbiology**, v.2, p.123-138, 2004.

KUHNERT, P.; BOERLIN, P.; FREY, J. Target genes for virulence assessment of *Escherichia coli* isolates from water, food and the environment. **FEMS Microbiological Reviews**, v. 24, p.107-117, 2000.

FRANCO, B. D. G. M; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**, São Paulo. Ed Atheneu, 2008.

GALARZ, L. A.; FONSECA, G. G.; PRETINCE-HERNÁNDEZ, C. Crescimento microbiano em produtos à base de peito de frango durante simulação da cadeia de abastecimento. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 30, n. 4, p 870-877, out.-dez. 2010

GALHARDO, J. A.; LOPES, M; OLIVEIRA, J. T.; TAMANINI, R; SANCHES, S. F.; FREITAS, J. C; MÜLLER, E. E. Eficácia dos tanques de pré-resfriamento na redução de contaminação bacteriana em carcaças de frango. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 27, n. 4, p. 647-656, out./dez. 2006

GANDHI, M; CHIKINDAS, M. L. Listeria: A foodborne pathogen that knows how to survive. **International Journal of Food Microbiology**. v.1. n. 113. p. 1-15, jan 2007.

GAVA, A. J; SILVA, C. A. B.; FRIAS, J. R. G. **Tecnologia de Alimentos – Princípios e Aplicações**. NBL Editora, 2009. 551p.

GOH, S. G.; KUAN, C. H.; LOO, Y. Y., CHANG, W. S.; LYE, Y. L.; SOOPNA, P.; TANG, J. Y.; NAKAGUCHI, Y.; NISHIBUCHI, M.; AFSAH-HEJRI, L.; SON, R. Listeria monocytogenes in retailed raw chicken meat in Malaysia. **Poultry Science**. v. 91, n. 10, p. 2686-90, Oct. 2012

GONÇALVES, C. R. **Fluxograma de abate de aves**. 2008. 59f. Trabalho (Especialização em Higiene e Inspeção de Produtos de Origem Animal) – Instituto Qualittas, Goiânia.

GUERRA, M.M.; BERNARDO, F.A. The risk of listeriosis and hazard identification - A review. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, 99 (550), 69-76. 2004.

HOLT, J.; KRIEG, N. R.; SNEATH, P. H. A.; STALEY, J. T.; WILLIAMS, S. T. Bergey's manual of determinative bacteriology. 9 Ed. Baltimore: The Willians e Wilkins Co, 1994, 751p.

HUSS, H. H.; JORGENSEN, L. V.; VOGEL, B. F. Control options for *Listeria monocytogenes* in seafoods. **International Journal of Food Microbiology**, v. 62, n. 3, p. 267-274, 2000.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS - ICMSF. **Microorganisms in foods: their significance and methods of enumeration**. Toronto: University of Toronto, 1978.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION (ISO). Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the

detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* – Part 1: Detection method, International Standard ISO 11290-1, Geneva, Switzerland, 1996.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FODDS. **Microbial ecology of foods commodities**. 2 ed. New York: Kluwer Academic, Plenum Publishers, 2005. 736p.

ISOLAN, L. W. **Estudo da eficiência da etapa de pré-resfriamento por imersão em água no controle da qualidade microbiológica de carcaças de frango**. 2007. 83f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

JAY, J. M. **Microbiologia de Alimentos**. 6 ed. Porto Alegre: Artmed, 2005

KOZAČINSKI, L.; HADŽIOSMANOVIĆ, M; ZDOLEC, N. Microbiological quality of poultry meat on the Croatian market. **Veterinarski Arhiv**. v. 76, p. 305-313, 2006.

LANSINI, V. **Eficiência do TIMSEN® nas etapas de escaldagem e pré-resfriamento em abatedouro de aves**. 102f. 2010. Mestrado (Ciência e Tecnologia Agroindustrial) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

LECUIT, M.; DRAMSI, S.; GOTTARDI, C.; FEDORCHAIKEN, M.; GUMBINER, B.; COSSART, P. A single amino acid in E-cadherin responsible for host specificity towards the human pathogen *Listeria monocytogenes*. **EMBO Journal**. v. 18. p. 3956–63, 1999.

