

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

**STAPHYLOCOCCUS AUREUS NA PELE DE
FRANGOS EM ABATEDOURO:
OCORRÊNCIA, DISTRIBUIÇÃO,
RESISTÊNCIA AO CALOR E
AOS SANIFICANTES**

Parecer

*Este exemplar corresponde a redação final
da tese defendida por Ernani Porto e apre-
vada pela Comissão Julgadora em 09.05.74.*

ERNANI PORTO
MÉDICO VETERINÁRIO

[Handwritten signature]

Dissertação apresentada à Faculdade de
Engenharia de Alimentos para a obtenção
do título de Mestre em Tecnologia de
Alimentos

Orientador - Prof. Dr. EDIR NEPOMUCENO DA SILVA *[Handwritten signature]*

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
BIBLIOTECA CENTRAL

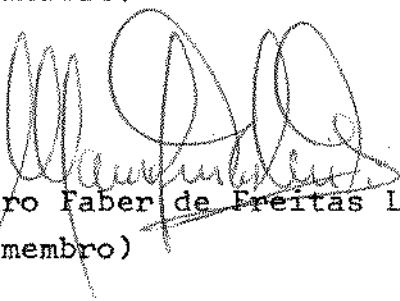
BANCA EXAMINADORA




Prof. Dr. Edir Nepomuceno da Silva
(Orientador)



Prof. Dr. Pedro Eduardo de Felício
(membro)



Prof. Dr. Mauro Faber de Freitas Leitão
(membro)



Prof. Dr. José Luiz Pereira
(membro)

Campinas, 09 de maio de 1994.

"Eles percebem mais presságios que todos os outros homens juntos, pois cada vez que ocorre um presságio os egípcios lhe observam as consequências e as anotam; se algum evento semelhante volta a ocorrer eles pensam que as consequências serão idênticas."

HERÓDOTOS (484ac.- 420 a.c), HISTÓRIA, II 82.

"Homem excelente é quem por si mesmo tudo pensa refletindo o que então e até o fim seja melhor; e é bom também quem ao bom conselheiro obedece; mas quem não pensa por si nem ouve outro é atingido no ânimo; pois este é homem inútil."

HESÍODO (séc VII ac.), O TRABALHO E OS DIAS, v. 295.

" O esforço é grande e o homem é pequeno.
Eu Diogo Cão, navegador, deixei
Este padrão ao pé do areal moreno
E para diante naveguei"

FERNANDO PESSOA (1888-1935). MAR PORTUGUÊS, III. PADRÃO

" Monté y me encomendé a Dios,
rumbiando para otro pago,
que el gaucho que llaman vago
no puede ter querencia,
y así de estrago en estrago
vive llorando la ausencia"

José Hernandez (1834-1886). El Gaucho Martín Fierro v. 1320

A:

Alina T. Hernandez,
A.C. Porto e Eva M. Porto -meus pais-
e ao César Martins,

DEDICO.

Para Vó Dalila

Uma homenagem especial no seu 89^o ano

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Edir Nepomuceno da Silva pela orientação, incentivo apoio e amizade.

Ao Prof. Dr. Pedro Felício pelo entusiasmo transmitido na disciplina de Tecnologia Avançada de Carnes.

A Dra. Mirta U. Eiroa pelo incentivo ao trabalho científico e pela compreensão.

A Cláudio Fidélis Pandolfo do IPB-RS, meu primeiro mestre na microbiologia, um agradecimento tardio.

A CEVAL pelo apoio a este trabalho, em especial ao Nivaldo e demais funcionários da unidade CEVAL-Jundiaí pela colaboração e ajuda durante as coletas de amostras.

Ao CNPq e FAPESP pelo auxílio financeiro.

A Vera, pelo auxílio, e também Magali e Silvana pelas discussões, apoio e amizade. A Hebe pelas correções do texto.

A Dirce e M. Raquel, Técnicas do Laboratório de Higiene pela ajuda prestiosa na execução deste trabalho, especialmente pelos favores prestados na fase de redação. Também a D. Jacinta, funcionária da FEA, pelo valioso cafezinho. Aos funcionários da Secretaria e aos demais do DTA pelo favores prestados.

Ao Glicério e Etel pela acolhida em Campinas.

A Juliana pelo empréstimo do computador.

A Isa, Neura, Eduardo e todos os amigos que colaboraram direta ou indiretamente.

Ao amigo Efraim Golbert, em especial.

A gênio de J. S. Bach, cuja música suave alegrou esta redação em quase todos os momentos, um tributo.

Aos meus pais e irmão pelo incentivo, apoio e amparo em todos os momentos.

A Alina pela doçura do seu amor, compreensão e paciência inesgotáveis. Também pelo auxílio nas correções do texto.

A todos os que tornaram este trabalho possível.

ÍNDICE

página

RESUMO.....	vi.
SUMMARY.....	vii.
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS.....	5
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	7
3.1. Etapas do processo de abate de frangos.....	7
3.2. Disseminação bacteriana no abate.....	9
3.3. <i>Staphylococcus aureus</i>	13
3.4. Outras bactérias de importância no abate de frangos.....	26
3.5. Higiene e sanificação em abatedouros.....	31
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	50
4.1. <i>S. aureus</i> e mesófilos no abatedouro.....	50
4.2. Resistência térmica de cepas de <i>S. aureus</i>	62
4.3. Redução da contaminação da pele de frango por <i>S. aureus</i> pela utilização de ácidos orgânicos.....	64
4.4. Resistência de diferentes cepas de <i>S. aureus</i> frente a sanificantes químicos.....	67

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	73
5.1. <i>S. aureus</i> e mesófilos na pele de frangos durante o processo de abate.....	73
5.2. <i>S. aureus</i> e mesófilos em diferentes áreas do abatedouro.....	81
5.3. Resistência térmica de cepas de <i>S. aureus</i> isoladas da pele de frango.....	89
5.4. Tratamento de carcaças com ácidos orgânicos e recuperação de <i>S. aureus</i> e mesófilos da pele.....	95
5.5. Efeito de sanificantes químicos sobre cepas de <i>S. aureus</i>	101
6. CONCLUSÕES.....	123
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	126
APÊNDICE.....	148

RESUMO

Fizeram-se contagens de *Staphylococcus aureus* e mesófilos no ambiente e em carcaças de frango coletadas em diferentes fases do abate em frigorífico com Inspeção Federal. Fizeram-se testes de detecção de *S. aureus* na superfície de equipamentos e mãos de manipuladores. Utilizaram-se ácidos láctico e acético por aspersão e imersão para reduzir a contaminação após a depenagem. Submeteram-se cepas de *S. aureus* a testes de resistência térmica e aos sanificantes: compostos quaternário de amônio, cloro (hipoclorito de sódio) e iodo (iodóforo), pelo método de contato. Observou-se a presença de *S. aureus* na pele de frangos em todas as amostras. A contaminação por *S. aureus* foi maior pós depenagem e evisceração e, menor, pós escaldagem a 58°C e resfriamento a 6,0°C com 3 mg/l cloro. As carcaças apresentaram menor contaminação por *S. aureus* ao final do abate. Mesófilos eram, sempre, em maior quantidade que *S. aureus*. A contagem de mesófilos na água de escaldagem oscilou muito em diferentes amostras. Os dedos de borracha das depenadeiras eram reservatórios e disseminadores de *S. aureus* entre carcaças pois já estavam contaminados antes mesmo do início da operação, apesar de limpos e sanificados. A contaminação de carcaças aumentou durante o período de abate. Detectou-se *S. aureus* na sala de depenagem e em todas as superfícies de equipamentos

examinadas, mesmo após a limpeza. Detectou-se na sala de evisceração, somente, no aspirador de pulmão. Os manipuladores de ambas as salas portavam *S. aureus* nas mãos. Estudos *in vitro* de cepas de *S. aureus* isoladas de frango, após escaldagem e depenagem, demonstraram resistência das mesmas por até 10 minutos a 50°C e total eliminação delas por dois minutos a 60°C. Aspersão de carcaças com solução de ácido láctico a 1, 5 e 10%, e ácido acético a 5 e 10% teve efeito pequeno na redução da população de *S. aureus* da pele e nulo sobre mesófilos. Imersão de carcaças artificialmente contaminadas em soluções sanitizantes tiveram melhor efeito sobre *S. aureus* que a aspersão. Testes revelaram o composto quaternário de amônio (40 mg/l) como o mais eficiente sobre as cepas examinadas. O cloro (350 mg/l) mostrou resultados variáveis, com cepas suportando até 10 minutos de contato e, outras, menos de um minuto. O iodo (100 mg/l), também, apresentou resultados variáveis. Cepas sensíveis aos três sanificantes foram isoladas apenas na sala de escalda e depenagem. Cepas isoladas de carcaças pós depenagem apresentaram, sempre, maior resistência ao iodo.

SUMMARY

Determination of the numbers of *Staphylococcus aureus* and mesophilic microorganisms was made in the environment and in the broiler carcasses collected during processing in a processing plant with Federal Inspection. Detection of *S. aureus* was made in the surfaces of equipments and workers hands. Lactic and acetic acids were used by spraying and deeping to reduce the contamination after plucking. Strains of *S. aureus* were tested for thermic resistance and sanitizers: Quaternary Ammonium, Chlorine (sodium hypochlorite) and Iodine (iodophor) compounds, using contact test. *S. aureus* was detected in the broiler skin in all samples. The *S. aureus* contamination was higher after plucking and evisceration and lesser after scalding at 58°C and chilling at 6°C using chlorine at 3 mg/l. Carcasses were less contaminated by *S. aureus* at the end of the processing. Mesophilic microorganisms were, always, in higher number than the *S. aureus*. The number of mesophilic microorganisms in the scalding water oscillated a lot in different samples. The rubber fingers of the pluckers were reservoirs and disseminators of *S. aureus* among carcasses once they were already contaminated before running after have been previously cleaned and disinfected. The carcasses contamination increased during the processing period. *S. aureus* was detected in the plucking room and in all equipment

surfaces sampled even after they have been previously cleaned. In the evisceration room it was detected only in the lung aspirator. The workers from both rooms showed *S. aureus* in their hands. *In vitro* studies showed that *S. aureus* strains isolated from broiler skin after plucking and scalding were resistant to 50°C for 10 minutes but not to 60°C for two minutes. Spraying carcasses with lactic acid with 1, 5 and 10% solutions and, acetic acid (1 and 5%) had little effect on reduction of *S. aureus* in the skin and none on mesophilic microorganisms. Dipping of artificial contaminated carcasses into sanitizer solutions showed better results on *S. aureus* decontamination than spraying. The results showed Quaternary Ammonium Compound (40 mg/l) was the most efficient against all strains tested. The results against Chlorine (350 mg/l) were variable, with some strains surviving till 10 minutes and the others killed in less than one minute. Iodine (100 mg/l) showed also variable results. Sensible strains to all three sanitizers tested were isolated only in scalding and plucking room. Strains isolated from carcasses after plucking showed, always, higher resistance to iodine.

1 . INTRODUÇÃO

O processo atual de abate de frangos caracteriza-se pelas altas velocidades de abate, ou seja, pelo grande número de carcaças que são processadas diariamente dentro de uma planta de abate. Também é crescente a utilização das carcaças de frango para a obtenção de cortes para o consumo e como matéria-prima para industrialização de produtos tais como salsichas, mortadelas e linguiças, feitas integralmente com carne de frango ou com quantidades parciais na sua composição. Neste aspecto, a carne mecanicamente separada (CMS), subproduto da desossa manual ou do aproveitamento de cortes de baixo valor comercial como pescoço e dorso, tem se revelado de grande importância econômica por agregar valor a partes menos nobres do frango, e ao mesmo tempo reduzir custos de produtos embutidos.

Esta característica específica do processo de abate de frangos, o grande número de animais abatidos, torna muito difícil, senão impossível, a realização das operações de inspeção individual ante-mortem e pós-mortem como para outras espécies de grande e médio porte. Entretanto isto não constitui um problema sério, pois as zoonoses nas aves são significativamente menos importantes do que nos mamíferos.

É o aspecto da contaminação bacteriana, e as possíveis toxi-infecções por ela causadas que assume a preocupação principal no abate de frangos. Sendo uma criação altamente intensiva, as dificuldades sanitárias surgem já na fase de criação, na granja. O grande número de aves e a aglomeração nos galpões favorece a instalação, permanência e a disseminação de bactérias entre os frangos. A operação de abate é também altamente intensiva, efetuado com grande rapidez e com dezenas de milhares de aves passando pelo abatedouro em horas. Esta enorme quantidade de aves introduz continuamente uma grande carga bacteriana no abatedouro.

O processo de abate pode causar tanto o aumento do número de carcaças contaminadas por uma bactéria específica, como por *Salmonella sp.*, como também aumentar a contagem bacteriana das carcaças. No caso da carne produzida destinar-se à industrialização, os produtos incorporarão a contaminação originária da granja e do abate. O abate é uma etapa fundamental para que a indústria obtenha um produto de boa qualidade microbiológica, pois ao contrário da granja ela pode realmente controlar o processo. Este, se bem conduzido reduzirá ou eliminará a contaminação bacteriana oriunda da granja e assim serão obtidas carcaças ou matéria-prima de ótima qualidade microbiológica. Entretanto, se for conduzido de forma tecnicamente imperfeita, poderá agravá-los e até mesmo acrescentar novos problemas aos já existentes, o que pode provocar consequências danosas, não apenas para a indústria, mas principalmente à Saúde Pública.

Dentre todos os microrganismos de importância no abate de frango, o *Staphylococcus aureus* apresenta algumas características que o tornam ímpar. Ao contrário de outras bactérias, ele é causador de uma intoxicação alimentar, causando-a através da produção de uma enterotoxina termorresistente. É habitante normal da pele e nasofaringe tanto de animais como de humanos. Há evidências de que pode vir a colonizar equipamentos de um abatedouro avícola. O problema de ser causador de uma intoxicação alimentar é agravado com o alongamento do processamento da carne de frango.

Atualmente, após o resfriamento das carcaças, muitas etapas são percorridas até esta carne vir a ser transformada em salsicha, por exemplo. No decorrer destas etapas, a carne sofre manipulação e transporte. Isto pode vir a propiciar, em determinado momento, não apenas a multiplicação de *Staphylococcus aureus*, mas a produção de enterotoxina que poderá persistir após tratamento térmico que porventura destrua o microrganismo. Outro aspecto é que, embora sobre carne "in natura" o *Staphylococcus aureus* seja mau competidor, o quadro muda no instante em que esta carne passa a constituir um embutido com teor de sal e nitritos que inibem certos grupos bacterianos, favorecendo-o indiretamente. E finalmente, com a utilização de CMS, a pele passa a ser constituinte destes produtos, e esta é sabidamente habitada pelo microrganismo.

Entendemos, assim, que o ponto crucial no controle bacteriano seja as operações de abate de frango. Assim, conduzimos este estudo sobre *Staphylococcus aureus* com esta determinação, onde buscamos avaliar e determinar não apenas o comportamento do microrganismo nas carcaças durante as operações de abate, mas também alguns fatores que o influenciam na planta. Dentro deles encontram-se a temperatura da escaldagem, características dos equipamentos, cloração das águas e os procedimentos de higienização. Este último aspecto dentro da indústria de alimentos é muitas vezes negligenciado ou subestimado e nem sempre realizado com os devidos cuidados e conhecimentos técnicos. A escolha de sanificante, assim como a

sua dosagem e eficiência, se feita empiricamente resultará em desperdício ou em ineficiência. Assim, desenvolvemos este estudo sobre a contaminação por *S. aureus* dentro da planta de abate e em laboratório para contribuir no diagnóstico de uma situação real, e ajudar na busca de soluções.

2. OBJETIVOS

- 2.1. Detectar *S. aureus* e microrganismos mesófilos na pele de frangos coletados em diferentes pontos e tempos do processo de abate.
- 2.2. Fazer a contagem de *S. aureus* e bactérias mesófilas em diferentes superfícies no abatedouro durante o abate.
- 2.3. Determinar a resistência térmica de cepas de *S. aureus* isoladas de pele de carcaças de frango no abatedouro após diferentes etapas do processo de abate.

- 2.4. Avaliar o efeito do tratamento de carcaças com diferentes concentrações de ácidos orgânicos sobre na recuperação de *S. aureus* e microrganismos mesófilos de pele de frangos.
- 2.5. Avaliar o efeito de diferentes concentrações de sanificantes químicos na sobrevivência de cepas de *S. aureus* isoladas da pele de frangos.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Etapas do processo de abate de frangos

Os frangos em uma criação intensiva são geralmente criados soltos dentro de um galpão, variando o número de aves conforme as dimensões deste, até atingirem o peso ideal de abate. No dia do recolhimento são submetidos à restrição alimentar, mas não hídrica. São apanhados e acondicionados em engradados plásticos com capacidade para cerca de dez aves. Em geral a captura é feita à noite e deve-se proceder com muito cuidado para não estressar nem ferir as aves.

Da granja, os frangos são transportados ao abatedouro em caminhões dentro dos engradados plásticos. Após chegarem ao local, sofrem um curto período de descanso, de uma a duas horas, que pode prolongar-se aguardando o descarregamento. São descarregadas, sendo penduradas de cabeça para baixo pelos pés e entram na linha de abate, ao final da qual se obterá frango em carcaça resfriada, congelada, em cortes para o consumidor ou para a utilização industrial.

As principais etapas do processo são as seguintes (BRENNER, 1981):

Sangria: pode ser executada com ou sem prévio atordoamento da ave. O atordoamento é feito com eletricidade em baixa (70-100 V) ou alta (500 V) voltagem. Não deve matar a ave para não prejudicar a sangria. Esta é feita ou pelo corte da veia jugular ou pela perfuração na fenda palatina. A ave pendurada percorre por dentro do chamado túnel de sangria para gotejamento do sangue até a morte. O tempo do processo é, em geral, de três a quatro minutos.

Escaldagem: consiste na imersão da carcaça em um tanque de água quente sob agitação. é importante que a ave não entre ainda com vida no tanque, para que não aspire água e assim contamine o interior do organismo por via pulmonar. A escaldagem objetiva facilitar a remoção das penas. A temperatura poderá variar dos 50°C aos 80°C. Temperaturas baixas (escalda branda) alteram menos a cor da carcaça, mas a depenagem é dificultada. Temperaturas altas facilitam a depenagem, mas descolorem a carcaça.

Depenagem: operação de retirada das penas, é executada por um conjunto de máquinas em série que formam uma espécie de túnel onde diversos discos contendo vários dedos de borracha ficam dispostos nos dois lados internos do equipamento. As carcaças percorrem este túnel, que é afunilado em direção à saída, e ao seu redor giram os discos, arrancando as penas. Água de lavagem é constantemente jogada no equipamento para arrastar as penas que se acumulam entre os dedos e discos.

Evisceração: pode ser manual ou automática. Inicia-se com a abertura da cloaca, com pistola de vácuo, após o que se abre a cavidade abdominal, expõem-se as vísceras, retiram-se os miúdos e, por aspiração, os pulmões são removidos. Nesta etapa deve haver extremo cuidado para não se romper os intestinos e contaminar a carcaça com material fecal.

Resfriamento: nesta etapa a temperatura da carcaça deve descer dos 30°C para 4°C-0°C, podendo ser executada de dois modos:

a) imersão ("spin-chiller"), que consiste em uma série de tanques para o pré-resfriamento e outra para o resfriamento, contendo água e gelo. As carcaças vão sendo conduzidas por intermédio de uma rosca sem fim. Neste processo, as carcaças absorvem água e ganham peso, devendo gotejar por um certo tempo após a saída do tanque. É o processo utilizado no Brasil, sendo seu custo reduzido em relação ao "spray-chiller".

b) ar frio ("spray-chiller"), em túneis de ar frio por onde as carcaças passam. Método largamente utilizado na Europa, seu custo é mais elevado e, neste tipo de processo, as carcaças perdem peso por desidratação.

3.2. Disseminação bacteriana no abate

A disseminação bacteriana é passível de ocorrer em todos os estágios do processo. Equipamentos, utensílios, funcionários, aves, água e ar participam na disseminação. A ave chega ao local do abate com a contaminação própria e a que adquire durante o transporte. Ainda que todas as etapas possam de alguma forma contribuir para este evento, alguns estágios são particularmente decisivos por apresentarem características que os tornam amplificadores ou reservatórios de contaminação bacteriana.

3.2.1. Escalda

é um dos principais pontos de contaminação cruzada. A água do tanque de escalda acumula muita matéria orgânica e sujidades provenientes do corpo da ave. Além disto, as aves costumam defecar por ato reflexo durante o processo de imersão, adicionando mais material ao tanque. Pelas características das fezes da ave, ocorrem reações químicas, alterando o pH da água e favorecendo a sobrevivência bacteriana por aumentar sua capacidade de resistência térmica (HUMPREY et al., 1981; WEMPE et al., 1983).

MULDER et al. (1978) inocularam externamente em frangos uma cepa marcada de *Escherichia coli* antes da passagem pelo tanque de escalda. Posteriormente à passagem destas carcaças inoculadas pelo tanque, detectaram a cepa marcada até a 230ª carcaça que percorreu o tanque. Apesar desta intensa transferência bacteriana, a contaminação individual daquelas carcaças inoculadas foi reduzida. A inoculação interna, via cloaca, teve um poder de contaminação muito menor. Entretanto, uma vez ocorrida a contaminação no tanque de escalda, o microrganismo foi detectado em todas as etapas até final do processo.

NOTERMANS & KAMPALMACHER (1975^b) encontraram uma maior sobrevivência de enterobactérias no escalde se aderidas à pele de frango. A remoção mecânica, por lavagem das bactérias aderidas anteriormente à escalda também seria dificultada, enquanto que a contaminação adquirida no tanque seria mais facilmente removida. Também foi verificado por HUMPREY (1981) que *Salmonella sp.* tem uma maior sobrevivência na água de escalda ao final da jornada de abate, o que foi atribuído a fatores de proteção tais como o acúmulo de matéria orgânica e alteração de pH.

3.2.2. Depenadeira

é um dos principais pontos da disseminação de *Staphylococcus aureus* no abatedouro de aves. Esta bactéria provavelmente possui uma grande capacidade de sobreviver neste equipamento e recoloniza as carcaças com um novo tipo de cepa, considerada como endêmica do equipamento. Um outro problema neste equipamento é a dificuldade de higienização, onde a presença de ranhuras e fissuras dos dedos de borracha oferece proteção aos microrganismos e serve de barreira aos sanificantes (GIBBS et al. , 1988³). Esta capacidade de colonização parece ser restrita ao *S. aureus*, pois em outros tipos de bactérias como *Escherichia coli* não foi encontrada uma persistência de sorotipos no equipamento por CHERRINGTON et al. (1988).

MULDER et al. (1978) utilizando-se de uma cepa marcada de *E. coli*, demonstraram que a depenadeira foi capaz de aumentar a carga contaminante das carcaças que saem da escaldagem. A depenadeira espalhou e aumentou a contaminação externa das carcaças. Quando, na operação, água quente (55°C) foi utilizada na remoção das penas acumuladas no equipamentos, a contaminação diminuiu.

3.2.3. Resfriamento ("Chiller")

THOMSON et al. (1974) revisaram a bibliografia sobre a contaminação nesta etapa do processo. é considerado um importante ponto de contaminação cruzada, especialmente para *Salmonella* sp. A contaminação individual pode diminuir por efeito da lavagem da carcaça, porém o resultado final é um aumento na porcentagem

global de carcaças contaminadas por este microrganismo. A cloração deve ser efetiva para eliminar a bactéria livre n'água. MAY (1974) encontrou uma redução de psicrófilos durante esta etapa. LILLARD (1990) reafirmou a necessidade de se clorar a água para a destruição das bactérias que são removidas no processo. Do contrário, estas bactérias removidas podem retornar a outras carcaças. PERIC et al. (1971) consideraram este processo como um ponto muito importante da contaminação cruzada, pois o produto que daí sai vai para o mercado sob forma de frango congelado ou resfriado.

Há alguma controvérsia sobre o melhor sistema de resfriamento, se o "spray-chiller" ou resfriamento por imersão. VEERKAMP & MULDER (1972) concluíram que o "spray" causaria tanta contaminação nas carcaças quanto a imersão. LILARD (1982) estudou os dois tipos de resfriamento, por "spray" e imersão. Concluiu que o sistema de imersão seria mais adequado, econômico e ecológico, por utilizar menores quantias de água por carcaça. Além disto, oferece um produto com melhor aspecto. Com medidas adequadas de higiene, o aspecto microbiológico não se torna mais problemático do que o oferecido pelo outro método. MULDER et al. (1976) encontraram boas reduções nas contagens de enterobactérias, sendo indiferente o método de resfriamento utilizado.

Para BLOOD & JARVIS (1974), as contaminações altas de carcaças seriam ocasionadas por contagens bacterianas altas na água do tanque. O controle do processo de contaminação no sistema de imersão seria dado pela relação água/carcaça e cloração. Volumes grandes de água com teores altos de cloro controlariam satisfatoriamente a contaminação.

3.3. *Staphylococcus aureus*

3.3.1. Características do microrganismo

O gênero *Staphylococcus*, pertencente à FAMÍLIA MICROCOCCACEAE, é composto por cocos Gram positivos, imóveis, mesófilos, não esporulados e agrupados irregularmente em forma de cachos. Geralmente catalase positivo, possuidores de metabolismo respiratório e fermentativo, são anaeróbios facultativos e toleram altas concentrações de NaCl (SNEATH, 1986).

OGSTON (1880) nomeou cocos causadores de processos infecciosos em humanos de *Staphylococcus* devido ao seu arranjo morfológico. Posteriormente, ROSENBACH (1884) fez o isolamento, obtendo cultura pura em laboratório. Encontrou dois tipos de colônias, pigmentadas e não pigmentadas, nomeando-as respectivamente de *Staphylococcus pyogenes aureus* e *Staphylococcus pyogenes albus* (Appurd. BERGDOLL, 1979)

O gênero comporta atualmente cerca de 23 espécies. Dentro destas, *Staphylococcus aureus* pode ser diferenciado por coagular plasma, produzir Dnase termoestável e fermentar o manitol (SNEATH, 1986). é produtor de um grande número de toxinas, causando uma grande variedade de quadros patológicos em homens e animais. Uma extensa revisão da identificação de *Staphylococcus* patogênicos de animais foi feita por DERVRISE & HÁJAK (1980). Em frango, além de *S. aureus*, também é frequente o *Staphylococcus hyicus*, que não é inibido no meio de isolamento Baird-Parker, e produz colônias de um azul-acinzentado até marrom em 48 horas de incubação. Apresenta forte resultado positivo

para Dnase, mas é negativo para a prova de Dnase termoestável, é coagulase variável no plasma de coelho (entretanto é geralmente positivo em plasma suíno) e manitol negativo. Dada a frequência relatada de *S. aureus* com reação fraca ou negativa para a Dnase termoestável, recomendou que se façam provas de coagulase em tubo e fermentação do manitol para correta diferenciação.

SPERBER & TATINI (1975) consideraram a formação de um coágulo firme em tubo dentro de quatro horas como suficiente para a identificação de *S. aureus*, pois *S. hyicus* usualmente só produz coágulo firme após 24 horas, podendo-se considerar o coágulo firme (4+) em quatro horas suficiente para a confirmação como *S. aureus*. Porém para resultados fracos ou em tempo mais prolongado, seriam necessárias mais provas. Observaram contudo que quando o plasma de coelho rehidratado envelhece, pode tornar reações 2+ e 3+ em 4+ o que deve ser levado em consideração.

DEVRISE et al. (1971) não encontraram diferenças bioquímicas entre cepas de *S. aureus* isolados de pele sã e de lesões de dermatite em frangos. Características de cepas de *S. aureus*, isolados de frangos com dermatite, artrite e demais patologias causadas pela bactéria foram estudadas por TAKEUCHI & SUTO (1973); foram encontradas cepas de *S. aureus* isolados de dermatite de frangos coagulase positivas, com forte reação proteolítica, mas dnase negativas.

SHIMIZU (1976) encontrou uma grande homogeneidade na fagotipagem de diferentes lotes de frango, no Japão, com o grupo III sendo comum a todos os lotes. SHIDZAWA et al. (1980) estudaram outras cepas de *S. aureus*, isolados de aves com doenças estafilocócicas e de aves sadias no Japão. De 586 cepas estudadas, apenas 2,7% foram enterotoxigênicas, repartidas igualmente entre os dois grupos. A fagotipagem demonstrou pertencerem ao biotipo humano.

Um sistema simplificado para a classificação de *S. aureus* foi proposto por DEVRISE (1984), para as diferentes cepas isoladas de animais. Propôs o termo "ecovar" para designar os biotipos claramente associados a uma determinada espécie animal. O *S. aureus* de frangos seria assim correspondente ao biotipo "B" de Hájek & Marsálek, e o "ecovar" humano corresponderia ao biotipo "A" de Hájek & Marsákel. Ainda segundo o autor, os tipos específicos de animais raramente colonizariam outras espécies, enquanto que o tipo humano seria amplamente disseminado. Já a identificação de *Staphylococcus* coagulase negativos de animais e humanos revelou características bioquímicas muito diversas, em um estudo de DEVRISE et al. (1985). A identificação de vários *Staphylococcus*, realizada por ADEGOKE (1986), isolados de animais revelou um grande número de espécies. No frango, além do *S. aureus* foram isolados *S. hycus*, *Staphylococcus xylosus*, *Staphylococcus gallinarum* e *Staphylococcus sciuri*. Utilizando o esquema de Devrise, ISIGIDI et al. (1990) classificaram os *S. aureus* associados com contaminação de produtos cárneos e trabalhadores do setor. O "ecovar" de frango representou 100% dos isolamentos nas aves vivas, 97,4% dos isolados nas aves abatidas e 62,5% dos isolados em trabalhadores do abatedouro. Verificaram assim uma grande disseminação do biotipo avícola de *S. aureus* nas dependências do abatedouro.

De acordo com BAIRD-PARKER (1990) são duas as categorias de patologias produzidas pelo *Staphylococcus aureus*: a) Quadros infecciosos provocados pela ação direta do microrganismo, podendo ser localizados ou septicêmicos; b) Quadros toxêmicos provocados pela ação de suas toxinas, como síndrome tóxica e intoxicação alimentar. Esta última é de grande interesse na indústria alimentar. BARBER (1914) demonstrou pela primeira

vez que quadros clínicos de vômitos e diarreia eram devido ao *S. aureus*. Ele teria notado que o quadro clínico era causado apenas pela ingestão de creme, e não pelo leite fresco (Appurd. BAIRD-PARKER, 1990). A identificação da enterotoxina foi conseguida por DACK (1930), que a caracterizou como sendo uma proteína (Appurd. BERGDOLL, 1979)

BERGDOLL (1990) nos diz que atualmente são conhecidos cinco diferentes tipos de enterotoxina (SE): A (SEA); B (SEB); C com três subtipos :C1 (SEC1), C2 (SEC2), C3 (SEC3); D (SED) e E (SEE). São todas proteínas de caráter básico com ponto isoelétrico entre 7,0 e 8,6 e peso molecular entre 26.000 e 30.000. São resistentes às enzimas proteolíticas como tripsina, quimiotripsina e pepsina. São também termorresistentes, suportando temperaturas normais de cocção (100°C) e podendo resistir aos processos de esterilização comercial. A toxina, uma vez ingerida, estimula os receptores do nervo Vago nas paredes do estômago, ativando o centro do vômito no SNC. Os sintomas mais comuns são: vômitos e náuseas, podendo haver diarreia, febre e prostração.

BERGDOLL (1979) fala-nos de um quadro cuja instalação é muito rápida, em média entre duas e 12 horas, mas podendo ocorrer em apenas 30 minutos. Cessa também rapidamente, sem maiores problemas para adultos saudáveis, mas podendo ser perigoso para idosos, crianças ou pessoas debilitadas. A dose tóxica da SE pode ser menor que 1 micrograma.

BANAWART (1989) diz que os alimentos envolvidos são em geral ricos em carboidratos e proteínas, tais como laticínios, carnes e produtos cárneos, produtos de confeitaria recheados com cremes, etc. A situação normal de ocorrência de intoxicações é o

alimento ser processado, com destruição da microbiota original e uma recontaminação posterior do produto com *S. aureus*, ocorrendo crescimento e produção de enterotoxina. Também a atividade de água (aa) ou o teor de NaCl do produto final pode vir a favorecer o *S. aureus* já existente na matéria-prima, em detrimento da microbiota. Para BERGDOLL (1990), a temperatura é um fator associado, porque sempre deve haver um abuso de temperatura para que o *S. aureus* possa vir a crescer e produzir enterotoxina. Também considera outra situação, na qual o microrganismo produz a toxina na matéria-prima originalmente contaminada, mas acaba sendo destruído pelo processo que, no entanto, não é capaz de destruir a enterotoxina previamente formada.

Em carnes curadas, o *S. aureus* pode vir a crescer e produzir enterotoxina, visto que as concentrações dos sais de cura utilizadas não são suficientes para inibi-lo. Também pode sobreviver ao processo de defumação, se este for feito em temperatura não muito elevada, segundo MINOR & MARTH (1976). No período de 1976-1981, BANAWART (1989) relata-nos que nos EUA, carnes e produtos cárneos foram implicados em 68,8% de um total de 176 casos de intoxicação por *S. aureus*. Destes casos, o presunto foi responsável por 23,1% e carne de frango esteve envolvida em 13,1% dos casos.

TATINI (1973) e SMITH et al. (1983) revisaram alguns aspectos do *S. aureus* em alimentos. Ele possui condições de multiplicar-se em uma faixa de aa de 0,83-0,99; pH de 4,0-10,0; temperaturas de 7°C-47,8 °C e com uma halotolerância de 0-20%. Contudo, a produção de enterotoxina dá-se em uma aa mínima de 0,86, temperatura de 15°C-46°C, NaCl máximo 10% e pH mínimo de 4,5-5,0. O NaCl e pH ácido exercem efeitos combinados repressivos sobre a produção de enterotoxina. A microbiota presente no

alimento influi adversamente no crescimento e/ou na produção de enterotoxinas. A fermentação láctica parece inibir severamente o *S. aureus*, talvez por que os microrganismos lácticos produzam substâncias do tipo antibiótico. Atmosferas modificadas inibem principalmente a produção da SEB, mas também afetam a síntese das outras. Substâncias como glicose, glicerol, piruvato, etc. inibem a síntese de enterotoxina. A tiamina é necessária para a produção da SEB e, aparentemente, quando os aminoácidos são utilizados como fonte exclusiva de energia, há decréscimo da produção de SEB. Os íons Mg^{++} e K^+ estimulam a produção de SEB. A célula injuriada não é capaz de produzir enterotoxina sem antes passar por um período de reparo.

MCCOY & FABER (1966) concluíram que o *S. aureus* na carne é um fraco competidor. Cresceria melhor em carne cozida ou em cortes internos, onde a competição seria menor. Usualmente foi detectada a SEA neste tipo de substrato. *Bacillus sp.* e *Pseudomonas sp.* foram capazes de inibir fortemente o crescimento e produção da SE. A presença de *E. coli* inibiu a produção da SE, mas não o crescimento de *S. aureus*.

BAIRD-PARKER (1971) estudou a produção de SE em carnes. A SEB foi produzida em aerobiose quando foi inoculado em carne uma população de *S. aureus* na ordem de $5,0 \text{ Log}_{10} \text{ UFC/g}$ e incubando-a na temperatura de 37°C , mas não foi produzida na temperatura de 32°C ou inferiores, quando presentes microrganismos competidores.

HERTEN et al. (1989) inocularam *S. aureus* em carcaças de frango e caldos de cultura, incubando-os nas temperaturas de 15°C , 20°C , 30°C e 37°C . Na presença dos competidores *Pseudomonas sp.*, *Acinetobacter sp.* e *Alteromonas sp.* o *S. aureus* foi mais

duramente afetado nos meios de cultura que na carcaça de frango. Aos 37°C, em presença de competidores, uma população de *S. aureus* de 7,0-8,0 Log₁₀ UFC/g produziu SE; aos 30°C a produção só ocorreu quando a população de *S. aureus* foi da ordem de 9,0 Log₁₀ UFC/g; aos 20°C esta mesma população só foi capaz de produzi-la na ausência de competidores e, finalmente, aos 15°C toda a produção cessou.

3.3.2. *Staphylococcus aureus* em frango

GENIGEORGIS & SADLER (1966) estudaram 35 cepas de *Staphylococcus* sp. isolados de fígado de frangos de oito plantas de abate. Todas as cepas coagulase positiva fermentaram o manitol, enquanto que as cepas negativas apresentaram resultados variáveis. De 14 cepas coagulase positiva, sete foram enterotoxigênicas. Das quatro cepas coagulase negativa nenhuma demonstrou esta característica.

Foram encontradas por LOTTER & GENIGEORGIS (1975) cepas de *S. aureus* coagulase negativas ou fracamente positivas, produzindo a SEC. Isoladas a partir de torta congelada de galinha, apresentavam provas típicas de *S. aureus* de manitol e Dnase termoestável, revelando a análise dos seus DNA tratarem-se de mutantes. Também foram encontradas por EVANS et al. (1983) cepas de *S. aureus* isolados de necrose femoral de frango, com reação negativa para manitol, e fraca reação de coagulase, mas produtor de termonuclease e enterotoxina.

O exame de 139 cepas de *S. aureus* isolados de carcaças de frango provenientes de abatedouros norte-irlandeses, feito por HARVEY et al. (1982), revelou que, dentre elas, 35 eram enterotoxigênicas. Destas, 91,4% foram produtoras da SED e foram identificadas como pertencentes ao biotipo avícola. As

classificadas como sendo do biotipo humano produziram a SEA. Quando estas carcaças foram mantidas na temperatura de 10°C, não ocorreu multiplicação significativa do microrganismo na pele. Mantidas entre os 15°C e 22°C, houve uma significativa multiplicação, mas mesmo atingindo uma população elevada, não ocorreu detecção de enterotoxina na pele. Na Nigéria a investigação feita por ADESYUN (1984) sobre a enterotoxigenicidade de *S. aureus* isolados de produtos prontos para o consumo revelou que, em amostras de frango frito, 36% de 50 cepas eram positivas.

Características bioquímicas de 77 cepas de *S. aureus* foram examinadas por SCHIMITT et al. (1990), isoladas de diversos alimentos. No tocante à produção de enterotoxina, 11 cepas provenientes de carne e frango foram produtoras, de um total de 15. Das oito de origem humana, todas mostraram-se produtoras e, das de origem láctea, apenas sete de um total de 13. A gama de enterotoxina produzida foi grande. Apenas três cepas das 77 falharam a coagulase e foram isoladas de queijo e massas. Em termos práticos, com uma contaminação inicial não muito elevada, para cepas selvagens não adaptadas, o limite de segurança seria 15°C. As cepas produtoras da SEE, SEC e SED possuíam um estreito limite ao redor dos 30°C. As cepas originárias de frango, produziram a SEB e toleraram um amplo limite, dos 15°C aos 29°C. Recomendaram ainda cuidados rigorosos com as temperaturas de armazenamento. Para fins domésticos, sugeriram a faixa de 4°C-5°C, e com reduzido risco até 12°C, sendo um risco potencial grande a armazenagem de dias aos 14°C-15°C e por horas sob 18°C-25°C.

Os efeitos da temperatura na produção de enterotoxina foram investigados sobre talharim com ovos por GOELKER et al. (1986). Inocularam uma população de $1,7-2,0 \text{ Log}_{10}$ UFC/g de *S. aureus*, incubando em temperaturas diversas. Uma cepa foi capaz de produzir em níveis detectáveis a SEA em 72 horas/15°C. O aumento da temperatura diminuiu o tempo necessário para a detecção.

YANG et al. (1988), para estudos com o mesmo fim, inocularam três cepas de *S. aureus* em carne de peru, uma delas enterotoxigênica. Até os 23°C *Pseudomonas sp.* foi dominante; em temperaturas mais elevadas a dominância foi obtida pelas enterobactérias, sobre todas as três cepas. Com a cocção prévia da carne, foi detectado o crescimento de *S. aureus*, reduzido aos 10°C e maior entre os 15°C-20°C. O crescimento foi maior na ausência de competidores. Com uma população final de $7,0 \text{ Log}_{10}$ UFC/g de *S. aureus*, em apenas uma de seis amostras inoculadas com cepa enterotoxigênica foi detectada enterotoxina, após cinco dias/15°C. ISIGIDI et al. (1992) encontraram o predomínio do "ecovar" frango em abatedouros belgas e, no Zaire o humano. Apenas os pertencentes ao grupo humano mostraram-se enterotoxigênicos, e para fins de saúde pública o "ecovar" do frango seria pouco relevante.

A comparação dos métodos de amostragem, idade das aves e região do corpo, feita por DEVRISE et al. (1975), mostrou que, em aves sadias, através da lavagem de carcaças, recuperavam-se maiores contagens de *S. aureus* nas aves jovens. Já o trato intestinal apresentou contagens baixas nas três faixas etárias estudadas. Em aves com dermatites, um número muito elevado de *S. aureus* foi encontrado. A colonização por *S. aureus* foi considerada como um fenômeno da superfície da pele, existindo,

porém, uma boa correlação entre a lavagem das fossas nasais e a superfície do corpo, o que sugeriu a possibilidade da colonização da pele se iniciar pelas fossas nasais. Uma outra possibilidade foi sugerida por ROSKEY & HANDY (1975). Para eles, a origem da contaminação por *S. aureus* seria a partir dos ferimentos na pele, que seriam responsáveis pela persistência de *S. aureus* no frango. A partir dos ferimentos, cepas naturalmente resistentes aos fatores bactericidas e bacteriostáticos seriam selecionadas, disseminando-se pela epiderme.

A colonização de *Staphylococcus* em lotes industriais de frangos foi estudada por THOMPSON et al. (1980). Em galinhas matrizes apenas uma de 48 aves amostradas não foi isolado *S. aureus*. Nas áreas de incubação, a bactéria não foi encontrada, assim como nos ovos ou em pintos de um dia. Contudo, aves criadas em gaiolas já apresentavam uma significativa proporção de portadoras de *S. aureus* antes da nona semana, com uma contaminação considerada baixa. Por volta da 50ª semana, 100% das aves amostradas estavam contaminadas. A representatividade da população de *S. aureus* em relação a microbiota global da pele foi muito pequena nas primeiras semanas, mas, nas aves adultas, representava mais de 10% desta população. A tipificação feita com fagos identificou os *S. aureus* isolados como sendo do biotipo aviário. Possivelmente a bactéria se introduziria por intermédio dos ovos no setor de sexagem e os lotes não sexados apresentavam baixa contaminação nas semanas iniciais. Porém, ambos os lotes apresentavam cerca de 100% de portadores quando atingiam a maturidade.

3.3.3. *Staphylococcus aureus* em abatedouros de frangos

Trabalhando em abatedouros de aves na Irlanda do Norte, GIBBS et al. (1978^{a,b}) utilizaram-se de uma nova série de fagos e classificaram as cepas de *S. aureus* isoladas de carcaças de frango e perus no processo de abate em três grupos: "A", "B" e "C". Das cepas isoladas, 46% foram positivas para enterotoxina e, destas, 75% produziram a SEA. Situando dentro do abatedouro estes grupos, encontraram nas aves mais velhas maiores contagens de *S. aureus* na pele do que nas aves jovens. Além das aves, o microrganismo foi isolado de mãos de manipuladores, facas, superfícies e das carcaças em todos os pontos da linha. Encontraram um alto número de cepas não tipificáveis, cuja fonte provável seria a ave viva. Todas as cepas produziram enterotoxina, sendo o grupo "B" com a maior porcentagem de produtores.

GIBBS et al. (1978^c) estabeleceram um quadro da disseminação do *S. aureus* no abatedouro. Em um período de seis anos, encontraram um contínuo aumento da contaminação nas carcaças de frango e peru produzidas. O aumento foi tanto no número de carcaças contaminadas quanto nas contagens obtidas. Isolaram o microrganismo de todas as áreas da planta, excetuando-se as águas do tanque de resfriamento e de escalda. A fagotipagem revelou o predomínio do grupo "E₂" nas aves vivas e carcaças escaldadas, enquanto que nas carcaças depenadas o grupo "C" predominou. A investigação dos dedos de borracha das depenadeiras revelou um aumento de um a dois ciclos log₁₀ das contagens de *S. aureus* após duas horas de operação.

O fagotipo "C" foi isolado das três máquinas, em maior número na segunda. A desinfecção com cloro destes dedos não foi eficiente. Como a superfície destes dedos é irregular e apresenta fissuras profundas decorrentes do uso continuado, o *S. aureus* deve se albergar aí. O acúmulo de penas, resíduos de pele mais o vapor e umidade do ambiente oferecem um ambiente favorável à sobrevivência e multiplicação do microrganismo. O fagotipo "C" foi considerado endêmico da planta. Em estudo posterior, GIBBS & PATTERSON (1978) verificaram que esta cepa era selecionada na presença da microbiota oriunda da pele de frango, tornando-se dominante em relação às demais cepas de *S. aureus* presentes no frango.