LILLARD, H. S. The impact of commercial processing procedures on the bacterial contamination and crosscontamination of broiler carcasses. **Journal Food Protection**, v.53, n.3, p.202-204, mar. 1990.

LOPES, M; GALHARDO, J. A.; OLIVEIRA, J. T.; TAMANINI, R; SANCHES, S. F.; MULLER, E. E. Pesquisa de *Salmonella* spp. e microrganismos indicadores em carcaças de frango e água de tanques de pré-resfriamento em abatedouro de aves. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 28, n. 3, p. 465-476, 2007.

LÓPEZ, V.; ORTIZ, S.; CORUJO, A.; LÓPEZ, P.; POZA, D.; NAVAS, J.; MORENO, R.; MARTÍNEZ-SUÁREZ, J. V. Different Contamination Patterns of Lineage I and II Strains of *Listeria monocytogenes* in a Spanish Broiler Abattoir. **Poultry Science**, v.87, n.9, p.1874-82, 2008

LUKINMAA, S.; AARNISALO, K.; SUIHKO, M. L.; SIITONEN, A. Diversity of *Listeria monocytogenes* isolates of human and food origin studied by serotyping, automated ribotyping and pulsed-field gel electrophoresis. **Clinical Microbiology and Infections**. v. 10, n. 6, p. 563-568, 2004.

MATHEUS, D.P.; RUDGE, A.C.; GOMES, S.M.M. Ocorrência de *Salmonella* spp em carne de frango comercializada no município de Bauru, SP, Brasil. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 62, v. 2, p.111 - 115, 2003.

MAYRHOFER, S.; PAULSEN, P.; SMULDERS, F. J. M.; HILBERT, F. Antimicrobial resistance profile of five major food-borne pathogens isolated from beef, pork and poultry. **International Journal of Food Microbiology**. v. 97, p.23-29. 2004.

MEHYAR, G.; BLANK, G.; HAN, J. H.; HYDAMAKA, A.; HOLLEY, R. A. Effectiveness of trisodium phosphate, lactic acid and commercial antimicrobials against pathogenic bacteria on chicken skin. **Food Protection Trends**, v. 25, p. 351-362, 2005.

MIETTINEN, M. K., PALMU, L., BJORKROTH, K. J., & KORKEALA, H. Prevalence of *Listeria monocytogenes* in broilers at the abattoir, processing plant, retail level. **Journal of Food Protection**, 64, 994–999. 2001

MIYAGUSKU, L.; CHEN, F.; LEITÃO, M. F. de F.; BAFFA, O. Avaliação microbiológica e sensorial da vida útil de cortes de peito de frango irradiados. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 23, dez. 2003.

MOURA FILHO, L. G. M; BEZERRA, S.S.; BARROS, C. G., MELO, H. M. G.; MENDES, E. S. Perfil microbiológico da carne de frangos abatidos artesanalmente e na indústria, comercializados na grande Recife-PE. **Medicina Veterinária**, v.4, n.1, p.12-17, jan/mar, 2010

MORETRO, T.; LANGSRUD, S. *Listeria monocytogenes*: biofilm formation and persistence in food-processing environments. **Biofilms**, v.1, p.107-121, 2004

MUNMANN L.; DILKIN P.; KOWALSKI H C.; ALMEIDA A C.; MALLMANN A C.; Temperaturas de conservadores a frio em estabelecimentos que comercializam Alimentos. **Revista Higiene Alimentar**, v.36, n.2, p.558-572, mar./abr.2006.