NORTERMANS et al. (1982) encontraram, em um conjunto de quatro plantas de abate, um aumento da contaminação de *S. aureus* após a depenagem ou após a evisceração. Esta colonização foi relativamente baixa antes da escalda. Apesar das origens dos lotes serem diferentes, a fagotipagem após o processamento revelou um reduzido número de cepas, sendo que elas introduziam-se em pontos específicos da linha, coincidentes com o aumento da contaminação. Passados estes pontos, o espectro de cepas não se alterava mais. Considerou como endêmica da planta tais cepas. Um estudo desta contaminação no equipamento, feita por PURDY et al. (1988), revelou que, após modificações no ajuste da depenadeira e redução na dosagem de cloro, houve um rápido aumento da contaminação por *S. aureus*. Esta contaminação iniciou-se na primeira depenadeira, extendendo-se à terceira máquina ao cabo de 38 dias. A contaminação da pele das carcaças que saíam da depenadeira também aumentou neste período, apresentando o microrganismo uma grande capacidade de colonização.

Através de plasmídios, DOOD et al. (1987) puderam estudar a mudança de cepas de *S. aureus* dentro de um abatedouro de frangos. Em estudos posteriores, DOOD et al. (1988^{a,b}), encontraram uma grande preponderância de uma cepa que era detectada em níveis mínimos anteriormente. Estas apresentaram capacidade de crescimento em agregados quando cultivadas em meio líquido. Tais cepas teriam uma maior capacidade de sobrevivência à escalda e colonizariam a depenadeira. Após o resfriamento por imersão esta contaminação por *S. aureus* diminuiu. Estas características de cepas endêmicas e não endêmicas também foram estudadas por MEAD et al. (1989). O tipo de crescimento mucóide e em grumos variou consideravelmente conforme o meio de cultura utilizado. Indubitavelmente, porém, foram características muito mais comuns nas cepas endêmicas e devem favorecê-las na colonização dos equipamentos.

A contaminação dos frangos por *S. aureus* seria maior no verão que no inverno, entre cinco e 20 vezes, de acordo com DOOD et al. (1988^a). Esta diferença, entretanto, tornava-se insignificante após a passagem das carcaças pela depenadeira. A contaminação das aves reduzia-se cerca de 100 vezes após a escalda e aumentava cerca de 1000 vezes após a depenagem. A limpeza mais vigorosa realizada na segunda-feira reduzia a contaminação, que se reequilibrava dois dias após. Atribuíram às condições da depenadeira e a algumas características das cepas endêmicas (maior capacidade de aderência) como fatores que possibilitariam a sobrevivência e competitividade do *S. aureus*.

As cepas "endêmicas" e "não endêmicas" de *S. aureus* foram testadas frente ao cloro por MEAD & ADAMS (1986). Testando pelo contato direto entre desinfetante e microrganismo, em uma concentração de 1 mg/l de cloro, obtiveram uma redução de quatro ciclos logarítmicos nas cepas não endêmicas e de dois ciclos logarítmicos para as cepas endêmicas.

Esta diferença foi considerada relevante, pois em uma planta de abate a abundância de matéria orgânica inativa o cloro rapidamente, e, além disto, nos dedos de borracha da depenadeira o contato do cloro com a bactéria é dificultado pelas ranhuras e rachaduras. BOLTON et al. (1988) utilizaram concentrações de 5 mg/l de cloro encontrando uma sobrevivência de 80% da população inicial das cepas formadoras de grumos, contra 20% das não formadoras. A destruição dos grumos bacterianos com ultrassom aumentou a mortalidade em três vezes, mas ainda assim a sobrevivência foi maior do que das cepas não formadoras de grumos.

3.4. Outras bactérias de importância no abate de frangos

3.4.1. *Clostridium perfringens*:

Bastonete Gram positivo, esporulado e anaeróbio. Faz parte da microbiota normal do trato intestinal dos animais. Também é habitante do solo. É causador de processos de intoxicação alimentar moderados ou severos. Em animais saudáveis, se encontra em maiores números nas porções do ceco e do cólon.

BARNES (1972) conseguiu isolar esta bactéria dentro de abatedouro em todos os pontos do processo. LILLARD (1971) encontrou grande número deste microrganismo nos pés, penas e pele do pescoço das aves. Também encontrou grande número de amostras positivas na água de escalda (69,2%) e no tanque de resfriamento (25%). A presença da bactéria nas águas se daria pelo efeito de lavagem das carcaças contaminadas, que acabariam por contaminar as demais.

3.4.2. *Campylobacter jejuni*:

Bastonete curvo, Gram negativo, não esporulado, cresce em microaerofilia com ótimo de temperatura nos 42°C. Presente em alimentos, pode vir a causar surtos gastro-intestinais. A presença da bactéria em carcaças de frango é considerada como um risco em potencial para infecção em humanos. Presente no trato gastro-intestinal de aves, sendo sua incidência em carcaças de frangos reportada em faixas muito amplas nos Estados Unidos e na Grã-Bretanha por SHANKER et al. (1982) e KINDE et al. (1983). Em Israel foi verificado por JUVEN & ROGOL (1986) que não há troca de sorotipos em aves previamente contaminadas, durante o processo "Kosher" (imersão em salmoura).

ODSTEROM et al. (1983) verificaram que o processo de escaldagem não é suficiente para a eliminação de toda a carga contaminante de *Campylobacter jejuni* da pele do frango. Embora seja muito sensível ao ressecamento e ao frio, o efeito é muito reduzido no microrganismo que está na carcaça, porque esta oferece um efeito protetor. Entretanto a incapacidade do *C. jejuni* de se reproduzir em temperaturas inferiores a 30°C, e não conseguir sobreviver em superfícies do abatedouro pela pouca umidade, faz com que o problema de contaminação cruzada seja mínimo, e a higienização e limpeza bastante eficientes sobre o microrganismo

WEMPE et al. (1983) estudaram a prevalência de *C. jejuni* em plantas de abate de frangos. Isolaram a bactéria da água de lavagem da depenadeira e da água reciclada de dentro da planta, podendo o uso desta água na recepção recontaminar a planta. Houve uma grande e significativa diferença de contaminação nos isolamentos de diferentes lotes, entre 60% e 100%. A lavagem de carcaças ao final da evisceração foi eficiente na redução da contaminação. O tanque de resfriamento representaria um dos maiores pontos de contaminação cruzada.

3.4.3. *Listeria monocytogenes*

Bacilo Gram positivo não esporulado, parasita intracelular facultativo. Está envolvido em vários processos patogênicos, podendo causar abortos e meningites. É capaz de sobreviver à pasteurização e também capaz de crescer em temperaturas de refrigeração (GENIGEORGIS et al., 1991).

L. monocytogenes foi encontrada em até 60% das amostras de carcaças de frango resfriadas ou congeladas no mercado; entretanto HUDSON & MEAD (1989) não detectaram a bactéria nas aves antes e após a escalda, tampouco na sua água, assim como na depenadeira, em planta de abate de frango. HART et al. (1991) encontraram inibição de *L. monocytogenes* em frango sob refrigeração e atmosfera modificada. Acima dos 15°C, não houve inibição. WIMPFHEIMER et al. (1990) verificaram que as diferenças de comportamento sob refrigeração e atmosferas modificadas podem permitir crescimento de *L. monocytogenes* e inibir a microbiota deteriorante. Os efeitos combinados do sal, nitritos e temperatura foram estudados por McCLURE et al. (1991), e podem impedir proliferação da bactéria em pH ácido ou temperaturas abaixo de 20°C.

3.4.4. Coliformes

Bactérias pertencentes à Família *ENTEROBACTERIACEAE*, composta por muitos gêneros. Podem habitar o meio ambiente e o intestino de animais, algumas são encontradas unicamente no intestino. São bastonetes Gram negativos. São utilizadas como índice de higiene e contaminação fecal, ainda que possam englobar grupos patogênicos.

NOTERMANS et al. (1977) verificaram que o grupo é praticamente eliminado da pele da ave na escalda a 60°C, mas temperaturas mais baixas têm pequeno efeito sobre a contagem na superfície da ave. Poderiam, portanto, serem utilizadas como indicadores de contaminação fecal durante o processo, desde que as temperaturas da escalda sejam elevadas. Caso contrário as contagens de coliformes irão refletir a contaminação pré-existente, e não a adquirida durante o processo.

BLANKESHIP et al. (1975) encontraram um incremento nas contagens de coliformes durante o decorrer do período de trabalho e, por isto, foi recomendada a lavagem com aspersão de água das carcaças por cinco segundos antes de entrarem no tanque de resfriamento a fim de ser remover a contaminação da evisceração. Esta lavagem deve ser tanto por dentro quanto por fora da carcaça para a redução da contaminação.

3.4.5. *Salmonella* sp.

Bastonete Gram negativo, não esporulado, da Família *ENTEROBACTERIACEAE*. Causadora de processos infecciosos em humanos e animais, comumente processos intestinais. Não é considerada como participante normal da microbiota do intestino, mas animais podem ser portadores assintomáticos da bactéria e eliminarem-na.

A *Salmonella* sp foi detectada por BERCHIERI et al. (1987) em todos os pontos de uma planta de abate, exceto na água de alimentação. Não apenas nas aves, houve isolamentos também em subprodutos tais como farinha de vísceras e penas, assim como em carcaças prontas para o abate. As cepas isoladas mostraram uma mesma resistência aos antibióticos comumente utilizados em avicultura, e, provavelmente, as aves introduziriam o microrganismo no abatedouro. Fela farinha de penas e vísceras, utilizada na ração das aves, a bactéria retornaria à granja.

LILLARD (1990) relata que pesquisa realizada pelo Serviço de Inspeção dos Estados Unidos demonstrou que 5% das aves que chegavam ao abatedouro estavam contaminadas por *Salmonella* sp., enquanto que 36% das carcaças que saíam para o consumo estavam contaminadas por *Salmonella* sp. O estudo dentro do abatedouro apontou diversos pontos como responsáveis pela contaminação pelo microrganismo. Assim, para este microrganismo não existiria um ponto específico a ser responsabilizado pela disseminação. Entretanto, foi observado que o tanque de resfriamento é um local privilegiado para a contaminação cruzada. As carcaças são lavadas e a bactéria retirada, passando às outras. Das amostras de água de escalda, 15,3% foram positivas e da água do resfriamento, 52,6% foram positivas para *Salmonella* sp.

O relato de altos níveis de carcaças contaminadas no mercado foi feito por McBRIDE et al. (1980). Apontaram diversos pontos de contaminação cruzada para *Salmonella* sp., tais como a depenadeira, a escalda, evisceração e resfriamento. HUMPREY et al. (1984) conseguiram reduzir a contaminação cruzada no tanque de escalda por *Salmonella typhimurium* mantendo um pH 9,0 e a temperatura em 52°C. Esta redução seria interessante para a diminuição da contaminação cruzada nas etapas posteriores. Lotes possuidores de uma grande contaminação externa ou interna apresentariam uma alta contaminação ao final do processo.

3.5. Higiene e sanificação em abatedouros

A limpeza e sanificação são partes essenciais do processo de produção de alimentos. Para que seja eficiente é pré-requisito que os equipamentos e a planta facilitem as operações. Há também necessidade de avaliar-se a natureza dos resíduos e contaminação, o tipo de superfície a ser limpo, a dureza da água e o grau de limpeza que se pretende atingir. Os resíduos proteicos e gordurosos são de difícil remoção, são insolúveis em água, solúveis em álcali e, submetidos ao calor, podem se desnaturar (proteínas) ou se polimerizar (gorduras), dificultando mais a sua remoção, de acordo com TROLLER (1983).

Uma avaliação dos processos de limpeza e dos materiais empregados nos equipamentos demonstrou ser a borracha o material onde há maior acúmulo de sujeira, ocasionando inclusive proliferação bacteriana. O processo ideal de limpeza deverá remover todos os resíduos de sujeira que servem de nutrientes para bactérias, pois todos os colonizadores de equipamentos são heterotróficos e dependem do aporte de nutrientes para sua reprodução. A sujeira pode ser uma barreira física aos sanificantes ou reagir com eles, inativando-os. A sequência da contaminação é: deposição de bactérias, aderência, remoção parcial pela lavagem, reprodução no interciclo e contaminação do alimento. No aço e borracha predominam os *MICROCOCCACEAE*. De todos os materiais a borracha é o que mais se desgastou com o tempo, sendo o mais difícil de se higienizar. O microrganismo fica protegido nas ranhuras e o sanificante não pode agir. Os parâmetros mais importantes para avaliação de um processo de limpeza são a quantidade de sujeira que foi removida e a eliminação das bactérias que são efetivamente contaminantes. Na avaliação de sanificantes, a injúria bacteriana deve ser levada em conta (DUNSMORE, 1981; DUNSMORE & THOMSON, 1981; DUNSMORE et al., 1981^{a,b}).

3.5.1. Sanificantes

Na indústria de alimentos em geral utilizam-se compostos halogênicos e compostos quaternários de amônio (CQA) como sanificantes, sendo estes os sanificantes mais recomendados em planta de abate de frango. Como procedimentos na área de abate de frangos recomendam-se que sejam diários e os seguintes: pré-rinse com água 50°C-55°C sobre equipamentos e piso, aplicação de detergente alcalino com pressão e enxágue como no pré-rinse. Só após fazer aplicação de sanificante. Se o cloro for utilizado, aplicar solução de pelo menos 50 mg/l (TROLLER, 1983).

3.5.1.1. Cloro

Segundo MERCER & SOMMERS (1957), inicialmente o cloro foi utilizado como antisséptico por Semmelweis, Koch e Dakin. O cloro passou a ser utilizado como sanificante na rede de água de consumo apenas no final do séc. XIX. A partir de 1912, nos Estados Unidos, passou então a ser utilizado em plantas de leite na forma de hipoclorito de cálcio. O uso de cloro na indústria, então, seria altamente interessante na prevenção do acúmulo de bactérias e sujidades sobre os equipamentos, assim como evitando odores estranhos devido à fermentação dos resíduos. Apesar destas vantagens, seu uso não deve ser indiscriminado, podendo conferir odores estranhos, sendo seu uso restrito a água, e não entrar em contato com compostos fenólicos.

O mecanismo de ação mais provável do cloro como desinfetante seria um mecanismo de oxidação ou por ligação com grupamentos amina do protoplasma bacteriano, inativando certas enzimas essenciais, provavelmente aquelas com grupos sulfidrílica. Porém, uma outra possibilidade de sua atuação seria pela alteração da síntese proteica, reação com ácidos nucleicos com surgimento de aberrações cromossômicas que interfeririam no metabolismo oxidativo, ou ainda pela formação de cloraminas tóxicas no citoplasma bacteriano (TROLLER, 1983). Além disto, uma outra forma de ação sugerida por CAMPER & McFETERS (1979) seria através de lesões de membrana, especialmente o transporte extracelular de nutrientes como possíveis sítios de ação do cloro.

Segundo MERCER & SOMMERS (1957) e TROLLER (1983), na forma de hipoclorito de sódio ou cálcio, o composto, quando em solução, libera cloro sob forma de HOCl. Quando se mistura o hipoclorito na água, este reage com a matéria orgânica e inorgânica (nitritos) presente, a chamada demanda de cloro. O cloro residual é a porção que resta sob forma livre. Assim o cloro disponível não é sinônimo de cloro ativo. Quando se adicionam quantidades intermitentes de hipoclorito a água, esta vai reagindo com os inativantes até saturá-los, atingindo o ponto de quebra. A partir daí, qualquer quantidade adicionada irá levar a um aumento do cloro residual livre. Outro fator que afeta a ação do hipoclorito de sódio como desinfetante é o pH. Em pH ácido ele se mantém não dissociado (HOCl), forma mais ativa, enquanto que em pH alcalino ele se dissocia (H^+ / OCl^-) e diminui seu poder desinfetante. Ao pH 5,0, 99% está sob forma HOCl; ao pH 8,0 apenas 69,7% nesta forma. Uma mesma concentração de cloro em pH ácido tem um tempo de redução de população bacteriana menor que em pH alcalino. Geralmente o hipoclorito de sódio é veiculado em meio fortemente alcalino por ser mais estável, e concentrações elevadas devem ser tamponadas para se manter uma faixa de pH adequada para a sua ação. A matéria orgânica alcaliniza o meio, prejudicando a ação do cloro.

A temperatura influencia na ação, e um aumento de 10°C corresponde a uma redução de 65% no tempo necessário para a redução de uma população bacteriana. Pode ter efeito corrosivo sobre equipamentos e é irritante para pele e mucosas. Como é altamente instável em solução, não deve ser estocado e a solução de uso deve ser preparada na hora do uso, conforme MERCER & SOMMERS (1957) e TROLLER (1983).

SEYFRIED & FRASER (1980) estudaram *Pseudomonas aeruginosa* isoladas de piscinas, encontraram maiores contagens e isolamentos da água quando o pH estava na faixa de 7,3-7,6. Frente a condições ótimas de laboratório a bactéria foi sensível ao cloro. Algumas cepas produtoras de limo foram mais resistentes ao cloro. No tocante às formas bacterianas, ele foi ativo tanto em células vegetativas quanto em formas esporuladas, mas estas foram mais resistentes exigindo concentrações de 10 até 100 vezes maiores. Um estudo de RIDGWAY & OLSON (1982) demonstrou que bactérias filamentosas, como *Actynomicetes sp.*, são mais resistentes ao cloro. Bactérias residentes em um sistema de distribuição de água clorado foram significativamente mais resistentes ao cloro livre ou combinado do que as provenientes de um sistema não clorado. O cloro possivelmente pode agir como um forte agente seletivo de bactérias resistentes.

BIANCO et al. (1986) nos dizem que pelas restrições do hipoclorito, principalmente no tocante à inativação por matéria orgânica e instabilidade, têm-se buscado formas mais estáveis como fonte de cloro na indústria cárnica. Afinal, uma solução de hipoclorito 5% aos 20°C decompõe-se 3% ao dia. Por outro lado formas de pó, como cloramina e cloramina-T, são estáveis na armazenagem e liberam cloro apenas quando em solução. O uso de cloro em alimentos é importante do ponto de vista microbiológico,

mas atua também sobre o alimento, verificando-se uma elevação no índice de peróxido de carnes imergidas em solução de cloro. A elevação deste índice de peróxido é proporcional ao período de exposição e o hipoclorito de sódio mostra-se levemente superior à cloramina neste aspecto. As cloraminas são tóxicas para as células eucarióticas, mas a análise cromatográfica de carnes mergulhadas ou aspergidas com cloramina-T não revelaram resíduos detectáveis. Um estudo comparativo feito por TANNER (1989) mostrou que de onze compostos desinfetantes, o dióxido de cloro mostrou-se o mais eficiente.

3.5.1.2. Iodo

O iodo tem sido utilizado há muito tempo e é altamente eficiente. FREDELL (1985) fez uma extensa revisão sobre o assunto. Quando o composto é utilizado com surfactante como carreador, torna-se estável e libera lentamente o iodo quando em solução. Reage livremente com proteínas, exercendo atividade bactericida. É ativo na forma livre e inativo em forma de ácido hipiodado. Em relação ao pH é mais eficiente na faixa ácida, estando a forma de I_2 superior em eficiência às formas I_3^- , I^- , encontradas em pH alcalino. O tipo de surfactante influencia a facilidade com que o iodo será liberado. Finalmente um fator limitante é a solubilidade do iodo em água, cujo limite é 300 mg/l. Atinge amplo espectro bacteriano. Quanto ao pH, a eficiência dos iodóforos praticamente não se altera até o pH 8,0, caindo drasticamente no intervalo 8,0-10,0. A dureza da água pouco influi na eficiência. Em pH ácido, o iodo inativa enzimas agindo sobre grupos sulfidrila proteicos; em pH alcalino, reage com a histidina e tirosina, inativando a catalase. Por isto apresenta alguma ação ainda em pH alcalino

é muito utilizado como desinfetante de mãos e pele. Sua forma mais comum de utilização é como iodóforo, associado a agentes tensoativos e ácido fosfórico. Ganha assim propriedades de detergência e é, na realidade, um detergente-sanificante. Como o cloro, atinge todo o espectro bacteriano, mas não é tão eficiente contra esporos. Em geral é utilizado na concentração de 50-70 mg/l, no pH 3,0 e esta acidez previne formação de depósitos minerais. Pode conferir cor a plásticos e borrachas e se descolore frente a matéria orgânica, isto pode servir como um vago indicativo de sua concentração, como diz HARRIOT (1983). Em usina de leite foi verificado por DUNSMORE et al. (1981^a) que os iodóforos não exerciam atividade antimicrobiana significativa quando aplicados antes da limpeza. Por isto devem ser aplicados no interciclo após a remoção dos resíduos de leite e a tubulação drenada antes das operações para remoção dos resquícios do sanificante.

3.5.1.3. Compostos Quaternários de Amônio (CQA)

São essencialmente sais de amônio cujos hidrogênios são substituídos por grupos alquil ou aril mais um ânion, geralmente Cl^- ou Br^- , responsável pela solubilidade em água. Comparativamente ao cloro é um produto mais caro, mas não é tão corrosivo, é estável ainda que diluído, não irritante e não é tão afetado por matéria orgânica. São classificados como detergentes catiônicos, mas possuem uma pobre ação de detergência, podendo ter uma boa ação bactericida. São mais eficientes que os halógenos contra os fungos e são o sanificante mais indicado contra *Listeria monocytogenes*. Entretanto não são eficientes contra esporos, nem contra a maioria das bactérias Gram negativas, apesar disto formam filmes bacteriostáticos sobre superfícies, impedindo seu desenvolvimento. São compatíveis com

água dura, não são afetados pela matéria orgânica nem pH, não são irritantes para pele e mucosas e nem conferem odores nas suas concentrações de uso. São incompatíveis com detergentes aniônicos e não devem ser utilizados sobre superfícies que entram em contato com alimentos, de acordo com MARRIOT (1983).

A temperatura pode influenciar a ação deste tipo de sanificante. Um produto quaternário de amônio testado por FREKE & HAGGIE (1981) aos 20°C sobre *S. aureus* não apresentou nenhuma eficiência, aos 53°C foi bastante eficiente, e aos 80°C foi altamente eficiente. Compostos quaternários de amônio testados por TANNER (1989) foram mais eficientes sobre *S. aureus* do que sobre *Pseudomonas sp.*.

Como sanificantes tensoativos formam películas sobre a superfície dos equipamentos, SCHIMIDT (1987) entende que devido a isto necessita-se maiores volumes de água para a eliminação de resíduos. Verificou que uma sanificação com solução 0,1% sem enxágue deixaria tanto resíduo quanto uma solução 1% seguido de um máximo de enxágue. Se por um lado este resíduo exerce uma ação bacteriostática, pode também exercer uma ação seletiva favorecendo as bactérias Gram negativas em detrimento das Gram positivas, especialmente nas indústrias de carnes

3.5.2. Aspectos Higiênicos da Produção

SCOTT & BLOOMFIELD (1990^{a,b}) demonstraram que o *S. aureus* possui grande capacidade de sobrevivência em roupas e superfícies, inclusive se reproduzindo nas primeiras quatro horas. Houve grande transferência da bactérias dos dedos para superfícies. A descontaminação foi mais eficiente em contagens baixas. Em roupas, hipoclorito de sódio 400 mg/l pode eliminar totalmente a contaminação.