NALÉRIO, E. S.; ARAÚJO, M. R. de; MENDONÇA, K. S.; BASSANI, M. T. SILVA, W. P. da. *Listeria monocytogenes*: monitoramento desse perigo biológico na cadeia produtiva de frangos do sul do Rio Grande do Sul. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, n.3, p. 626-630, 2009

NORTHCUTT, J. K.; BERRANG, M. E.; DICKENS, J. A.; FLETCHER, D. L.; COX, N. A. Effect of broiler age, feed withdrawal, and transportation on levels of coliforms, *Campylobacter*, *Escherichia coli* and *Salmonella* on carcasses before and after immersion chilling. **Poultry Science**, v. 82, n. 1, p. 169-173, 2003.

NYENJE, M.; TANIH, N.; GREEN, E.; NDIP, R. N. Current Status of Antibigrams of *Listeria ivanovii* and *Enterobacter cloacae* Isolated from Ready-To-Eat Foods in Alice, South Africa. **International Journal of Environmental Research and Public Health**. v. 9, n. 9. p 3101-3114. 2012

OLIVIER, M.; VEARY, C. M.; CLOETE, T. E.; VON HOLY, A. Microbiological status of selected chicken carcasses from a non-automated poultry processing plant. **Journal of Basic Microbiology**. v 36, n 1, p, 41–49,1996

PENTEADO, F. R.; ESMERINO, L. A. Avaliação da qualidade microbiológica da carne de frango comercializada no município de Ponta Grossa – Paraná. **Publicativo UEPG: Ciências Biológicas e da Saúde**. Ponta Grossa, v.17, n.1, p. 37-45, jan./jun. 2011

PERES, N.D.; LANGE, C.C.; BRITO, M.A.V.P.; ARCURI, E.F.; CERQUEIRA, M.M.O.P. Detecção de *Listeria monocytogenes* pela técnica de PCR em leite contaminado artificialmente. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.62, n.4, p.973-979, 2010

PÉRES-RUBIANO, C.; MERCADO-REYES, M. CARRASCAL-CAMACHO, A. K. Incidencia de *Listeria* spp. en carcasas de pollo congelado en un supermercado del nororiente de Bogotá. **NOVA - Publicación Científica EN Ciencias Biomédicas** . v..6, n. 10, p. 101-236, 2008

PIRES, D. S. L.; PACHECO, M. S.; ROLIM, M. B. Q.; SANTANA, A. L.; MOURA, A. P. B. L. Pesquisa de *Salmonella* spp. e coliformes termotolerantes em carcaças de frangos *in natura* comercializados no Distrito Sanitário V da Cidade do Recife – PE. **Medicina Veterinária**, Recife, v.3, n.1, p.31-36, jan-mar, 2009

RODRIGUES, A. C. A.; PINTO, P. S. A.; VANETTI, M. C. D.; BELIVACQUA, P D.; SOUZA, M. P. NERO, L. A. Análise e monitoramento de pontos críticos no abate de frangos utilizando indicadores microbiológicos. **Ciência Rural**, v.38, n.7, p.1948-1953, 2008

ROSSA, L. S.; STAHLKE, E. V. R.; DIEZ, D. C.; WEBER, S. H.; STERTZ, S. C.; MACEDO, R. E. F. Resistência antimicrobiana e ocorrência de micro-organismos patogênicos e indicadores em frangos orgânicos e convencionais: estudo comparativo. **Biotemas**, v, 26, n. 3, p. 211-220, 2013.

SANTOS, J. S. **Avaliação da qualidade microbiológica de carnes de frango comercializadas na cidade de Aracaju – SE**. 2009. 41f. Monografia (Especialização em Gestão da Qualidade Vigilância Sanitária em Alimentos) Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFERSA, Recife.

SCARCELLI, E. & PIATTI, R.M. Patógenos emergentes relacionados à contaminação de alimentos de origem animal. **Biológico**, São Paulo, v.64, n.2, p.123-127, jul./dez., 2002.

SILVA, A. C. M. **A influência do tempo de refrigeração na virulência inicial de *Listeria monocytogenes***. 2010. 73f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Alimentar – Qualidade e Segurança Alimentar) Universidade Tecnica de Lisboa, Lisboa.