HEINZEL & DUSSELDORF (1984) enfatizaram aspectos de higiene na produção de alimentos. Bactérias como o *S. aureus* são frequentes em feridas de pele de trabalhadores e habitantes normais do nasofaringe. Deve haver uma separação entre zonas "suja" e "limpas", evitando-se o trânsito entre elas. Atenção especial deve ser dada à higienização das mãos, desinfetadas após lavagem. A proteção de feridas com bandagens e do cabelo com toucas são importantes pois são fontes de *S. aureus*. Outro estudo, realizado por SHEENA & STILLES (1983), detalhou aspectos de limpeza e lavagem de mãos de operários neste tipo de indústria. Trabalhadores cuja atividade deixavam as mãos visivelmente mais sujas dispensavam maiores cuidados na lavagem e conseguiam uma maior redução bacteriana do que outros onde não havia sujeira tão visível. As melhores reduções bacterianas foram obtidas com o uso de clorohexidina 0,2% e iodóforo 0,75%. Mesmo o mais eficiente dos desinfetantes não foi capaz de eliminar uma contaminação natural ou artificial de *E. coli* ou de *MICROCOCCACEAE*. Esta última família apresentou-se como maior contaminante nas mãos de operários deste tipo de indústria, e é também mais resistente à remoção por lavagem e desinfecção do que os grupos de enterobactérias ou mesófilos em geral.

SCHMIDT & BEHM (1978) analisaram alguns dos métodos de limpeza e sanificação utilizados. O uso de equipamentos de jatos de água sob alta pressão pode disseminar a contaminação por aerossóis. A etapa do enxague é importante por remover não apenas restos de detritos e agente limpantes, como também bactérias suspensas na água de lavagem. A sanificação deve ser posterior a este e é importante para impedir a multiplicação bacteriana nos intervalos de operação.

3.5.3. Adesão bacteriana e suas consequências

O estudo sobre biofilmes utilizando o leite em pó como agente formador em superfícies, de CHATUVERDI & MAXCY (1969), revelou que o ponto crítico para a sobrevivência e multiplicação bacteriana estaria na concentração de resíduos em superfícies secas, sendo proporcional a esta. A natureza do material seria também importante, oferecendo o aço inox melhores condições de sobrevivência que o vidro. Tal efeito se estende sobre os sanificantes, o hipoclorito de cálcio e CQA 200 mg/l exerceram um melhor controle sobre uma superfície de vidro do que aço. A umidade remanescente após o enxágue é fator de importância na capacidade de multiplicação e sobrevivência bacteriana.

BENEDICT (1988) revisou o fenômeno da adesão bacteriana. Todas as bactérias possuem capacidade de aderir a superfícies, inclusive pele e músculo. Uma vez ali aderida, a remoção dela torna-se bastante difícil, sendo resistente à ação de sanificantes e calor. Algumas das variáveis envolvidas no fenômeno da aderência de *Pseudomonas sp.* em superfície de poliestireno foram pesquisadas por FLETCHER (1977). Esta capacidade foi afetada pela concentração e idade da cultura. Culturas em fase logarítmica apresentaram uma grande facilidade de adesão, e a saturação não foi alcançada na fase de declínio da cultura. Temperaturas baixas (30°C) diminuíram a taxa de aderência. ZOLTAI (1981) observou à microscopia eletrônica a formação de material fibroso nos bordos de célula de *Pseudomonas fragi* aderida em superfície. A formação de polímeros extracelulares por *Pseudomonas sp.* aumentaria em decorrência do tempo e dificultaria a remoção mecânica em superfície inox, em estudo de DUDDRIDGE et al. (1982).

STANLEY (1983) reduziu a aderência de *Pseudomonas sp.* pela remoção dos flagelos. Soluções salinas aumentaram a adesão, e o pH ideal para a adesão variou na faixa de 4,8-7,0. De acordo com BENEDICT (1988) o glicocálix da célula bacteriana seria um importante fator na aderência. A aproximação entre bactéria e superfície seria dada pela motilidade, no caso das móveis, ou força de propulsão nas imóveis. No caso específico de *Staphylococcus sp.*, haveria um sítio próprio responsável pela aderência, localizado na molécula de fibronectina, que é um componente do plasma e tecido conjuntivo. Em outros tipos de bactérias, a produção de material mucóide extracelular seria responsável. As bactérias Gram negativas seriam menos influenciadas por pH e temperatura, e neste grupo as móveis apresentaram uma capacidade superior de aderência em relação às imóveis.

Pesquisas mostraram que a pele de frango apresenta condições ótimas para a ocorrência de adesão, não havendo diferença entre adesão de bactérias Gram positivas ou Gram negativas em carcaça de frangos. Foram encontradas maiores taxas de adesão nos primeiros 15 minutos de contato. Atribuiu-se às cargas elétricas existentes entre bactéria e pele de frango a responsabilidade da atração inicial. Em relação a carcaças de frango inteiras ou em partes, não houve diferenças (LILLARD, 1985). BIBEL et al. (1983) verificaram que em uma população mista, *S. aureus* era melhor competidor do que *Pseudomonas aeruginosa* e pior que as bactérias *Coriniformes sp.* na adesão em superfície celular. Porém se o *S. aureus* estivesse aderido anteriormente aos *Coriniformes sp.*, ele tornava-se dominante. Possivelmente isto aconteceu devido à concorrência pelos mesmos sítios de aderência.

NORTERMANS & KAMPALMACHER (1975^{a,b}) observaram a modificação da curva de destruição térmica das bactérias mesófilas aderidas à pele de frango, havendo inicialmente uma grande mortalidade seguida de estabilização. No tanque de escalda, as bactérias aderidas não foram removidas facilmente pelo efeito de lavagem e eram mais resistentes à temperatura. A imersão das carcaças por tempo prolongado na água acarretou a transferência dos microrganismos do filme d'água para a pele. Existiu também um aumento na termorresistência de enterobactérias aderidas à pele de frango.

AVENS & MILLER (1970) encontraram maior dificuldade na recuperação de bactérias na pele de frango pelo método de "swab" devido à aderência, especialmente daquelas que se encontram na intimidade do tecido, e variações na delimitação da área amostrada. Porém para THOMSON et al. (1976^a) a variação na delimitação da área não influenciaria o resultado, e para LILLARD et al. (1987) não haveria diferenças significativas na recuperação de bactérias na pele de frango entre os métodos de "swab", lavagem de carcaças ou maceração de pele.

A desinfecção de biofilmes formados por populações mistas de *Pseudomonas sp.*, *Moraxella sp.* e *Klebsiella pneumoniae* foi estudada por LeCHEVALLIER et al. (1988) que utilizaram vários compostos à base de cloro. Para bactérias não aderidas, a ordem decrescente de eficiência foi: HOCl, ClO₂, OCl⁻ e NH₂Cl. Entretanto para bactérias aderidas, o último composto apresentou um maior poder de redução, provavelmente por possuir maior poder de penetração. *Enterobacter cloacae* foi capaz de resistir a uma cloração de 0,8 mg/l em estudo de HERSON et al. (1987). A porcentagem de células aderidas foi diretamente proporcional ao tempo disponível para a aderência, e o aumento da cloração fez com que aumentasse a porcentagem de bactérias aderidas no total de sobreviventes de um sistema estudado.

LeCHEVALIER et al. (1984) estudando a aderência de bactérias a grânulos carbono encontraram um aumento da resistência de *Pseudomona sp.* frente à solução 1,7 mg/l de cloro. Entretanto, na população de células livres, a redução foi muito grande. Patógenos aderidos apresentaram algum grau de injúria, mas apenas um pequeno decréscimo na viabilidade. A aderência seria o mecanismo primário de resistência, por diminuir a superfície de interação com o produto, aumentar a carga de matéria orgânica e a demanda de cloro. Para RIDGWAY & OLSON (1982), o mecanismo de resistência ao cloro em sistemas de distribuição de água deve se dar pela formação de agregados celulares e adesão à matéria em suspensão. HOLAH et al. (1990) encontraram um aumento de resistência de até 300 vezes em bactérias aderidas. Em superfícies com reentrâncias, o sanificante não foi capaz de penetrar. Devido a tudo isto, segundo HOLAH & THORPE (1990), testes de diluição de uso não são válidos se feitos pelo método de suspensão.

Em relação à injúria bacteriana, SCHEUSNER et al. (1971) detectaram uma maior porcentagem de injúria quando baixas concentrações de sanificante foram utilizadas. Recomendaram, assim, certa precaução nos testes de sanificantes. Utilizando DQA, obtiveram uma grande porcentagem de células injuriadas nos primeiros 30 segundos, estabilizando-se depois. As maiores taxas de injúria bacteriana ocorreram nas temperaturas entre os 0°C e 20°C. Estas células devem permanecer viáveis utilizando suas reservas endógenas de nutrientes e necessitam de meios especiais para a sua recuperação. A recuperação de *S. aureus* injuriados, estudado por VAN NETEN et al. (1990), não pareceu ser afetada no meio seletivo de Baird-Parker, quando esta foi de origem térmica.

3.5.4. Higiene e Sanificação no Abate Frangos

A cloração da água é um dos recursos mais utilizados na tentativa de se diminuir ou evitar a contaminação bacteriana. THOMSON et al. (1979) estudaram a redução de *Salmonella sp.* através da cloração da água do tanque resfriador. Concluíram que cloração de 50 mg/l é capaz de reduzir a contaminação cruzada, não havendo, porém, eficiência desta cloração sobre a contaminação da carcaca.

WABECK et al. (1968) utilizaram o hipoclorito de sódio nas concentrações de 20-40 mg/l sem causar alterações organolépticas na carne. A imersão de carne em solução de hipoclorito ocasionou, entretanto, uma rápida depleção do sanificante. Este efeito pode ser inibido levemente na presença de surfactantes aniônicos. Concentrações de 20-40 mg/l em água foram suficientes para a destruição de *Salmonella sp.* ($4,0 \log_{10}$ UFC/ml) livre, mas não são úteis na redução de contaminação em coxas de frango artificialmente inoculadas.

A cloração (10-20 mg/l) de água em planta de abate de frango foi testada por MEAD et al. (1975). A utilização de "spray" não foi eficiente, mas houve uma considerável melhoria da qualidade microbiológica no resfriamento por imersão. O efeito foi atribuído a uma melhoria da lavagem das carcaças, sem entretanto ser bactericida na água porque a inativação do cloro é muito rápida devido à abundância de matéria orgânica. Sem levar em conta este aspecto, o estudo de LILLARD et al. (1984) considerou o "spray" de água clorada para a lavagem de carcaças como um método eficaz na melhoria da qualidade microbiológica da

carcaça de frango. Esta conclusão foi encontrada comparando-se a qualidade de frangos desossados não eviscerados, lavados imediatamente após a depenagem e escalda. ANDERSON et al. (1977^a) sanificaram carne com 200-250 mg/l de cloro e obtiveram uma contagem total, após 48 horas de refrigeração, igual a inicial da não sanificada.

MARSHALL et al. (1977) aplicaram hipoclorito 200-250 mg/l, pH 6,0, em peças de carne através de "spray", e observaram que a velocidade da passagem da peça de carne pelo sanificante era um fator de influência na redução bacteriana. A recuperação da população bacteriana por "swab" foi considerada enganosa porque se restringe à superfície e neste local, além ser grande o número de células injuriadas pelo sanificante, ocorria um efeito danoso adicional pela dessecação de estocagem. Outra tentativa de sanificação de carne foi feita por ANDERSON et al. (1977^b), mediante o uso comparativo de hipoclorito de sódio 220-250 mg/l, COA 3,78 g/l e ácido acético 4% na sanificação de carnes. O CAQ exerceu um efeito seletivo sobre a microbiota, favorecendo os catalase positivos, oxidase positivos e não fermentativos, que são os principais deteriorantes da carne e, por isto, mostrou-se de escassa utilidade. Este efeito não foi encontrado nos outros sanificantes.

LILLARD (1980) testou comparativamente cloro e dióxido de cloro como sanificantes em abatedouro de frangos. Com 34 mg/l de cloro e 5 mg/l do dióxido de cloro, reduziu coliformes fecais ao ponto de não detecção. Com 20 mg/l de cloro e 3 mg/l de dióxido de cloro, obteve redução de um ciclo \log_{10} em relação ao não tratado. Todos os tratamentos foram eficientes na redução de *Salmonella* sp., produzindo um aumento na vida de prateleira das carcaças. O dióxido de cloro para a desinfecção de carcaças de frango foi testado na água do tanque resfriador, com 20 mg/l de cloro livre, sendo capaz de eliminar totalmente a contaminação por *Salmonella* sp. Este produto possui vantagens adicionais em relação a outras fontes usuais de cloro, como hipoclorito, por não ser afetado pela matéria orgânica e não ter sua ação influenciada pelo pH, segundo estudo de VILARREAL et al. (1990).

BAILEY et al. (1986) obtiveram a redução de *Salmonella* sp. na superfície de equipamentos artificialmente inoculados, mediante uso de "spray" com 40 mg/l de cloro em até 96%, e o "spray" sem cloro por si reduziu em até 50%. O uso constante disto sobre os equipamentos impediu a acumulação bacteriana. A cloração na faixa de 20 mg/l na planta seria suficiente para se reduzir significativamente a contaminação cruzada por patógenos.

O hipoclorito de sódio foi considerado o sanificante de eleição em plantas de abate por TSAI et al. (1992), pelo seu baixo custo, disponibilidade e eficiência. Porém na água do tanque resfriador de carcaças, cloração de 40 mg/l reduziu a população bacteriana em apenas dois-três ciclos \log_{10} em cinco minutos, e para conseguir redução de 99,5% foram necessários 100-150 mg/l. Em contraste, na água potável, esta redução foi obtida em menos de cinco minutos com apenas 2-5 mg/l para *E. coli*. A baixa eficácia no tanque de resfriamento foi atribuída a abundância de matéria orgânica, calcularam em 400 mg/l a quantia necessária para suplantar a demanda de cloro; com concentrações menores é possível que a cloração seja transitória e apenas nas imediações do ponto de introdução.

PARK et al. (1991) sanificaram carnes e vegetais com solução de 1480 mg/l de cloro pH 7,0, misturando com tensoativos e ácidos orgânicos. Em frango, uma contaminação artificial com *Salmonella* sp. na ordem de 8,0 \log_{10} UFC/g foi reduzida em três ou quatro ciclos \log_{10} em 10 minutos, e seis ciclos \log_{10} em 20 minutos. Não houve alteração significativa na carne, apenas o índice de peróxido em frango picado sofreu um incremento.

MORRISON & FLEET (1985) experimentaram diversos tratamentos de imersão para a redução de *Salmonella* sp. e coliformes em carcaças de frangos inoculadas artificialmente. A imersão pura e simples em água foi suficiente para desalojar 50-60% do inóculo inicial. Aumentando-se a temperatura para 60°C, a redução de *Salmonella* sp. foi de 90% e a de coliformes de 99% do inicial. A cloração com 500 mg/l reduziu a contaminação de *Salmonella* sp. para faixas de 54-78 % do inicial e coliformes para 54-98 %. Uma cloração de 200 mg/l com temperatura de 60°C por 10 minutos. foi capaz de reduzir *Salmonella* sp. em 99,9%.

3.5.5. Ácidos Orgânicos na redução da contaminação bacteriana

SMULDERS et. al (1986) apontaram limitações no uso de ácidos orgânicos em planta de abate para reduzir contaminações bacterianas, porque podem mascarar deficiências higiênicas. Entretanto, ao final do processo, não haveria restrições no seu uso para redução de contagens bacterianas, eliminação de patógenos e aumento da vida de prateleira. Os ácidos orgânicos são efetivos na forma dissociada, penetrando no protoplasma bacteriano e acidificando seu interior, danificando ou destruindo a célula. Seu efeito é limitado às contaminações baixas, reduzindo contagens em três ou quatro ciclos \log_{10} . São mais efetivos em temperaturas altas e podem descolorir carnes. A aplicação de ácido láctico 1,25%, no estudo de WOOLTHUIS & SMULDERS (1985), reduziu o pH da carne para 3,7 em duas horas e 5,6 após 24 horas. Este efeito traduziu-se no aumento da vida de prateleira da carne, provavelmente pelo aumento da fase estacionária das bactérias. Os ácidos orgânicos, além de afetar o pH intracelular, e o metabolismo bacteriano, possivelmente lesam o DNA, impedindo ou dificultando sua replicação, segundo estudos de CHERRINGTON et al. (1990) e CHERRINGTON et al. (1991^{a,b}).

BLANKESHIP (1981) encontrou mais injúria que letalidade em *Salmonella bareilly* com ácido acético 0,03 N e ácido láctico 0,02 N. Os testes bioquímicos demoraram mais tempo para dar o resultado, e abaixo dos 10°C estabilizou-se a taxa de injúria. BOHM (1987) testou ácidos orgânicos e vinagre em testes de suspensão. As bactérias Gram positivas foram mais resistentes, mas sempre houve redução, e a presença de proteínas diminuiu a eficiência. Passagens sucessivas de *E. coli* em pH ácido fez com que o microrganismo ficasse mais resistente, sobrevivendo em maiores taxas ao tratamento com ácido propiônico 1,25 mM, em um estudo de GOODSON & ROWBURY (1989^{a,b}).

Foi obtido aumento da vida de prateleira e redução das contagens bacterianas, por QUARTNEY-PAPAFIO et al. (1980), em carnes mediante a aplicação de ácido acético e fórmico nas concentrações de 1%, 2% e 3%. O ácido fórmico, porém, causou alteração na cor das carnes. BIEMULLER et al. (1973) também verificaram alteração de cor em carcaças suínas com a aplicação de ácido acético com pH 1,5 e 2,0, o que reduziu a contagem total em dois ciclos \log_{10} . OCKERMAN et al. (1974) utilizaram ácido acético 18% com boa redução das contagens bacterianas. O ácido láctico não foi tão eficiente. O ácido acético também foi utilizado por ANDERSON et al. (1977^b) para este fim. Na concentração de 3%, utilizado por aspersão mostrou-se eficiente no prolongamento da vida de prateleira de cortes de carne.

Uma solução de 4% de ácido acético também causou uma grande redução inicial das contagens bacterianas, extendendo-se por 48 horas esta redução. Tal efeito prolongado não foi observado nos hipocloritos. ZEITOUN & DEBEVERE (1990) com aspersão ou imersão de coxas de frango em solução ácido láctico 10% tamponado reduziram contagens de psicrófilos em 1,3 ciclo \log_{10} . A extensão da vida de prateleira seria dada pela inibição

das bactérias formadoras de H_2S . WOOLTHUIS & SMULDERS (1985) melhoraram as condições higiênico-sanitárias de fígado suíno imergindo-os em solução 0,2% de ácido láctico, e a maior eficiência foi encontrada quando esta operação foi realizada antes da bactéria ter se aderido.

MORRISON & FLEET (1985) testaram métodos de imersão para a redução de *Salmonella* sp.. Com o uso de ácido láctico 0,25%, "in vitro", lograram bons resultados, mas sobre o mesmo microorganismo na carcaça de frango não conseguiram reproduzi-los. Sorbato de potássio mostrou alguma eficiência a 2,5% em temperaturas de $60^{\circ}C$ e com cloração de 200 mg/l, sem causar alteração muito grande no aspecto da carcaça. O sorbato de potássio, utilizado na concentração de 5% por TO & ROBACH (1980), pode ocasionar um significativo aumento na vida de prateleira, quando as carcaças foram imergidas na solução por um minuto. A redução na contagem total de bactérias foi da ordem de dois ciclos \log_{10} . Houve também controle do crescimento de *Salmonella* sp. e *S. aureus* com este tratamento

OKREND et al. (1986) acidificaram a água da escalda ($52^{\circ}C$) com ácido acético para verificar as taxas de destruição de *Salmonella typhimurium*, *Salmonella newport* e *Campylobacter jejuni* na água do tanque. Uma concentração do ácido de 1% ocasionou um pH 3,8, com um marcante efeito sobre o valor "D" da *Salmonella* sp., causando contudo um forte odor. Uma concentração de 0,2% deixou menos cheiro, mas foi menos efetiva na destruição das bactérias. Apesar disto, foi considerado um método eficiente para a redução da contaminação cruzada no tanque de escalda.

LILLARD et al. (1987) reduziram a carga de *Salmonella* sp. em carcaças com 0,5% ácido acético no tanque de escalda. HUMPREY & LANNING (1987) alcalinizaram o pH da água de escaldagem



com NaOH, mas sobre *Salmonella* sp. e *Campylobacter* sp. houve pouco efeito, esta medida dificultou a depenagem. COX et al. (1974) avaliaram o uso de ácido succínico e calor para aumentar a vida de prateleira das carcaças de frango; concluíram que as concentrações de 3-5% eram eficientes, porém causam alteração no aspecto das carcaças. THOMSON et al. (1976^b) adicionaram ácido succínico na concentração de 1% , acompanhado de tratamento térmico (55°C), simulando a escalda. Esta medida se mostrou realmente efetiva na destruição de *Salmonella* sp. no frango, mas alterou a aparência das carcaças, deixando a pele frágil.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Detecção e contagem de *Staphylococcus aureus* e microrganismos mesófilos em diferentes pontos do abatedouro durante as operações

4.1.1. Detecção e contagem de *S. aureus* e microrganismos mesófilos na pele de frangos nas operações de: sangria, escalda, depenagem, evisceração e resfriamento.

As amostras foram recolhidas em abatedouro na região de Jundiaí, São Paulo, dotado de Inspeção Federal. A evisceração era mecanizada e a velocidade de abate era de 5.000 aves/hora.

Amostragem. Foi utilizado o método destrutivo. Assim as amostras constituíram-se de fragmentos de pele da região do pescoço e sobre-coxa/dorso. De cada ponto selecionado, 20 aves foram retiradas da linha de abate. Destas, 10 foram amostradas, retirando-se a pele em um peso total aproximado de 200 a 250 gramas. As amostras de pele foram coletadas com auxílio de

bisturi e pinça estéreis e depositadas em placa de Petri estéril. Para a coleta das amostras de pele, as carcaças de frangos foram retiradas da linha imediatamente após as seguintes operações de abate: -Sangria (FIG. 1, ponto 1)

-Escalda(FIG. 1, ponto 4)

-Depenagem (FIG. 1, ponto 7)

-Evisceração(FIG. 1, ponto 15)

-Resfriamento.(FIG. 1, ponto 16)

Em uma primeira etapa analisou-se as carcaças da sala "suja" (escalda e depenagem) e, posteriormente, procedeu-se a análise das carcaças das demais salas do abatedouro. Nesta etapa, carcaças da sala suja continuaram sendo analisadas para obtenção de um quadro geral da contaminação no abatedouro. Nas etapas em que o frango ainda possuía penas (sangria e escalda), estas foram manualmente retiradas com os devidos cuidados de assepsia para evitar contaminação pelas mãos. As amostras foram acondicionadas em caixa de isopor com gelo durante o transporte até o laboratório e processadas imediatamente.

Contagem de *S. aureus*. Foi utilizada a metodologia descrita em SPECK (1984), seguindo as seguintes etapas: A partir da pele coletada, foi feita homogenização de 25 g de pele em 225 ml de solução salina peptonada (SSP) em homogenizador mecânico*, sendo esta a diluição 10^{-1} e, a partir desta, foram feitas as subseqüentes diluições decimais em tubo para o plaqueamento. As diluições decimais preparadas foram plaqueadas em duplicata na superfície de placas de Petri, contendo o meio de Baird-Parker** adicionado de solução de gema de ovo e telurito de potássio***. Foram utilizadas três alíquotas de

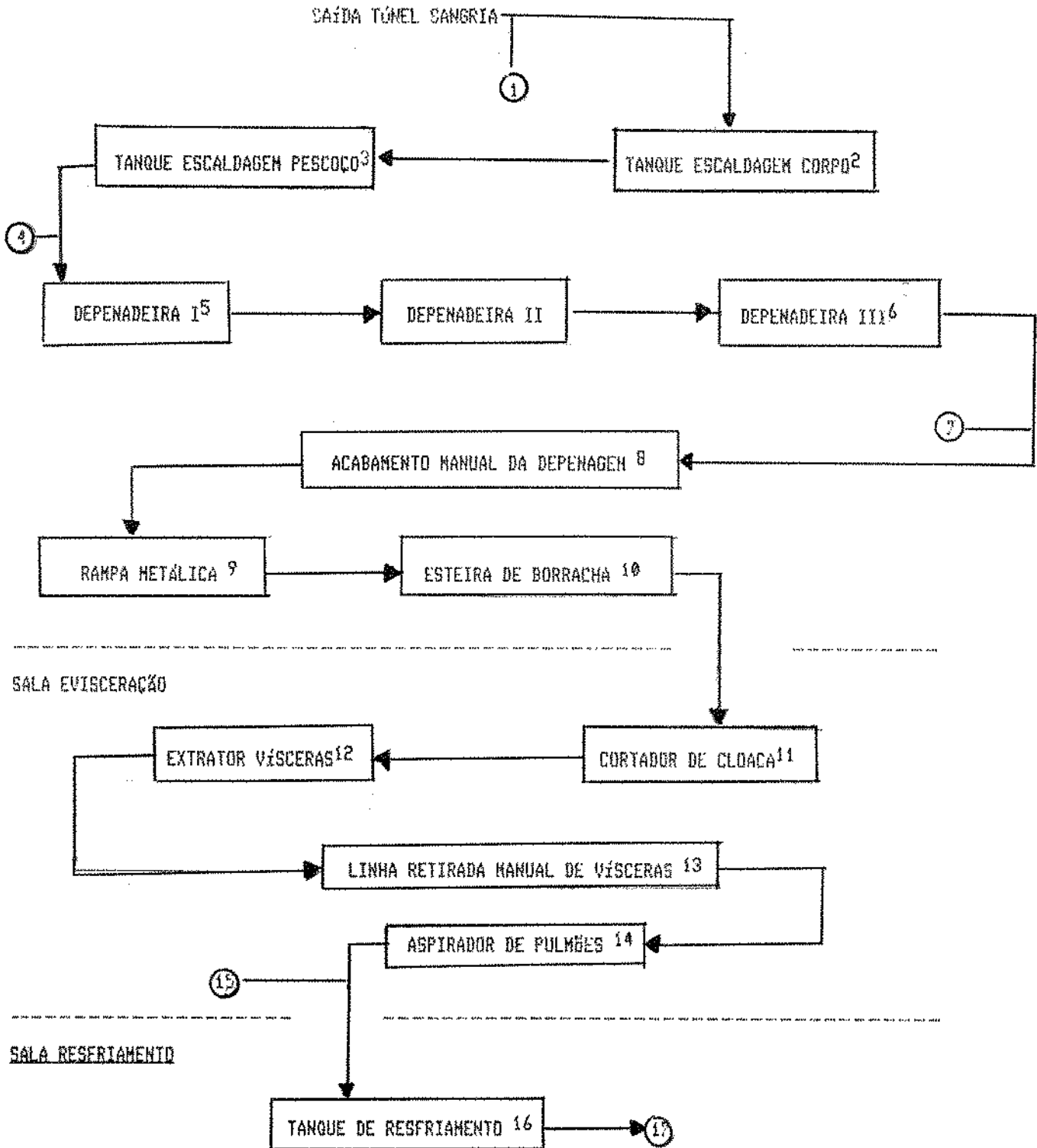
*Stomacher mod. Ba 6021

**Difco

***Sigma

FIGURA 1. Fluxograma esquemático da linha de abate

SALA ESCALDA E DEPENAGEM



0,3 ml e uma de 0,1 ml de cada diluição para o plaqueamento, perfazendo assim 1 ml de sementeira. Cada diluição foi plaqueada em duplicata. As placas foram incubadas a 37°C por 48 horas antes da leituras, obtendo-se assim a contagem de *S. aureus* na forma de UFC/g de pele.

Contagem de microrganismos mesófilos totais. Foi utilizada a metodologia descrita em SPECK (1984). A contagem de microrganismos mesófilos foi feita a partir da mesma amostra e do mesmo homogenizado descrito na contagem de *S. aureus*, sendo feitas diluições decimias adicionais para possibilitar a contagem e obtenção na forma de UFC/g de pele. De cada diluição, foi feito plaqueamento em duplicata em profundidade ("pour-plate"). Um mililitro de cada diluição foi colocado em placa e, sobre este, vertido agar para contagem padrão (Plate Count Agar, "PCA"*) e homogenizado. Foram incubadas a 35°C por 24-48 horas antes de se fazer a leitura.

4.1.1.1 Detecção e contagem de *S. aureus* na pele de carcaças de frango saídas da depenadeira no decorrer do funcionamento do equipamento.

Foram retiradas as 20 primeiras carcaças de frango a passarem pela depenadeira do dia (FIG. 1, ponto 7). Após 2 horas de funcionamento normal do equipamento, mais 20 foram retiradas. Finalmente, ao término da jornada matinal, foram separadas as últimas 20 carcaças a passarem pelo equipamento. A retirada das amostras de pele, transporte e preparo da amostra para contagem de *S. aureus* seguiram todas as etapas e metodologia conforme o descrito em 4.1.1.

*Difco

4.1.2. Detecção e contagem de *S. aureus* nos dedos da depenadeira.

Amostragem. Foram amostradas a primeira (FIG. 1, ponto 5) e terceira (FIG. 1, ponto 6) depenadeiras sequenciais.

Os dedos de borracha foram manipulados com papel estéril, cortados com bisturi estéril e acondicionados em frascos de vidro estéril. As amostras foram coletadas com a máquina limpa, antes do início do trabalho, imediatamente após a interrupção das operações matinais e imediatamente após a higienização rotineira do equipamento neste período. As amostras foram acondicionadas em caixa de isopor com gelo durante o transporte até o laboratório e processadas imediatamente.

Contagem de *S. aureus*. A amostra foi preparada seguindo os seguintes passos: cada dedo de borracha foi enxaguado manualmente, agitando-se vigorosamente por 10 minutos dentro do próprio vidro de coleta contendo 100 ml de solução salina peptonada e, a partir desta suspensão, foram feitas diluições decimais em tubo para o isolamento e contagem de *S. aureus* na forma de UFC/ml de lavado. A metodologia seguida para isto foi a descrita em SPECK (1984).

4.1.3. Detecção e contagem de *S. aureus* e microrganismos mesófilos nas águas de escaída e resfriamento de carcaças de frangos durante o processamento.

Amostragem. As amostras de água, num volume aproximado de 250 ml, foram coletadas em frascos de vidro estéreis. Nos frascos para coleta de amostra de água do tanque de resfriamento (FIG. 1, ponto 15) adicionou-se 0,1 ml de solução de tiosulfato

de sódio* 10% para neutralização do cloro. No momento da coleta, registrou-se a temperatura do tanque através do termômetro do mesmo. Também o pH foi registrado com fita indicadora pH 0-14**. A cloração foi determinada com "Kit"*** para determinação de cloro.

As amostras de água dos tanques de escaalda (FIG. 1, ponto 2 & 3) foram coletadas durante o intervalo das operações, enquanto as amostras do tanque de resfriamento puderam ser coletadas durante seu funcionamento. O tanque de resfriamento era abastecido de água nova no sentido do contrafluxo das carcaças. Neste tanque, coletou-se amostra em dois pontos. Um imediatamente no ponto de entrada da água de renovação e saída das carcaças, e um segundo ponto na metade do tanque. As amostras foram acondicionadas em caixa de isopor com gelo durante o transporte até o laboratório e processadas imediatamente.

Contagem de *S. aureus*. Foi utilizada a metodologia descrita em SPECK (1984), seguindo os seguintes passos: as amostras de água foram homogenizadas no frasco por agitação manual previamente ao preparo das diluições decimais em solução salina peptonada; foi feito plaqueamento em superfície, obtendo-se a contagem de *S. aureus* em UFC/ml de amostra.

*Reagen

**Fita indicadora Merck art. 9535

***Quant-Cloro, Micronal

Contagem de microrganismos mesófilos Foi utilizada a metodologia descrita em SPECK (1984), seguindo os mesmos passos descritos na contagem de *S. aureus*. Foi também utilizada a amostra original obtida no abatedouro, fazendo-se diluições adicionais para obter-se a contagem de microrganismos mesófilos na forma de UFC/ml de amostra.

4.1.4. Detecção de *S. aureus* na superfície de equipamentos da sala de depenagem, de evisceração e mãos de operários.

Amostragem. As amostras de superfícies de equipamentos e mãos de operários foram coletadas com palhetas para amostragem de superfícies para isolamento de *Staphylococcus* sp. Foi utilizado "kit" com palhetas contendo agar sal-manitol*, que ficavam dentro de tubo plástico estéril, selado com tampa rosqueável, na qual se prendia a palheta. No momento do teste, estas eram retiradas do tubo, seguradas pela tampa, e pressionadas suavemente contra a superfície a ser amostrada durante alguns segundos e recolocadas na embalagem. As amostras foram acondicionadas em caixa de isopor com gelo durante o transporte até o laboratório e processadas imediatamente.

*Palhetas Nutrilab-S

Pontos amostrados na sala de penagem:

-Mãos do operário que realizava o acabamento manual da penagem, sem luvas, postado imediatamente na saída das máquinas penadeiras. Foram amostradas ambas as mãos, pois, para realizar a tarefa, as duas mãos do trabalhador tocavam a pele das carcaças. (FIG. 1, ponto 8)

-Rampa metálica pela qual as carcaças deslizavam após o corte dos pés. (FIG. 1, ponto 9)

-Esteira de borracha que transportava as carcaças para serem recolocadas nas nórias e entrarem na sala de evisceração. Esta esteira foi amostrada antes e após o processo de limpeza. (FIG. 1, ponto 10)

Pontos de amostragem na sala de evisceração:

-Cortador automático da cloaca. (FIG. 1, ponto 11)

-Extrator automático das vísceras abdominais. Este aparelho extraía as vísceras da cavidade abdominal, mas não as retirava da carcaça. (FIG. 1, ponto 12)

-Mãos do operário que retirava os intestinos da carcaça. Foi amostrada apenas a mão direita, pois para a realização da tarefa o operário agarrava com ela a carcaça, sem proteção de luva. A mão esquerda era protegida por luva e com ela os intestinos eram retirados da carcaça. (FIG. 1, ponto 13)

-Tubo aspirador de pulmões. Foi amostrado o interior do tubo, logo na sua extremidade de entrada. (FIG. 1, ponto 14)

Identificação de *S. aureus*. A palheta trazida do abatedouro foi incubada a 37°C por 24 horas. O crescimento suspeito mudava a cor do meio vermelho para o amarelo, indicando a fermentação do manitol. Este crescimento suspeito foi estriado em placas com meio de agar Baird-Parker para isolamento de colônias de *S. aureus*. A sequência da identificação seguiu o descrito no item 4.1.5, omitindo-se, neste caso, a prova de fermentação do manitol.

4.1.5. Contagem e caracterização das colônias de *S. aureus*.

Alíquotas das diluições decimais preparadas foram plaqueadas em duplicata na superfície de placas de Petri, contendo o meio de Baird-Parker adicionado de solução de gema de ovo e telurito de potássio. Foram utilizadas três alíquotas de 0,3 ml e uma de 0,1 ml de cada diluição para plaqueamento, perfazendo assim 1 ml de sementeira. Cada diluição foi plaqueada em duplicata. As placas foram incubadas a 37°C por 48 horas antes de se fazer a leitura.

Após o período de incubação procedeu-se a leitura. Foram computadas em conjunto as quatro placas que totalizavam uma diluição, obtendo-se o resultado direto em 1 ml.

Consideraram-se como típicas todas as colônias negras, pequenas e que apresentavam halo ao seu redor. A observação do halo fez-se contra a luz, para permitir a perfeita visualização de halos não muito desenvolvidos. Considerou-se qualquer halo, mesmo único, como suficiente para selecionar a colônia para testes confirmatórios.

A confirmação de *S. aureus* foi feita através da observação de morfologia, pelo método de Gram, prova de catalase em lâmina, coagulase em tubo, fermentação do manitol e presença de enzima Dnase termoestável. Todos os testes bioquímicos foram monitorados paralelamente com uma cepa CCT de *S. aureus*, previamente testada e positiva para as provas.

Coloração de Gram: Na visualização da morfologia procurou-se cocos irregularmente agrupados em forma de cachos de uva e Gram positivos (cor violeta/azul-escuro). Esfregaço da colônia foi feito em lâmina de microscopia e fixado na chama. Cobriu-se a lâmina com Cristal Violeta por um minuto, lavou-se em água corrente, cobrindo-se novamente com lugol. Nova lavagem foi feita em água, seguida de lavagem por 15 segundos com álcool etílico. Coloração de fundo foi feita com Fucsina de Zhiel, cobrindo-se a lâmina por 30 segundos. Após lavagem com água e secagem foi feita a observação microscópica.

Catalase em lâmina: A catalase em lâmina foi verificada depositando-se uma gota de H₂O₂ 30% sobre lâmina. Com auxílio de agulha microbiológica, previamente flambada, foi retirado material das colônias da placa e homogenizado com o reagente. A formação de borbulhas (efervescência) indicou resultado positivo para a catalase.

Coagulase em tubo: O teste de coagulase das colônias foi realizado através do repique das mesmas colônias utilizadas anteriormente, em tubos de ensaio contendo 3 ml de caldo infuso cérebro-coração (Brain Heart Infusion, BHI)*, incubação a 37°C por 24 horas. Após este período de incubação, 0,1 ml do cultivo foi adicionado em tubo de ensaio contendo 0,3 de plasma diluído e incubados em Banho-Maria (B.M)** a 37°C por 6 horas. A leitura era feita periodicamente neste período. Os tubos que não formavam coágulo firme (4+ ou 3+) neste intervalo eram deixados em temperatura ambiente, de um dia para outro, para nova leitura de reações lentas e descarte. O plasma de coelho era obtido na forma liofilizada*** e suspenso em solução salina 0,85% estéril.

Fermentação do manitol: A prova de fermentação do manitol foi realizada em meio para fermentação Manitol-vermelho de fenol****. Colônias suspeitas foram repicadas em tubos contendo 5 ml do meio e selados com uma camada de vaselina líquida de cerca de 1 centímetro e incubados 37°C, observando-se a mudança da coloração do meio de vermelho para amarelo. A leitura da fermentação foi feita até 96 horas de incubação.

*Bifco

**Fannem

***Sigma

****Pifco

Teste de Dnase termoestável: O teste de Dnase termoestável foi feito segundo descrição de LACHIDA et al. (1971). Placas de Petri foram preparadas com agar-Dnase* abrindo-se orifícios no agar com auxílio de pipeta Pasteur. As colônias para o teste eram previamente repicadas em caldo BHI** por 24 horas e incubadas 37°C. Após a incubação uma gota do cultivo era retirada com pipeta Pasteur estéril e colocada dentro do orifício até a borda, para a prova de dnase.

Após este procedimento, os tubos com a cultura foram colocados em banho de água fervente durante 15 minutos. Foi retirada uma gota de cultivo dos tubos e colocada nos orifícios da placa, para observação da termoestabilidade da Dnase. As placas assim preparadas foram colocadas em estufa 37°C para a reação. Após 4 horas, procedeu-se a leitura, verificando-se a hidrólise do DNA através da formação de um halo róseo ao redor dos orifícios inoculados. O resultado positivo deveria aparecer tanto para a cultura viva (Dnase) quanto na cultura submetida à fervura (Dnase termoestável).

As culturas caracterizadas como *S. aureus* foram semeadas em tubos de ensaio rosqueados de 13x100 mm, contendo agar Infuso Cérebro-Coração (Brain Heart Infusion; BHI)*** inclinado. Foram incubados a 37°C por 24 horas antes de serem guardados em geladeira para testes futuros.

*Formulado; apêndice

**Difco

***Difco

4.1.6. Contagem e caracterização das colônias de microrganismos mesófilos.

Foi utilizada a metodologia descrita para contagem de microrganismos mesófilos em SPECK (1984), com o mesmo material utilizado para *S. aureus*, conforme item 4.1, fazendo-se diluições adicionais para permitir a contagem. De cada diluição, foi feito plaqueamento em duplicata em profundidade ("pour-plate"). Um mililitro de cada diluição foi colocado em placa e, sobre este, vertido agar para contagem padrão (Plate Count Agar, "PCA"*) e homogenizado. Foram incubadas a 35°C por 24-48 horas antes de se fazer a leitura. Considerou-se para leitura as placas com contagens entre 25 e 250 colônias.

4.2. Testes de resistência térmica de cepas de *S. aureus*

Para o teste de resistência térmica foram selecionadas cepas de *S. aureus* obtidas no abatedouro, isoladas de carcaças de frangos nos pontos após sangria, após escaalda e após a depenagem. Foram utilizadas as cepas isoladas em cada coleta, considerando-se cada coleta uma cepa.

Do ponto após a sangria, foram utilizadas três cepas disponíveis, obtidas em diferentes ocasiões. Do ponto após a escaalda, foi utilizada apenas uma cepa, pois neste ponto os isolamentos de *S. aureus* foram raros, sendo esta a única disponível. Do ponto posterior à depenagem, foram utilizadas quatro cepas diferentes, obtidas nas coletas no abatedouro. Estas cepas permaneceram estocadas em tubos contendo

*Bifco

agar BHI inclinado e mantidas em geladeira, conforme foi descrito no item 4.1.5. As cepas foram examinadas às temperaturas de 50°C e 60°C. São temperaturas normalmente utilizadas na escaldagem de frangos, de acordo com as necessidades do abatedouro. Assim testou-se uma temperatura branda e outra mais elevada, esta utilizada na planta em que desenvolveram-se os trabalhos. O intuito foi verificar os efeitos da temperatura sobre *S. aureus*, uma vez que durante o processo detectou-se uma grande redução nas contagens do microrganismo após a imersão no tanque de escalda.

Os testes foram realizados com a diluição que continha aproximadamente $3,0 \log_{10}$ UFC por ml. Ensaio prévio foram feitos para a determinação da população. Tubos de ensaio com caldo TSB foram inoculados com uma alçada da cultura de *S. aureus*, incubados 24 horas/37°C, e repicados uma segunda vez nas mesmas condições. Da cultura deste segundo repique, foram feitas sucessivas diluições decimais e inoculadas em placas contendo agar BHI, pelo método de semeadura em profundidade, e incubadas 24 horas/37°C. Procedeu-se a contagem sendo, assim, determinada em qual diluição encontrar-se-ia a densidade de UFC desejada.

Para os testes, as cepas de *S. aureus* que estavam armazenadas em geladeira sofreram dois repiques sucessivos em caldo triptona de soja* (Tryptic Soy Broth "TSB") a 37°C por 24 horas. A partir do último repique, foram preparadas diluições decimais em solução fosfatada** (Tampão fosfato) para obter-se a densidade de UFC desejada. Tubos de ensaio contendo 9 ml de

*Difco

**Difco

solução salina fosfatada estéril foram previamente colocados em Banho-Maria* sob agitação. A temperatura interna dos tubos foi monitorada pela introdução de um termômetro dentro de um tubo controle. Quando o tubo controle atingia a temperatura de equilíbrio desejada, medida através do termômetro, nos tubos testes era adicionado 1 ml da diluição decimal de *S. aureus*, homogenizando-se rapidamente em agitador** de tubos, recolocando-os no Banho-Maria.

Após os tempos de um, dois, cinco e 10 minutos, cada tubo foi retirado do Banho e resfriado por imersão imediata em água com gelo. Tanto a suspensão original como aquelas que sofreram tratamento térmico tiveram a contagem de *S. aureus* determinada através do plaqueamento em duplicata de 1,0 ml das respectivas diluições decimais em agar BHI, em profundidade. As placas eram incubadas a 37°C por 24 horas antes de se fazer a leitura.

4.3. Redução da contaminação por *S. aureus* na pele de carcaças de frangos pela utilização de ácidos orgânicos.

4.3.1. Redução da contaminação por *S. aureus* da pele de carcaças de frangos através da aspersão com soluções de ácidos láctico e acético.

O teste no abatedouro foi realizado em duas etapas, em um primeiro teste utilizando-se apenas ácido láctico e um segundo teste com a utilização de ácido láctico e ácido acético. Os procedimentos para ambos os testes foram os mesmos.