SILVA, J. A.; AZERÊDO, G. A.; BARROS, C. M. R.; COSTA, E. L.; FALCÃO, M. M. S. Incidência de bactérias patogênicas em carne de frango refrigerada. **Revista Higiene Alimentar**, v.16, n.100, p.97-101, 2002.

SILVA, N; JUNQUEIRA, V; SILVEIRA, N; **Manual de métodos de análise microbiológicas de alimentos**. Varela, 2010.

SCHERER FILHO, M. W. **Análise dos fatores que influenciam na condenação de carcaças inteiras de frango (Griller)**. 2009. 53f. Monografia (Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

SCHLUNDT, J. New directions in foodborne disease prevention. **Internation Journal of Food Microbiology**, v. 78, n.1/2, p. 3-17, 2002.

SOUZA, G. C. **Deteção de betalactamases de espectro expandido (ESBL) em cepas de coliformes isoladas de carne de frango comercializadas na cidade de Fortaleza, Ceará**. 2007. 120f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

SVOBODOVÁ, I.; BOŘILOVÁ, G.; HULÁNKOVÁ R.; STEINHAUSEROVÁ, I. Microbiological quality of broiler carcasses during slaughter processing. **Acta Veterinaria Brno**, v. 81, p. 037–042, 2012.

TESSARI, E. N. C; CARDOSO, A. L. P.; KANASHIRO, A. M. I.; STOPPA, G. F. Z.; LUCIANO, R. L.; CASTRO, A. G. M. Ocorrência de *Salmonella* spp. em carcaças de frangos industrialmente processadas, procedentes de explorações industriais do Estado de São Paulo, Brasil. **Rev Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, n.9, p 2557--2560, 2008.

TORTORA, G. J. et al. **Microbiologia**. 8.ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

THOMAS, C.J.; McMEEKIN, T.A. Effect of water immersion on the microtopography of the skin of chicken carcasses. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.33, p.549-554, 1982.

TRABULSI, L.R; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. 5. ed. São Paulo: Atheneu, 2008.

VAILLANT, V.; DE VALK, H.; BARON, E.; ANCELLE, T.; COLIN, P.; DELMAS, M. C.; DUFOUR, B.; POUILLOT, R.; LE STRAT, Y.; WEINBRECK, P.; JOUGLA, E.; DESENCLOS, J. C. Foodborne infections in France. **Foodborne Pathogens and Disease**, v.2, p.221-232, 2005.

VENTURINI, K. S; SARCINELLI, M. F.; SILVA, L. C. Características da carne de frango. **Boletim Técnico** - PIE-UFES:01307. 2007. Disponível em: <http://www.agais.com/telomc/b01307_caracteristicas_carnefrango.pdf>. Acesso em 16 maio 2012.

UNIÃO BRASILEIRA DE AVICULTURA (UBABEF), 2011, São Paulo. **Relatório Anual 2010/2011**. Disponível em: <http://www.abef.com.br/ubabef/publicacoes_relatoriosanuais.php>. Acesso em: 19 maio de 2012.

UNIÃO BRASILEIRA DE AVICULTURA – UBABEF. **Relatório Anual, 2013**. Disponível em: <<http://www.ubabef.com.br/publicacoes>>. Acesso em: 19 set 2013.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. FOOD SAFETY AND INSPECTION SERVICE. **Microbiology Laboratory Guidebook**. Outubro, 2004.

VON RÜCKERT, D.A.S.; PINTO, P.S.A.; SANTOS, B.M.; MOREIRA, M.A.S.; RODRIGUES, A.C.A. Pontos críticos de controle de *Salmonella* spp. no abate de frangos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.61, n.2, p.326-330, 2009.

YAN, H.; NEOGI, S. B.; MO, Z.; GUAN, W.; SHEN, Z.; ZHANG, S.; LI, L.; YAMASAKI, S.; SHI, .L; ZHONG, N. Prevalence and characterization of antimicrobial resistance of foodborne *Listeria monocytogenes* isolates in Hebei province of Northern China, 2005–2007. **International Journal of Food Microbiology**. v.144, n.2, pp.310-316. 2010.