*Fanem, MOD. 251

**Fanem, MOD. 112/E

Logo após a etapa de depenagem, antes da entrada na sala de evisceração (FIG. 1, ponto 10), 60 carcaças foram retiradas aleatoriamente da linha de abate. Separou-se, ao acaso, o lote em três grupos de 20 carcaças, sendo cada uma individualmente identificada e cada grupo com a mesma identificação. Um dos grupos de 20 carcaças foi aspergido com solução de ácido láctico* a 1%, outro de 20 carcaças aspergido com ácido láctico a 5% e um grupo controle, constituído de 20 carcaças sem tratamento. Para a aspersão, os grupos foram recolocados em série na linha, no ponto 10 da FIG. 1, e recebiam o tratamento com o ácido no momento em que saíam da sala de depenagem e entravam na sala de evisceração, percorrendo normalmente toda a linha de evisceração. Antes das carcaças passarem para a sala de resfriamento foram retiradas para a coleta da pele, no ponto 15 da FIG. 1. Das 20 carcaças, 10 foram amostradas aleatoriamente. Os procedimentos para a coleta da pele, transporte e preparo da amostra foram realizados como o descrito em 4.1. A contagem e identificação de *S. aureus* seguiram os passos descritos em 4.1.5 e a contagem de microrganismos mesófilos conforme o descrito em 4.1.6.

Em um segundo teste, foram utilizadas 100 carcaças divididas, também, em grupos de 20 carcaças cada. A coleta das carcaças e a marcação foram feitas do mesmo modo que no primeiro teste. Neste teste utilizou-se ácido láctico 5% e 10% e ácido acético** 1% e 5%. As carcaças foram recolocadas na linha e

*Chemco

**Chemco

aspergidas como no teste anterior. Um lote foi aspergido com solução de ácido láctico a 5%, outro aspergido com solução de ácido láctico a 10%, outro aspergido com solução de ácido acético 1%, outro aspergido com solução de ácido acético a 5%, e um grupo controle sem tratamento. Todas as carcaças, tratadas e controle, eram retornadas à linha de abate e recolhidas para exames ao final da evisceração, como anteriormente. A coleta de pele, transporte e preparação da amostra foram feitas conforme o descrito em 4.1. Para a contagem de *S. aureus* seguiu-se o descrito em 4.1.5 e a contagem de microrganismos mesófilos conforme descrito em 4.1.6.

As soluções de ácidos orgânicos foram preparadas no próprio abatedouro antes dos experimentos. A aspersão foi feita com bombas manuais do tipo de jardinagem.

4.3.2. Redução da contaminação da pele de coxas de frangos artificialmente contaminadas por *S. aureus* através da utilização de imersão em soluções de ácidos láctico e acético.

Sobre-coxas de frango foram artificialmente contaminadas com uma suspensão de cultura padrão de *S. aureus*. A cepa teste de *S. aureus* foi armazenada em refrigeração como o descrito no item 4.1.5, e foi reativada por dois repiques sucessivos em tubo de ensaio contendo caldo BHI por 24 horas a 37°C. Desta cultura, 1 ml foi adicionado a 1.000 ml de solução salina 0,85%, agitando-se mecanicamente durante 15 minutos a temperatura ambiente. Três coxas de frangos, adquiridas no comércio local, foram mergulhadas e mantidas nesta solução. Após um período de 10 minutos, foram retiradas, transferidas para copo de Becker de 1.000 ml forrado com papel

filtro, estéril e secadas em estufa por 30 minutos a 35°C. Uma das sobre-coxas foi submersa em Becker contendo 500 ml de uma solução de ácido acético a 1% por 10 minutos, outra foi imersa em ácido láctico a 5% e outra, como controle do teste, foi imersa em solução salina estéril 0,85% pelo mesmo período de tempo. Amostras de 25 g pele foram tomadas com auxílio de bisturi e pinça estéreis. Para isolamento e contagem de *S. aureus* seguiram-se todas as etapas descritas nos itens 4.1 e 4.1.5.

4.4. Teste de resistência de cepas de *S. aureus* frente a três sanificantes químicos.

Os experimentos foram conduzidos adaptando-se o método de contato de superfície conforme metodologia descrita em OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS OF THE ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRIS (1984). As cepas de *S. aureus* foram isoladas de diversos pontos do abatedouro, em diferentes coletas. As cepas foram armazenadas e mantidas sob refrigeração conforme o descrito no item 4.1.5. Foi selecionada uma cepa de cada ponto em que houve isolamento. Cada cepa selecionada foi submetida aos testes com os desinfetantes composto quaternário de amônio, hipoclorito de sódio e iodóforo. Juntamente com as cepas isoladas do abatedouro foi testada uma cepa padrão *S. aureus* CCT 1894.

As cepas de *S. aureus* utilizadas para os testes foram isoladas dos seguintes pontos:

Carcacas de frango: as cepas foram obtidas da pele de frangos imediatamente após as operações de sangria, escalda, depenagem, evisceração e resfriamento.

Equipamentos e superfícies: foram isoladas dos dedos de borracha da primeira e terceira depenadeira e da esteira de borracha condutora de carcaças da sala de escalda e depenagem. Da sala de evisceração foi obtida do aspirador de pulmões para o teste.

Trabalhadores: as cepas foram isoladas das mãos de um operário da sala de depenagem (executava acabamento manual da depenagem) e das mãos de um operário da sala de evisceração, que retirava manualmente as vísceras. Ambos precisavam segurar com as mãos as carcaças de frango para executar a tarefa.

Antes dos testes, as culturas, que eram mantidas em geladeira, sofreram dois repiques sucessivos: um em caldo triptona de soja (TSB) e outro em caldo nutriente* recomendado pela metodologia descrita na OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS OF THE ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRIS (1984), ambos incubados a 37°C por 24 horas. A cultura deste último repique foi utilizada para contaminar os cilindros.

Os cilindros de aço foram preparados para o teste da seguinte forma: foram mergulhados uma noite em solução 1N de NaOH, lavados e enxaguados por duas vezes em água destilada. Colocados em Erlenmeyer com 100 ml de solução asparagina** 0,1%, e assim esterilizados em autoclave por 15 minutos a 121°C. Estes cilindros foram retirados do frasco e colocados em contato com a cultura de *S. aureus* do caldo nutriente para a contaminação. Ficando imersos na cultura de *S. aureus* por 15 minutos, eram retirados com auxílio de alça bacteriológica, colocados em placa de Petri forrada com papel filtro estéril e colocados para secar em estufa a 37°C por 40 minutos.

*Fórmula, ver apêndice

**L-Asparagina, Ecibra

Os cilindros contaminados foram colocados em contato com as soluções dos sanificantes por um período total de 10 minutos. De minuto em minuto, um dos cilindros era retirado para a recuperação de *S. aureus*, no caldo nutriente. Os testes foram realizados em duplicata. Os cilindros, após serem retirados das diluições dos sanificantes, foram colocados em caldo nutriente e incubados por 24-48 horas a 37°C para a verificação de crescimento bacteriano. Dos tubos com crescimento era feita uma coloração de Gram e visualização microscópica para a confirmação de *S. aureus* e exclusão de possíveis tubos contaminados por outras bactérias. No caso do teste com composto de quaternário de amônio, os cilindros de tubos negativos foram transferidos para novos tubos de caldo nutriente após 24 horas de incubação, para se anular os possíveis efeitos bacteriostáticos do composto, e reincubados por 24 horas/37°C. Cada concentração de sanificante foi preparada em água destilada estéril, a partir de produto comercial concentrado, verificando-se a concentração de acordo com o sanificante. Adequações às características de cada produto foram ocasionalmente feitas e estão descritas nas seções abaixo.

4.4.1. Teste de resistência de diferentes cepas de *S. aureus* a Composto quaternário de amônio.

Foi utilizado o preparado comercial à base de cloreto de N-alquil benzil dimetilamônio*. As diluições foram feitas a partir da concentração fornecida pelo fabricante, considerando-se o teor do princípio ativo. As diluições foram feitas na base do peso/volume em água destilada estéril e com vidraria estéril.

*CABQ Buckman

Não foi ajustado o pH. Foram testadas previamente concentrações de 300 mg/l, 100 mg/l, 80 mg/l e 40 mg/l sobre cepa CCT 1894 *S. aureus* até encontrar-se uma adequada para a realização do teste com as cepas do abatedouro, que foi de 40 mg/l.

4.4.2. Teste de resistência de diferentes cepas de *S. aureus* a Hipoclorito de sódio.

Foi utilizado hipoclorito de sódio comercial*. A concentração do cloro livre foi determinada por titulação em triplicata conforme metodologia descrita em STANDARTS METHODS FOR THE EXAMINATION OF WASTES AND WASTEWATERS (1985).

A titulação foi feita com $\text{Na}_2\text{SO}_3^{**}$ previamente padronizada com Dicromato de potássio^{***} ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$), de acordo com a equação:

$$V(L)\text{Na}_2\text{SO}_3 \times N(\text{Na}_2\text{SO}_3) = \text{Massa } \text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$$

$$Eq \text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$$

*Hipoclorito de Sódio ,Chemco

**Reagen

***Reagen

Uma vez determinada a Normalidade da solução de Na_2SO_3 , esta foi estocada sob refrigeração em frasco âmbar e utilizada para a determinação do cloro livre. O cloro foi determinado por três titulações, utilizando-se solução 10% de KI, ácido acético glacial e indicador de amido, e calculado pela equação:

$$\text{Cloro livre} = \frac{\text{mL gasto de } \text{Na}_2\text{SO}_3 \times N (\text{Na}_2\text{SO}_3) \times 3,55 \times 10^4}{\text{mL da amostra}}$$

As soluções testadas tiveram seu pH ajustado em 7,0 com HCl 1N a fim de se obter uma faixa de pH ótimo tanto para a atividade do sanificante quanto para a viabilidade de *S. aureus*. Foram testadas concentrações de 3,5 mg/l, 21,1 mg/l, 50 mg/l, 100 mg/l, 150 mg/l, 200 mg/l, 350 mg/l, 500 mg/l, 1000 mg/l, 1500 mg/l e 2000 mg/l sobre cepa CCT e a partir destes testes determinada a concentração de 350 mg/l para o teste com as cepas isoladas do abatedouro.

4.4.3. Teste de resistência de diferentes cepas de *S. aureus* ao Iodóforo

As soluções de teste foram feitas a partir de produto comercial* e a concentração medida por titulação em triplicata conforme metodologia descrita em STANDARDS METHODS FOR THE EXAMINATION OF WASTES AND WASTEWATERS (1985). O pH foi o resultante da diluição, conforme o normalmente utilizado com este tipo de produto. Foram testadas concentrações de 20 mg/l, 100 mg/l e 200 mg/l sobre a cepa *S. aureus* CCT 1894 e, a partir destes testes, determinada a concentração de 100 mg/l para o teste com as cepas isoladas do abatedouro.

*Riocid, Pfizer

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Contagem de *S. aureus* e microrganismos mesófilos na pele de frangos coletados em diferentes pontos e tempos do processo de abate.

Os resultados da contagem de *S. aureus* e microrganismos mesófilos na pele de frangos coletados em diferentes pontos e tempos do processo de abate são apresentados na TABS. 1, 2 e 3, respectivamente.

A presença de *S. aureus* e microrganismos mesófilos em carcaças de frangos foi observada em todas as operações de abate estudadas, variando, apenas, a sua quantidade (TAB. 1). A colonização da pele por *S. aureus* foi maior após a depenagem e evisceração. Após escaldagem e resfriamento as carcaças apresentaram menor contaminação. No final do processo de abate, as carcaças apresentavam uma contaminação de *S. aureus* menor do que no início. Em todas as análises, a contaminação das carcaças por mesófilos foi sempre maior que a por *S. aureus*. Os mesófilos

foram encontrados em números mais elevados após a sangria, mantendo-se estes números ligeiramente mais baixos e estáveis após escaalda, depenagem e evisceração, com pequena redução após resfriamento (TAB. 2).

O quadro da contaminação da pele de carcaças de frangos por mesófilos totais foi diferente do da contaminação por *S. aureus*. O número de mesófilos (TAB. 2) decresceu continuamente a partir da entrada na linha de abate, enquanto que as contagens de *S. aureus* (TAB. 1) reduziram após a escaldagem, aumentaram após a depenagem e decresceram no resfriamento. Houve uma independência entre a contaminação geral da pele e a por *S. aureus*.

A principal origem da contaminação das carcaças de frango por *S. aureus* e microrganismos mesófilos é a microbiota da ave viva. THOMPSON et al. (1980) demonstraram que 100% das aves adultas são portadoras destes microrganismos. Nossos dados os revelaram na maioria das análises. Quando não foram detectados é que provavelmente se encontravam abaixo do limite de detecção pela metodologia empregada. Os frangos entram no abatedouro com uma carga própria variável de *S. aureus* na pele, segundo GIBBS et al. (1978^a) e NOTERMANS et al. (1982). A carga de *S. aureus* nas aves vivas pode ser influenciada por vários fatores como a presença de dermatites, sinovites e idade das ave, segundo DEVRISE et al., (1975), SHIMIZU (1976), SHIOZAWA et al. (1980) e TAKEUCHI & SUTO (1973).

A contaminação externa, como a de *S. aureus*, dissemina-se mais na etapa de depenagem. ALMEIDA & SILVA (1992) e MULDER et al., (1978) demonstraram que a contaminação de origem interna aumenta na evisceração, e a externa não cresce neste ponto, em termos de contagens por carcaça. A contagem de microrganismos mesófilos em carcaças após a evisceração apresentou, também, números muito próximos dos encontrados após a depenagem (TAB. 2).

A escalda funciona como ponto de redução da contaminação microbiana de carcaças. A contaminação cruzada pode ocorrer neste ponto. Se ela ocorrer será em baixos níveis, porque a população individual de enterobactérias por carcaça é reduzida nesta área (MULDER et al., 1976; NORTERMANN, 1977 e ALMEIDA & SILVA, 1992). Nossos dados de redução da contaminação microbiana de carcaças após a escaldagem concordam com outros publicados (DOOD et al., 1988^{a,b}; GIBBS et al., 1978^a; NORTERMANS et al., 1982).

Temperatura da água e tempo de escaldagem são os fatores responsáveis pela redução da contaminação. A escaldagem é feita, geralmente, em água com temperatura variando de 50°C a 60°C por um tempo variável. Nossas análises revelaram redução quase total da contaminação por *S. aureus* quando as carcaças eram escaldadas em água na temperatura de 58°C por cerca de um minuto (TAB. 1).

De fato, quanto maior a temperatura da água de escaldagem, maior a redução da carga microbiana das carcaças, como já salientado por vários autores (NORTERMANS et al., 1982; BRANT, 1974; MULDER, 1978; ARAFA, 1978).

As depenadeiras, aparentemente, funcionam como disseminadoras de *S. aureus* entre as carcaças. Isto explicaria o fato do grande aumento da contaminação por *S. aureus* após a depenagem nos nossos achados (TAB. 1). Este fato não se repetiu com os mesófilos (TAB. 2) provavelmente porque a depenadeira não é um nicho colonizável como o é para *S. aureus*.

Isto ficou melhor demonstrado nos nossos resultados da contagem de *S. aureus* na pele de frango, na saída da depenadeira, em diferentes períodos após o início da operação com o equipamento limpo e sanificado (TAB. 3). As primeiras carcaças

que passaram pelo equipamento apresentaram um ciclo Log_{10} a menos de contaminação que as carcaças depenadas cinco horas após no mesmo equipamento. Outros pesquisadores, com relação ao *S. aureus* em carcaças de frango durante o processo de abate, mostraram um número constante do microrganismo após a depenagem, porém variável antes (GIBBS, 1978^a).

No final da etapa de evisceração não foi encontrado uma alteração substancial nas contagens de *S. aureus* nas carcaças de frango, permanecendo número próximo ao obtido ao final da depenagem (TAB. 1). Este é um local e etapa de aumento da contaminação, também considerado um dos pontos críticos para esta contaminação segundo NOTERMANS et al. (1982), mas não para GIBBS et al (1978^a) e DOOD et al. (1988^{a,b}).

Outro ponto de redução de contaminação microbiana de carcaças no abatedouro é o resfriamento em tanques com água clorada fria. Nisto influi o volume de água por carcaça e o teor de cloro livre. Nossos dados indicaram que o nível de cloro livre precisa ser superior a 3 mg/l para afetar a contaminação por *S. aureus* (TAB. 1), isto porque encontramos uma mesma redução com a água clorada ou não. De fato, LILLARD (1990) observou que a redução foi mais pelo efeito lavagem que pela cloração. No abatedouro o cloro era utilizado na forma de hipoclorito de sódio, injetado no último tanque, no contrafluxo das carcaças, no ponto de saída. Trabalhos têm recomendado valores mais elevados de cloro livre na água de resfriamento de carcaças, p.ex. 10-20 mg/l de cloro para reduzir a contagem bacteriana total (HEAD et al., 1975); 20 mg/l, 40 mg/l ou 50 mg/l para reduzir *Salmonella* sp. aderida na pele (THOMSON et al., 1979; WABECK et al., 1968); 100 a 150 mg/l para redução de 99,5% de *E. coli* na água (TSAI et al., 1992). A aderência bacteriana à pele aumenta a resistência ao cloro (HOLAH et al., 1990; LeCHEVALIER, 1984); RIDGWAY & OLSON, 1982).

TABELA 1

Contagem de *S. aureus* na pele de frangos coletados imediatamente após diferentes operações de abate

Operações de abate	Contagem (\log_{10} ufc/g) nas repetições					Média
	1	2	3	4	5	
Após sangria ^a	4,7	3,9	<2,0	2,0	4,7	3,0
Após sangria ^b	3,8	3,6	NR	NR	NR	3,7
Após escaldagem ^a	3,1	<2,0	<2,0	NR	NR	
Após escaldagem ^b	<2,0	<2,0	<2,0	NR	NR	<2,0
Após depenagem ^a	2,6	3,0	3,0	2,8	3,6	3,0
Após depenagem ^b	3,5	2,5	NR	NR	NR	3,0
Após evisceração	NR	NR	NR	2,8	3,7	3,2
Após resfriamento	NR	NR	NR	1,3 ^c	1,9 ^d	1,6

^aPele de pescoço

^bPele de dorso e sobrecoxa

^c3,0 mg/l na saída do tanque

^dtanque sem cloração

NR = não realizado

O processo de resfriamento mostrou ser muito importante na redução da contaminação por *S. aureus* (TAB. 1) e confirma resultados de outros autores (LILLARD, 1990; MARSHALL, 1977). As carcaças sofreram uma redução de mais de um ciclo Log_{10} em relação ao ponto de entrada. Os mesófilos (TAB. 2) sofreram uma redução um pouco menor, entre 0,6 e 0,7 ciclos Log_{10} e, por estarem em número mais elevado, as carcaças ainda apresentaram uma considerável contaminação após o processo. Na realidade existia apenas um tanque com cloro residual, mesmo assim, somente até a sua metade, em nossas medições. TSAI et al. (1992) mostraram que seria necessário 400 mg/l de cloro no tanque de resfriamento para superar a depleção pela matéria orgânica. Alternativamente, existem outros compostos liberadores de cloro, como o dióxido de cloro, mais estáveis mas de maior custo por volume, porém, devido a sua dosagem e estabilidade poderia resultar em maior benefício que o hipoclorito. O uso de 3 e 5 mg/l do dióxido de cloro na água de resfriamento foi considerado eficiente na redução da contaminação das carcaças (LILLARD, 1985; VILARREAL et al. 1990).

TABELA 2

Contagem de microrganismos mesófilos na pele de frangos coletados imediatamente após diferentes etapas do processo de abate

Operações de abate	Contagem (\log_{10} ufc/g) nas repetições					Média
	1	2	3	4	5	
Após sangria ^a	5,7	5,7	5,9	6,2	6,1	5,9
Após sangria ^b	6,1	6,0	NR	NR	NR	6,0
Após escalda ^a	4,9	4,0	6,1	NR	NR	5,0
Após escalda ^b	4,7	4,4	NR	NR	NR	4,5
Após depenagem ^a	5,2	5,1	5,7	5,3	4,6	5,2
Após depenagem ^b	4,7	5,4	NR	NR	NR	5,0
Após evisceração	NR	NR	NR	5,1	4,8	4,9
Após resfriamento	NR	NR	NR	4,6 ^c	4,1 ^d	4,3

^aPele de pescoço

^bPele de dorso e sobrecoxa

^c3,0 mg/l de cloro na saída do tanque

^dtanque sem cloração

NR = não realizado

TABELA 3

Contagem de *S. aureus* na pele de frangos, na saída da depenadeira, em diferentes períodos após o início da operação com o equipamento limpo e sanificado

Tempo de operação	UFC por grama de pele
0 hora	1,7 ^a
2 horas	1,7
5 horas	2,7

^aResultados em Log₁₀

5.2. Detecção e contagem de *S. aureus* e bactérias mesófilas em diferentes áreas do abatedouro durante o abate.

5.2.1. Contagem de *S. aureus* nos dedos de borracha de depenadeiras em diferentes períodos de operação.

Quando os dedos de borracha das depenadeiras foram cortados para contagem de *S. aureus* em vários períodos de operação (TAB. 4), não foi possível constatar uma clara elevação da contaminação dos mesmos após o início do abate. Foram de amostras analisadas no início da operação com o equipamento limpo e sanificado, amostras coletadas imediatamente após o final do primeiro turno e, ao fim do dia, após lavagem com jato de água com pressão. O exame dos dedos de borracha da depenadeira I, em todas as etapas de funcionamento, apresentou contagens muito baixas de contaminação. O dedo amostrado foi o da entrada do equipamento, podendo ter ocorrido aí entrada de água quente (58°C a 60°C) da escaldagem, através das carcaças, eliminando o *S. aureus*. Já, a contaminação nos dedos da depenadeira III era mais elevada, mesmo assim de carácter irregular não permitindo conclusões. Nas lavagens dos dedos observamos claramente que os provenientes deste último equipamento deixavam mais resíduos de pele e sangue.

Nossos dados indicaram que a lavagem com jato de água sem pressão reduz mas não é suficiente para eliminar a contaminação dos dedos de borracha das depenadeiras por *S. aureus*, deixando uma população residual como já demonstrado por GIBBS et al., (1978^a). Há de se considerar, também, que *S. aureus* possui grande capacidade de sobrevivência em superfícies (SCOTT & BLOOMFIELD, 1990) e a borracha é tida como um dos materiais onde há maior acúmulo de matéria orgânica, no qual a remoção desta é mais difícil podendo restar uma população bacteriana após a

sanificação (DUNSMORE et al., 1981).

TABELA 4

Contagem de *S. aureus* nos dedos de borracha de depenadeiras em diferentes períodos de operação

Períodos de operação	<u>Depenadeira I</u>			<u>Depenadeira III</u>		
	<u>Repetições</u>			<u>Repetições</u>		
	1	2	3	1	2	3
Início da operação	<2,0 ^a	<2,0	<2,0	2,7	<2,0	<2,0
Após prim. turno	<2,0	2,7	<2,0	3,1	>3,0	5,2
Final do dia	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	3,5

^aResultados em Log₁₀ de UFC por ml de lavado

5.2.2. Contagem de *S. aureus* e microrganismos mesófilos na água dos tanques de escaldagem e de resfriamento imediatamente após o final do primeiro turno diário de abate.

Os resultados da contagem de *S. aureus* e microrganismos mesófilos na água dos tanques de escalda e de resfriamento imediatamente após o final do primeiro turno diário de abate são apresentados na TAB. 5. A temperatura da água de escaldagem do corpo e pescoço era de 58°C e 60°C respectivamente, com o pH 7,0 para ambas. A temperatura da água de resfriamento era de 6,0°C, pH de 7,0 com 3 mg/l de cloro livre na entrada e zero na metade do tanque.

As contagens de microrganismos mesófilos foram bastante variáveis nos diferentes dias, mas evidenciou-se um grande equilíbrio na população destes microrganismos nos dois tanques em amostras do mesmo dia. No tanque de resfriamento, as contagens de mesófilos foram menores na saída do que na entrada do tanque (TAB. 5).

Nenhum dos tanques de escaldagem apresentou *S. aureus* nas duas coletas, realizadas em diferentes dias ao final da jornada matinal. A elevada temperatura da água nestes tanques (58°C a 60°C) que remove, também, parte da epiderme (MULDER, 1978) deve ter eliminado a presença de *S. aureus*. De fato, nossos estudos "in vitro" de resistência térmica de cepas de *S. aureus* isoladas de frango após escaldagem e depenagem demonstrou que a temperatura de 60°C eliminou a maioria da população bacteriana entre um e dois minutos de contato (TAB. 6). No entanto, quando a temperatura de teste era de 50°C, houve sobrevivência de cepas de *S. aureus* por um período de até 10 minutos. ALLOWOOD & RUSSEL (1967), demonstraram que a partir de 55°C há uma redução linear de *S. aureus*, parecendo ser este um limite de temperatura importante e efetivo. Há de considerar que as cepas de *S. aureus* variam com um pouco em relação a termorresistência como mostra a TABS. 7, 8 e 9. Esta característica serviria para selecionar cepas termorresistentes em alimentos tornando-as endêmicas nos abatedouros (BUSTA, 1976; GIBBS, 1978^a).

DOOD et al., (1988^{a,b}) e GIBBS et al. (1978^a) relataram uma grande redução de *S. aureus* nas carcaças, embora o microrganismo continuasse presente em menores números, e detectaram a bactéria na água do tanque cuja temperatura era entre 50 a 56°C.

NOTERMANS et al. (1982) trabalharam com quatro abatedouros diferentes. Naqueles com escalda a 60°C, encontraram resultados bastante semelhantes aos nossos, ou seja uma

eliminação quase total da contaminação da pele e ausência da bactéria na água do tanque. Em outros dois abatedouros, com água de escaalda ao redor de 50°C-56°C, encontraram uma redução semelhante ao trabalhos de DOOD et al. (1988^{a,b}) e GIBBS et al. (1978^a).

BRANT (1974) e MULDER et al. (1978), em diferentes estudos sobre a contaminação geral de frango, concluíram que temperaturas mais baixas na escaalda favoreceriam a sobrevivência bacteriana na pele.

ARAFÁ et al. (1978) observaram uma grande redução bacteriana quando a temperatura da água de escaalda de perdizes "Bobwhite" (*Colinus virginianus*) variou de 51°C para 57°C. Temperaturas acima de 57°C não foram significativamente mais eficientes na redução da contaminação microbiana.

Contudo, a temperatura de escaldagem é apenas mais um fator a influir no grau de contaminação das carcaças. A aderência na pele de frango aumenta a termorresistência de enterobactérias e microrganismos mesófilos, enquanto que as células que permanecem livres são mais rapidamente destruídas (NOTERMANS & KAMPFELMACHER, 1975^{a,b}). O acúmulo de matéria orgânica na água de escaalda e subsequente alcalinização seriam, também, fatores de proteção para *Salmonella sp.* e *E. coli*. Esta ação decorreria, principalmente, pelo acúmulo de fezes e resíduos provenientes das carcaças (HUMPREY, 1981; HUMPREY et al., 1984). Especificamente para *S. aureus*, sais como NaCl, aminoácidos e outras substâncias também conferem alguma proteção térmica ao *S. aureus*, o que já fora relatado (HURST et al., 1980; SMITH et al., 1982).

Outro aspecto a ser considerado é que a diminuição da contaminação não é resultado exclusivo da morte bacteriana, mas, também, pelo efeito mecânico de lavagem, ficando então a

bactéria livre na água do tanque (MULDER et al. 1978). LILLARD (1985) observou que *S. aureus* teria maior capacidade de aderência na pele de frangos que *Salmonella sp.* e *E. coli*. Apesar disto, nossos dados evidenciaram que, nas amostras de pele, o *S. aureus* sofreu intensa redução nas carcaças após a escalda. Ainda que possa ter havido apenas remoção mecânica da pele, a etapa de escaldagem mostrou-se eficiente na redução do microrganismo na carcaça. A não detecção da bactéria na água do tanque pode indicar que nesta temperatura de 58°C e 60°C o microrganismo foi incapaz de sobreviver na água do tanque impedindo-o, de se tornar reservatório do microrganismo.

A contagem de mesófilos na água do tanque de resfriamento situou-se em 4,5 Log₁₀ de UFC por ml no início do tanque e 3,6 Log₁₀ de UFC por ml no final, havendo uma diferença de quase um ciclo Log₁₀ entre os dois resultados. Isto pode significar o efeito da presença de matéria orgânica inativando a ação do cloro sobre as bactérias livres na água. Contudo, a qualidade microbiológica da água do tanque era boa segundo os padrões de BRANT (1974), que considerou um máximo de 6,0 Log₁₀ UFC por ml de água como limite máximo desejável. Nossas contagens sempre estiveram abaixo deste limite.

O *S. aureus* não foi detectado na água do tanque de resfriamento. Como a concentração de cloro era reduzida e transitória, e o microrganismo apresentou uma grande resistência ao cloro (TAB. 16), isto deve ter sido resultado da diluição e renovação da água, conforme o estudo de BLOOD & JARVIS (1974).

TABELA 5

Contagem de *S. aureus* e microrganismos mesófilos na água dos tanques de escaldagem e resfriamento imediatamente após o final do primeiro turno diário de abate

Local de amostragem	Primeira determinação		Segunda determinação	
	<i>S. aureus</i>	mesófilos	<i>S. aureus</i>	mesófilos
Escalda do corpo	<2,0 ^a	3,3	<2,0	5,8
Escalda do pescoço	<2,0	3,6	<2,0	5,8
Tanque de resfriamento				
Entrada da água	NR	NR	<2,0	4,5
Saída da água	NR	NR	<2,0	3,6

^aResultados em Log₁₀ de UFC por ml de água

NR = Não realizado

5.2.3. Detecção de *S. aureus* em diferentes áreas do abatedouro durante o abate.

Os resultados da detecção de *S. aureus* em diferentes áreas do abatedouro durante o abate são apresentados na TAB. 6.

S. aureus foi mais prevalente na amostragem da sala de depenagem que na de evisceração. Na sala de depenagem o *S. aureus* foi detectado em todas as superfícies de equipamentos examinados, mesmo após a limpeza. Na sala de evisceração o microrganismo

somente foi detectado no aspirador de pulmões e não nos equipamentos que entram em contato com vísceras abdominais. Os manipuladores de ambas as salas eram portadores de *S. aureus*. Os achados são condizentes com o habitat deste microrganismo que são a pele e vias respiratórias (DERVIRSE, 1975). Na FAMÍLIA *MICROCOCCACEAE* estes são os principais contaminantes de mãos de operários na indústria de alimentos (SHEENA & STILES, 1983).

No intervalo das operações os equipamentos eram lavados apenas com água (jatos sem pressão). Este procedimento foi capaz de diminuir a população de *S. aureus* sobre a depenadeira (TAB. 4), mas não eliminou-o. Na esteira de borracha que conduzia as carcaças, este microrganismo foi detectado antes e após os procedimentos de lavagem (TAB. 6). CHERRINGTON et al. (1988) detectaram uma redução similar na lavagem de equipamentos contaminados com *E. coli*. A cloração desta água era reduzida, pois a água era comum à utilização na planta e ao consumo humano. BAILEY et al. (1986) preconizaram o uso de pelo menos 20 mg/l de cloro para impedir o acúmulo de bactérias sobre equipamentos. Por outro lado, a limpeza com jatos d'água é capaz de disseminar bactérias por aerossóis (SCHIMMIDT & BEEM, 1978), e sendo a água com reduzida cloração, o *S. aureus* removido pode ter permanecido viável no ambiente.

Na situação estudada, a contaminação por *S. aureus* não era alarmante, tanto nas carcaças quanto nos equipamentos em que pese a baixa cloração utilizada. Entretanto PURDY et al. (1988) demonstraram uma situação de incremento da contaminação por *S. aureus* justamente por modificações na cloração da água utilizada e ajuste da depenadeira, evidenciando a potencialidade de colonização de *S. aureus* posterior às mudanças no seu ecossistema.

Observa-se, finalmente, que a contaminação adquirida pelas carcaças na sala de depenagem persistiu por toda a etapa de evisceração (TAB. 1). Ainda que GENEGEORGIS & SLADER (1966) tenham detectado *S. aureus* em fígados de frangos, outros autores concordam que a depenadeira é a fonte principal de contaminação (DOOD et al. 1968^a; GIBBS et al. 1978^a). Também foi a sala de depenagem a que apresentou maior contaminação pelo microrganismo. A posterior imersão das carcaças no tanque de resfriamento reduziu, mas não foi capaz de eliminar a contaminação por *S. aureus* nas carcaças. Assim, apesar deste local ter sido um importante ponto de controle, a prevenção mais adequada para a contaminação por *S. aureus* deve ser na sala de depenagem e seus equipamentos.

TABELA 6

Detecção de *S. aureus* em diferentes áreas do abatedouro durante o abate

Área	Parte específica	<i>S. aureus</i>
Sala de depenagem	Rampa metálica	+
	Esteira borracha antes lavar	+
	Esteira borracha após lavar	+
	Mão direita manipulador	+
	Mão esquerda manipulador	+
Sala de evisceração	Cortador de cloaca	-
	Extrator de intestinos	-
	Aspirador de pulmão	+
	Mão direita manipulador	+

(+)/(-) = Presença/ausência de *S. aureus*.

5.3. Resistência térmica de cepas de *S. aureus* isoladas de pele de carcaças de frango no abatedouro após diferentes etapas do processo de abate.

Os resultados dos testes "in vitro" da resistência térmica de cepas de *S. aureus* isoladas da pele de frango no abatedouro após diferentes etapas do processo de abate (sangria, escaldagem e depenagem) são apresentados nas TABS. 7,8 e 9. Foram examinadas três cepas após sangria, uma cepa isolada após escaldagem e quatro após a depenagem. A sobrevivência das cepas foi verificada nas temperaturas de 50°C e 60°C, com tempos de zero, um, dois, cinco e 10 minutos.

5.3.1. Resistência térmica de cepas de *S. aureus* isoladas de pele de carcaças de frango no abatedouro após a sangria

Os resultados da resistência térmica "in vitro" de três cepas de *S. aureus* isoladas de pele de carcaças de frango imediatamente após a sangria são apresentados na TAB. 7.

A temperatura de 50°C teve pequeno efeito na diminuição da população inicial de *S. aureus* até o tempo de dois a cinco minutos de contato. Ao término de 10 minutos de contato, ainda persistia viável aproximadamente a metade da população inicial.

Na temperatura de 60°C foi observada uma diminuição muito grande da população entre os dois e cinco minutos iniciais e, a partir do segundo ou quinto minuto, não foram mais encontradas células de *S. aureus* viáveis. Apenas uma cepa, das três examinadas, foi capaz de sobreviver por cinco minutos nesta temperatura.

Encontrou-se, portanto, um comportamento diferente nas temperaturas experimentadas, sendo a temperatura de 50°C incapaz de eliminar todas as células viáveis de *S. aureus* em 10 minutos de contato, ao passo que na temperatura de 60°C ocorreu esta eliminação a partir do quinto minuto.

TABELA 7.

Resistência térmica de três cepas de *S. aureus* isoladas da pele de carcaça de frango no abatedouro imediatamente após a sangria.

Tempo (minutos)	<u>Cepa A</u>		<u>Cepa B</u>		<u>Cepa C</u>	
	50°C	60°C	50°C	60°C	50°C	60°C
0	3,4 ³	3,4	2,9	2,9	3,0	3,0
1	3,0	2,6	2,8	1,8	3,0	2,6
2	3,0	2,6	2,6	1,3	3,0	1,3
5	3,0	0	2,5	0	2,9	1,0
10	1,4	0	2,4	0	2,7	0

³Log₁₀ de UFC por ml

5.3.2. Resistência térmica de cepas de *S. aureus* isoladas da pele de carcaças de frango no abatedouro após escalda

Os resultados da resistência térmica "in vitro" de uma cepa de *S. aureus* isolada da pele de carcaças de frango imediatamente após a escaldagem são apresentados na TAB. 8.

A contagem inicial (tempo zero) da população de *S. aureus* foi de 2,5 Log₁₀. A temperatura de 50°C teve um efeito suave na diminuição da população. Ao final dos 10 minutos, ainda persistia uma população viável de cerca da metade da inicial. Este efeito foi semelhante ao encontrado sobre as cepas após a escalda.

Na temperatura de 60°C foi observada uma diminuição muito grande da população. Já no primeiro minuto, não foram mais encontradas células de *S. aureus* viáveis. Esta cepa foi a mais sensível nesta temperatura do que as cepas após a sangria (TAB. 7) e depenagem (TAB. 9). Houve, entretanto, comportamento semelhante com estas cepas em relação ao fato da temperatura de 50°C ser incapaz de eliminá-la em 10 minutos de contato.

TABELA 8.

Resistência térmica de uma cepa de *S. aureus* isolada da pele de carcaça de frango no abatedouro imediatamente após a escalda

Tempo (minutos)	50°C	60°C
0	2,5 ^a	2,5
1	2,5	0
2	2,2	0
5	1,9	0
10	1,0	0

^aLog₁₀ de UFC por ml.

5.3.3. Resistência térmica de cepas de *S. aureus* isoladas da pele de carcaças de frango no abatedouro após depenagem

Os resultados dos testes de resistência térmica "in vitro" de quatro cepas de *S. aureus* isoladas de pele de carcaças imediatamente após a depenagem são apresentados na TAB. 9.

A contagem inicial (tempo zero) da população de *S. aureus* variou de 2,3 a 3,5 Log_{10} .

No tratamento com 50°C, foi encontrada uma diminuição suave e contínua da população inicial, persistindo células viáveis após 10 minutos de contato com a temperatura. A exceção foi a cepa "B", eliminada no quinto minuto de contato. Esta foi a única cepa de todas testadas em que isto ocorreu.

TABELA 9.

Resistência térmica de quatro cepas de *S. aureus* isoladas da pele de carcaças de frango no abatedouro após a depenagem

Tempo (minutos)	Cepa A		Cepa B		Cepa C		Cepa D	
	50°C	60°C	50°C	60°C	50°C	60°C	50°C	60°C
0	2,3 ^a	2,3	3,5	3,5	3,0	3,0	3,5	3,5
1	2,3	0,6	3,1	1,0	2,7	1,9	3,0	1,9
2	1,9	0	2,9	0	2,5	0	2,7	1,0
5	1,7	0	1,7	0	2,1	0	2,2	0
10	1,6	0	0	0	2,1	0	1,9	0

^a Log_{10} de UFC por ml.

Na temperatura de 60°C foi observada uma diminuição muito grande da população nos dois minutos iniciais, e a partir do segundo minuto não foram mais encontradas células de *S. aureus* viáveis. Com exceção da cepa "B", os resultados foram similares aos anteriores, com persistência da população após 10 minutos de contato com a temperatura de 50°C e eliminação total desta aos 60°C.

Os testes de resistência térmica de cepas de *S. aureus* isoladas da pele de carcaças de frango no abatedouro após diferentes etapas do processo mostraram que a temperatura de 50°C produz uma redução variável da população. Ao final de 10 minutos, nesta temperatura, sempre houve sobreviventes, com a exceção de uma única cepa dentre todas testadas (cepa após depenagem). Porém, na temperatura de 60°C, a eliminação foi total para todas as cepas testadas em 10 minutos de contato, além disto poucas sobreviveram por até cinco minutos.

ALLOWOOD & RUSSEL (1967) observaram que *S. aureus* expostos a temperaturas a partir de 55°C apresentam uma perda rápida de material intracelular, com uma curva linear da perda de viabilidade.

Em alimentos, em geral, o tratamento térmico é apontado como um processo seletivo de microrganismos, onde a injúria selecionaria as formas mais resistentes, ao passo que as sensíveis ao calor seriam destruídas (BUSTA, 1976). Uma maior termorresistência das cepas consideradas endêmicas da planta explicaria a sobrevivência após a escalda, com posterior colonização da depenadeira, como proposto por GIBBS et al. (1978).

No nosso estudo, as cepas apresentaram comportamento muito semelhante quando tratadas nas temperaturas de 50°C ou 60°C. Entretanto, foram detectadas diferenças, principalmente, na temperatura de 60°C no período de tempo de até cinco minutos. Uma das cepas oriundas de carcaças após a sangria suportou 60°C por cinco minutos, mas não sobreviveu a 10 minutos. A cepa obtida de carcaças após escalda não mostrou maior termorresistência que outras. Ao contrário, foi rapidamente eliminada (um minuto) a 60°C. Nenhuma das cepas obtidas de carcaças após a depenagem suportou mais de dois minutos na temperatura de 60°C.

Em creme de leite, BATISH et al. (1989) encontraram cepas de *S. aureus* com maior termorresistência, atribuindo isto à formação de agregados celulares. Estes agregados celulares foram também relatados por BOLTON et al. (1988) nas cepas consideradas endêmicas. Encontramos, também, tais cepas com estas características após a depenadeira, porém nem todas apresentavam este tipo de formação quando incubadas em caldo e as que apresentavam esta característica não se destacaram das demais pela resistência térmica.

HURST et al. (1974) apontaram a idade da cultura de *S. aureus* como fator de influência na sua resistência térmica. Culturas em fase estacionária teriam um valor "D52°C" três vezes maior do que na fase logarítmica e, talvez, este fator possa ter alguma influência dentro do abatedouro. Porém, no conjunto das cepas testadas, o que fica bem evidenciado é a grande diferença entre as temperaturas de 50°C e 60°C. Estas são, aproximadamente, temperaturas comuns de escalda utilizadas no processo de abate. As carcaças foram escaçadas por um minuto a 58°C, repetida a escalda por seis segundos em água a 60°C somente para o pescoço.

A possibilidade sugerida por GIBBS et al. (1978^a) de que as diferenças existentes na termorresistência entre cepas de *S. aureus* selecionem as colonizadoras das instalações de um abatedouro, pode existir, desde que sejam utilizadas temperaturas elevadas, próximas a 60°C, e em intervalo curto de tempo. Tempos de imersão muito prolongados com esta temperatura ou ao redor de 50°C não poderiam produzir este efeito. Porém, em nossos estudos, a cepa com menor termorresistência aos 60°C foi encontrada no ponto imediatamente posterior à escalda. Esta cepa não apresentou células viáveis já a partir do primeiro minuto de contato. Uma possibilidade para isto é que, aderida à pele do frango, cepas mais sensíveis possam passar pelo tanque de escaldagem. Mas, na continuidade do processo, cepas mais resistentes devem superar numericamente as mais sensíveis. Um indicativo disto é que as cepas isoladas de carcaças após a depenagem sobreviveram por um a dois minutos quando tratadas a 60°C, superando, assim, a resistência térmica da cepa isolada após a escalda.

5.4. Efeito do tratamento de carcaças com diferentes concentrações de ácidos orgânicos sobre a recuperação de *S. aureus* e microrganismos mesófilos de pele de frangos no abatedouro.

As aspersões com ácido láctico e acético foram feitas, e as carcaças eram recolocadas nas nórias e seguiam para a sala de evisceração. O ácido acético foi experimentado nas concentrações de 1% e 5%, porque concentrações mais elevadas tinham cheiro muito forte, não encorajando seu uso. O ácido láctico por não apresentar tal inconveniente foi experimentado, também, em solução 10%. Estes ácidos também foram experimentados para a redução de uma população artificialmente inoculada de *S. aureus* na pele de partes de frango e tratadas por imersão por cinco minutos. Os resultados são apresentados nas TABS. 10, 11 e 12.

5.4.1. Efeito da aspersão de carcaças com diferentes concentrações de ácido láctico sobre a recuperação de *S. aureus* e microrganismos mesófilos de pele de frangos no abatedouro

Os resultados do teste da utilização por aspersão de soluções de ácido láctico nas concentrações de 1%, 5% e 10% como redutor de contaminação bacteriana de carcaças de frangos na planta de abate estão apresentados na TAB. 10.

TABELA 10.

Efeito da aspersão de carcaças com diferentes concentrações de ácido láctico sobre a recuperação de *S. aureus* e microrganismos mesófilos de pele de frangos no abatedouro

Sol. ácido láctico	Primeiro teste		Segundo teste	
	<i>S. aureus</i>	Mesófilos	<i>S. aureus</i>	Mesófilos
0% (Controle)	3,6 ^a	4,9	3,2	3,2
1%	3,6	4,6	NR	NR
5%	3,0	4,8	2,3	3,5
10%	NR	NR	2,3	3,4

^aLog₁₀ de UFC por grama de pele

NR = Não realizado

Foi observado um efeito muito reduzido sobre a população tanto de mesófilos quanto de *S. aureus*. Sobre este último, aparentemente, houve uma diminuta redução apenas no uso de solução de ácido láctico na concentração de 5% e 10%. Os resultados sobre mesófilos foram menos expressivos ainda.

5.4.2. Efeito da aspersão de carcaças com diferentes concentrações de ácido acético sobre a recuperação de *S. aureus* e microrganismos mesófilos de pele de frangos no abatedouro

Os resultados do teste da utilização por aspersão de soluções de ácido acético nas concentrações de 1% e 5% como redutor de contaminação bacteriana de carcaças de frangos na planta de abate estão apresentados na TAB. 11.

TABELA 11.

Efeito da aspersão de carcaças com diferentes concentrações de ácido acético sobre a recuperação de *S. aureus* e microrganismos mesófilos de pele de frangos no abatedouro

Sol. de ác. acético	<i>S. aureus</i>	Mesófilos
0% (Controle)	3,2 ^a	4,2
1%	3,8	4,4
5%	2,5	3,9

^aLog₁₀ de UFC por grama de pele

Os resultados foram muito parecidos com os do ácido láctico. Não houve redução significativa nas contagens seja do *S. aureus* seja dos mesófilos na concentração de 1%. Já a concentração de 5% teve um efeito redutor bastante semelhante ao do ácido láctico: 0,6 ciclos \log_{10} e apenas sobre o *S. aureus*. Este efeito foi diferente do relatado por OCKERMAN et al. (1974), pois segundo seus resultados o ácido láctico não seria tão eficiente quanto o ácido acético.

5.4.3. Efeito da imersão de coxa de frango em soluções de ácidos láctico e acético sobre a recuperação de cepa padrão (CCT 1894) de *S. aureus* de pele de frango artificialmente contaminada.

Os resultados do efeito da imersão de coxa de frangos em soluções de ácido láctico e acético sobre a recuperação de uma cepa de *S. aureus* são apresentados na TAB. 12.

A imersão de coxas por cinco minutos mostrou-se muito eficiente na redução de *S. aureus*. A concentração de 5% de ácido acético reduziu cerca de 1,0 \log_{10} e o ácido láctico a 10% reduziu mais de 2,0 \log_{10} , ficando abaixo do limite de detecção.

As concentrações máximas testadas na planta foram estudadas em testes "in vitro". Neste caso procurou-se estudar o efeito da imersão em soluções de ácidos de partes de frango previamente contaminadas com *S. aureus*. A imersão teve um efeito bastante superior em relação à aspersion. Resultado semelhante foi relatado por MORRISON & FLEET (1985) com a utilização do ácido láctico 0,25% em relação à imersão ou aspersion. Provavelmente na imersão, tem-se um contato mais íntimo com a pele e há penetração na sua profundidade, atingindo mais os microrganismos. Como o mecanismo principal da ação dos ácidos orgânicos de cadeia curta envolve a penetração na célula bacteriana, segundo CHERRINGTON et

al. (1990) e SMULDERS et al. (1986), a imersão pode proporcionar melhores condições de atuação do que a aspersão. OKREND et al. (1986) obtiveram resultados satisfatórios com concentrações de ácido acético de 1% e 0,5% na eliminação de *Salmonella* sp. na água do tanque de escalda e LILLARD et al. (1987) na água do tanque de resfriamento.

O uso de ácidos orgânicos como agente redutor de contaminação bacteriana tem sido empregado em planta de abate de frango. SMULDERS et al. (1986) preconizaram sua utilização ao final do processo, para redução bacteriana e melhoria da qualidade sanitária de carcaças. Entretanto, no caso da contaminação estudada de *S. aureus*, a saída da sala de depenagem pareceu ser um ponto importante para a tentativa de controle da população nas carcaças de frango. WOOLTHUIS & SMULDERS (1985) detectaram uma maior eficiência bactericida dos ácidos orgânicos se utilizados antes da ocorrência do fenômeno da aderência bacteriana. Neste ponto da linha, imediatamente após a depenagem, a contaminação por *S. aureus* é bastante recente, e o fenômeno da aderência não deveria ter acontecido. Como a contaminação pouco se altera na evisceração, uma redução neste ponto faria com que as carcaças entrassem no resfriamento com uma carga de *S. aureus* menor.

As contagens de *S. aureus* foram um pouco mais atingidas do que a de mesófilos. O primeiro microrganismo sofreu uma redução entre 0,6 e 0,9 ciclo \log_{10} com aplicação de solução de ácido láctico 5% e 10% (TAB. 10); no segundo grupo bacteriano os resultados foram contraditórios, podendo se concluir que não houve efetividade. Como se observa, houve algum efeito do ácido láctico sobre *S. aureus*, porém as reduções das contagens obtidas nas concentrações mais efetivas não alcançaram um ciclo \log_{10} não sendo de muita utilidade. Possivelmente estes microrganismos sejam um pouco mais resistentes do que outros grupos, tais como psicrófilos, pois ZEITOUN & DEBEVERE (1990) obtiveram

reduções um pouco maiores com 10% de ácido láctico.

Outro aspecto a ser considerado é que pode haver injúria ao invés de letalidade com baixas concentrações de ácidos orgânicos, conforme observou BLANKESHIP et al. (1981), havendo indícios de que certos ácidos impediriam ou perturbariam a replicação do DNA conforme os trabalhos de CHERRINGTON et al. (1990) e CHERRINGTON et al. (1991^{a,b}). Assim, os ácidos orgânicos parecem ser mais indicados no prolongamento da vida de prateleira, dada a ação prolongada dos ácidos, inexistente no hipoclorito de sódio, relatada por ANDERSON (1977). Este efeito seria diluído no nosso estudo, pois as carcaças sofreriam uma intensa lavagem no tanque de resfriamento. Porém a injúria causada hipoteticamente poderia atuar sinergicamente com o cloro. O efeito redutor máximo dos ácidos de cadeia curta sobre contagens bacterianas, encontradas por SMULDERS et al. (1986), seria limitado a cerca de 3-4 ciclos \log_{10} . Não alcançamos reduções desta magnitude, e as pequenas reduções encontradas não justificariam o uso dos ácidos para o controle bacteriano, pois as carcaças sofreram uma redução das contagens de *S. aureus* mais importante no tanque de resfriamento.

Algumas deficiências do processo, como a aspersão manual, podem ter contribuído para a ineficiência do método testado. A aspersão pressurizada talvez pudesse ter maiores efeitos. Em caso de necessidade, a imersão das carcaças parece ter melhores possibilidades de utilização. A redução de dois ou mais ciclos \log_{10} pode ser útil no caso de contaminações muito grandes após a depenagem.

TABELA 12.

Efeito da imersão de carcaças em soluções de ácidos láctico e acético sobre a recuperação de cepa padrão (CCT 1894) de *S. aureus* da pele de frango artificialmente contaminada.

Soluções de ácidos	<i>S. aureus</i>
0% (Controle)	3,0 ^a
Ácido acético 5%	1,9
Ácido láctico 10%	<1,0

^aLog₁₀ de UFC por grama de pele

5.5. Efeito de diferentes concentrações de sanificantes químicos na sobrevivência de cepas de *S. aureus* isoladas da pele de frangos.

A metodologia escolhida foi o método de contato, por ser o que envolve a aderência bacteriana, o que segundo vários autores (HOLAH et al., 1990; LeCHEVALIER, 1984; e RIDGWAY & OLSON, 1982) aumenta a resistência dos microrganismos aos sanificantes químicos. Também HOLAH & THORPE (1990) não recomendaram o uso de suspensões bacterianas quando em testes de diluição de uso por superestimarem o efeito dos sanificantes. Assim o método descrito em OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS OF THE ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRIS (1990) foi adaptado, tendo-se sempre em conta o crescimento no limite de tempo de 10 minutos de contato como resistente àquela concentração testada. Ampliou-se a gama de tempo, entre um e 10 minutos, para verificar-se as possíveis diferenças entre várias cepas de *S. aureus* isoladas no abatedouro. Considerando-se o intervalo de 10 minutos de contato como tempo máximo, para efeitos comparativos pode-se arbitrar

como resistentes as que cresceram entre os seis e nove minutos e sensíveis as que cresceram entre um e quatro minutos. As que se situaram além dos dois extremos, abaixo de um ou acima de 10 minutos foram consideradas totalmente sensíveis ou resistentes, e intermediárias as que sobreviveram cinco minutos.

Foram utilizados os três sanificantes mais comumente utilizados em planta de abate de frangos: composto quaternário de amônio, hipoclorito de sódio e iodóforo, e foram obtidos de produtos comerciais. Em um primeiro teste sobre cepa padrão CCT 1894 *S. aureus*, estabeleceu-se uma concentração teste na qual posteriormente as demais cepas isoladas no abatedouro foram testadas.

5.5.1. Efeito de diferentes concentrações do composto quaternário de amônio na sobrevivência de cepa padrão de *S. aureus*

Os resultados dos ensaios de diferentes concentrações do composto quaternário de amônio sobre cepa padrão de *S. aureus* estão expostos na TAB. 13. A concentração de 300 mg/l foi totalmente eficiente na eliminação da bactéria, que era a recomendada para o produto. Concentrações menores ainda foram muito eficientes. Apenas na concentração de 40 mg/l houve sobrevivência do microrganismo, ainda assim, em tempo de contato inferior aos 10 minutos. Pelos critérios do método, esta concentração seria ainda considerada efetiva. O efeito foi exclusivamente bactericida, pois os tubos que não apresentavam crescimento após 24 horas eram transferidos e reincubados por período igual, e continuaram não apresentando crescimento, em todas as concentrações testadas. Tendo a cepa padrão sobrevivido por cinco minutos na concentração de 40 mg/l, esta foi considerada adequada para testar-se as demais cepas isoladas na planta de abate.

TABELA 13

Efeito de diferentes concentrações do composto quaternário de amônio na sobrevivência de cepa CCT 1894 de *S. aureus*

Conc.	Tempo de contato (minutos)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
300 mg/l	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
100 mg/l	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
80 mg/l	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
40 mg/l	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-

(+)/(-) = Sobrevivência/eliminação de *S. aureus*.

5.5.2. Efeito da concentração de 40 mg/l de composto quaternário de amônio na sobrevivência de cepas de *S. aureus* padrão e isoladas da pele de frangos em diferentes pontos da linha de abate

A TAB. 14 exibe os resultados obtidos no experimento com cepas de *S. aureus* isoladas no abatedouro. Duas cepas ainda não lograram crescer nesta concentração, ambas isoladas de carcaças de frango pós-escalda e pós-evisceração. As outras oito cepas mostraram ainda bastante sensibilidade, sobrevivendo por um período de tempo entre um e quatro minutos.

Apenas uma cepa isolada do aspirador de pulmões conseguiu sobreviver cinco minutos, atingindo uma faixa intermediária, juntamente com a cepa CCT 1894. Nenhuma das cepas, porém, sobreviveu a mais de cinco minutos de contato na concentração de 40 mg/l. A sensibilidade dos microrganismos Gram positivos frente a este tipo de composto é conhecida, não causando surpresa o resultado. Em comparação com halógenos, HÖLAN & THORPE (1990) verificaram a sua ação superior sobre *S. aureus*. De fato, além de ser bastante efetivo em baixa concentração - ao contrário do hipoclorito de sódio e iodo (TABS 16 e 18) - apresentou uma severa faixa de inibição, com um efeito muito homogêneo e nenhuma cepa com uma resistência significativamente diferente.

Possíveis efeitos bacteriostáticos alertados por SCHEUSNER (1971), no uso de pequenas concentrações de compostos quaternários de amônio foram levados em conta. Após 24 horas de incubação, os cilindros negativos eram transferidos para outros tubos com meio de cultivo, onde eram reincubados. Nesta concentração de 40 mg/l o efeito foi exclusivamente bactericida, o que possibilita as concentrações menores que 40 mg/l continuarem atuando, sendo esperados ainda efeitos bacteriostáticos, impedindo a proliferação de *S. aureus*.

TABELA 14

Efeito da concentração de 40 mg/l do composto quaternário de amônio na sobrevivência de cepas de *S. aureus* CCT 1894 e isoladas da pele de frangos em diferentes pontos da linha de abate

Cepas (Fontes de obtenção)	Tempo de contato (minutos)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
CCT	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
Carcaca evisc.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Carcaca resfr.	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Carcaca depen.	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Carcaca sangr.	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Aspir. pulmão	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
Carcaca escal.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mão eviscerad.	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
Dedo 1ª depen.	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Dedo 3ª depen.	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Mão depenador	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
Esteira depen.	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-

(+)/(-) = Sobrevivência/eliminação de *S. aureus*.

5.5.3. Efeito de diferentes concentrações de cloro livre (hipoclorito de sódio) na sobrevivência de cepa padrão de *S. aureus* (CCT 1894)

A TAB 14 mostra os resultados de testes com cepa CCT 1894 *S. aureus* frente às diferentes concentrações de hipoclorito de sódio, pH 7,0 ± 0,02. O tempo máximo de teste foi de 10 minutos, verificado de um em um minuto. A cepa CCT 1894 mostrou uma alta resistência a este sanificante, não sendo inibida em 10 minutos em concentrações tão elevadas quanto 200 mg/l de cloro livre, a qual não seria considerada eficiente pelos critérios da metodologia. As concentrações de cloro que inibiram a cepa em 10 minutos foram bastante elevadas. Apenas a partir de 350 mg/l de cloro livre isto ocorreu. Porém, ainda utilizando-se 500 mg/l de cloro livre, houve sobrevivência por até dois minutos de contato. Apesar do período curto de tempo, demonstra a grande resistência do microrganismo testado ao sanificante. Apenas a partir da concentração de 1000 mg/l de cloro livre ocorreu inibição em menos de um minuto de exposição.

A concentração de 350 mg/l de cloro livre foi suficiente para inibir a cepa de CCT 1894 *S. aureus* em tempo de exposição maior do que seis minutos de contato, sendo considerada intermediária para se testar as cepas de *S. aureus* obtidas na planta de abate. Pelos critérios do método seria considerada efetiva, pois inibiu a cepa testada em 10 minutos de contato.

TABELA 15.

Efeito de diferentes concentrações de cloro livre (hipoclorito de sódio) na sobrevivência da cepa CCT 1894 de *S. aureus*.

Cloro (mg/l) ^a	Tempo de contato (minutos)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
3,5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
21,1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
50	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
150	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
200	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
350	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
500	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
1000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1500	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

^apH das soluções foi ajustado em 7,0

(+)/(-) = Sobrevivência/eliminação de *S. aureus*.

5.5.4. Efeito da concentração de 350 mg/l de cloro livre (hipoclorito de sódio) na sobrevivência de cepas de *S. aureus* padrão e isoladas da pele de frangos em diferentes pontos da linha de abate

A TAB. 16 mostra os resultados de testes com cepas isoladas de diferentes pontos do abatedouro comparativamente com a cepa CCT. A concentração de Cl livre foi de 350 mg/l e pH 7,0 ± 0,02. Foram testadas por até 10 minutos de contato, verificando-se de um em um minuto. Houve uma grande diversidade nos resultados. Duas cepas destacaram-se pela resistência. A cepa isolada do dedo de borracha da primeira máquina depenadeira não foi inibida em 10 minutos nesta concentração; a cepa isolada da mão do manipulador da sala de eviseração suportou até oito minutos de contato.

A cepa isolada de carcaça escaldada, ao contrário, não suportou nem um minuto na concentração, sendo muito mais sensível. Demais cepas tiveram um espectro de sobrevivência entre estes dois extremos, suportando, em geral, de três a seis minutos de contato. Pode-se afirmar que a ação do sanitizante foi bastante irregular. Neste aspecto, houve uma grande diferença de resposta em comparação com o composto quaternário de amônio. Não em termos de dosagens (pois é difícil comparar-se concentrações de diferentes produtos), mas na diferença do efeito de uma mesma concentração sobre diversas cepas. O composto quaternário de amônio (TAB. 14) teve um efeito muito mais homogêneo sobre as cepas do que o hipoclorito de sódio.

TABELA 16

Efeito da concentração de 350 mg/l de cloro livre^a (hipoclorito de sódio) na sobrevivência de cepas de *S. aureus* padrão e isoladas da pele de frangos em diferentes pontos da linha de abate

Cepas (Fontes de obtenção)	Tempo de contato (minutos)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
CCT	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
Carcaca evisc.	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
Carcaca resfr.	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
Carcaca depen.	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
Carcaca sangr.	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
Aspir. pulmão	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Carcaca escal.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mão eviscerad.	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
Dedo 1 ^o depen.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Dedo 3 ^o depen.	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
Mão depenador	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
Esteira depen.	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-

^aSolução ajustado em 7,0

(+)/(-) = Sobrevivência/eliminação de *S. aureus*.

5.5.5. Efeito de diferentes concentrações de iodóforo na sobrevivência de cepa padrão de *S. aureus* (CCT 1894)

A TAB. 16 mostra os resultados de testes com o sanificante iodóforo em várias concentrações sobre cepas CCT 1894 de *S. aureus*. O tempo máximo de exposição foi de 10 minutos, verificando-se a sobrevivência de minuto em minuto. A ação do sanificante foi bastante efetiva, ocorrendo inibição bacteriana a partir do sexto minuto com 100 mg/l de iodo, e a partir do segundo minuto com 200 mg/l. Apenas uma concentração baixa como 20 mg/l foi incapaz de inibir a cepa padrão *S. aureus* em 10 minutos e não seria considerada eficiente. Para o teste com as demais cepas do abatedouro, utilizou-se a concentração de 100 mg/l de iodo, na qual a cepa padrão sobreviveu até seis minutos de contato.

O iodóforo testado não enfrentou tantas dificuldades para a inibição parcial ou total desta cepa de *S. aureus* quanto o hipoclorito de sódio. Aumentando em cinco vezes a concentração (de 20 mg/l para 100 mg/l), já foi atingida uma inibição satisfatória pelos padrões do método, ou seja, inibição em 10 minutos de contato. Dobrando-se a concentração (200 mg/l), a inibição ocorreu a partir do segundo minuto de contato. Já o hipoclorito de sódio (TAB. 15), na concentração de 200 mg/l, não logrou inibir esta mesma cepa (*S. aureus* CCT 1894) em 10 minutos de contato. Apenas a concentração de 500 mg/l foi capaz de inibir a cepa nos mesmos dois minutos, o que o iodo foi capaz de fazer com apenas 200 mg/l. Este sanificante, portanto, foi intermediário em termos de concentração necessária para inibir a cepa *S. aureus* padrão. O composto quaternário de amônio (TAB. 13), ainda que pese a diferença entre os produtos, foi ativo sobre esta cepa em concentrações bastante baixas e, provavelmente, continuaria atuando em concentrações ainda inferiores aos 40 mg/l, pelo menos como bacteriostático.

O hipoclorito de sódio não foi muito eficiente na inibição desta cepa de *S. aureus*, necessitando de mais de 200 mg/l (TAB. 15).

TABELA 17

Efeito de diferentes concentrações de iodóforo na sobrevivência de cepa CCT 1894 de *S. aureus*

Conc.	Tempo de contato (minutos)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
20 mg/l	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
100 mg/l	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
200 mg/l	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-

(+)/(-) = Sobrevivência/eliminação de *S. aureus*.

5.5.6. Efeito da concentração de 100 mg/l de iodóforo na sobrevivência de cepas de *S. aureus* padrão e isoladas da pele de frangos em diferentes pontos da linha de abate

Os resultados destes testes estão na TAB. 18. Nesta concentração de 100 mg/l, uma cepa isolada da primeira depenadeira foi totalmente resistente, sobrevivendo por 10 minutos de contato. Esta mesma cepa teve igual resistência a 350 mg/l de cloro (TAB. 16), e frente aos dois compostos foi a cepa mais resistente dentre todas testadas. Cepas isoladas das carcaças depenadas, evisceradas, resfriadas e do aspirador de pulmão apresentaram resistência elevada sobrevivendo oito minutos ou mais. Duas cepas, de mãos de manipuladores da sala de depenagem e evisceração foram capazes de sobreviver por apenas cinco minutos. As demais cepas isoladas no abatedouro sobreviveram no máximo por quatro minutos de contato com 100 mg/l de iodo.

Na concentração de 100 mg/l, embora diferenças grandes no tempo de sobrevivência também tenham ocorrido, não houve ao mesmo tempo inibição e resistência total na mesma concentração. Entretanto, persistiu o problema de uma cepa ser totalmente resistente pelo critério do método, suportando 10 minutos de contato, enquanto outras seriam inibidas. Neste aspecto o problema seria o mesmo que o encontrado em relação com o hipoclorito de sódio, e poderia haver seleção destas cepas resistentes. O quaternário de amônio (TAB. 14) não apresentou este inconveniente.

TABELA 18.

Efeito da concentração de 100 mg/l de iodo (iodóforo) na sobrevivência de cepas de *S. aureus* CCT 1874 e isoladas da pele de frangos em diferentes pontos da linha de abate

Cepas (Fontes de obtenção)	Tempo de contato (minutos)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
CCT	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
Carcaca evisc.	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
Carcaca resfr.	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
Carcaca depen.	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
Carcaca sangr.	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Aspir. pulmão	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
Carcaca escal.	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
Mão eviscerad.	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
Dedo 1ª depen.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Dedo 3ª depen.	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Mão depenador	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
Esteira depen.	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-

(+)/(-) = Sobrevivência/eliminação de *S. aureus*.

5.5.7. Resultados dos testes com os três sanificantes testados sobre cepas de *S. aureus* isoladas nas dependências do abatedouro, agrupados de acordo com a sequência do fluxo da planta.

A TAB. 19 sumariza os resultados dos testes realizados com o composto quaternário de amônio (40 mg/l), hipoclorito de sódio (350 mg/l) e iodóforo (100 mg/l) sobre as cepas de *S. aureus* isoladas na planta de abate. O resultado está expresso na forma do tempo máximo em minutos de contato com o sanificante que a bactéria sobreviveu. As cepas estão organizadas na sequência do fluxo da linha de produção

Observa-se na TAB. 19 que as cepas de todas as dependências do abatedouro tiveram uma resposta muito similar ao composto quaternário de amônio 40 mg/l. Como já foi observado anteriormente, foi com hipoclorito de sódio e iodóforo que ocorreram diferenças na sobrevivência. A TAB. 19 mostra que cepas isoladas no início da linha de abate foram as únicas que apresentaram uma resistência mínima aos três sanificantes simultaneamente. Foram oriundas da sala de depenagem e isoladas das carcaças de frango após sangria, após escalda, do dedo da terceira depenadeira, assim como da esteira de borracha da sala de depenagem. Nenhuma destas conseguiu sobreviver mais do que quatro minutos a qualquer sanificante.

A cepa obtida de carcaça escaldada foi a mais sensível dentre todas as testadas, inibida totalmente pelo composto quaternário de amônio e hipoclorito de sódio e ao iodo sobreviveu apenas quatro minutos. A cepa da carcaça após sangria também teve uma sobrevivência mínima aos três sanificantes. Outras cepas isoladas nesta sala também foram bastante sensíveis, com apenas duas exceções: a isolada da primeira depenadeira e da carcaça depenada. A cepa de *S. aureus* da primeira depenadeira apresentou uma extraordinária resistência, sobrevivendo 10

minutos ao hipoclorito de sódio (350 mg/l) e iodo (100 mg/l). De todas as testadas foi a mais resistente a estes dois produtos, o quartenário de amônio (40 mg/l), entretanto, inibiu-a severamente, sobrevivendo apenas um minuto. Foi um tempo inferior a algumas, mas situado dentro do tempo geral de sobrevivência das outras cepas frente ao sanificante quaternário de amônio. A cepa isolada da carcaça após a depenagem apresentou uma maior resistência ao iodo (100 mg/l); ao hipoclorito (350 mg/l) sobreviveu apenas três minutos.

A partir da depenagem repete-se nas cepas das carcaças esta característica de maior resistência ao iodo, e apenas ao iodo, até o resfriamento. O tempo de sobrevivência foi semelhante, ao redor de oito/nove minutos. Também a cepa do aspirador de pulmão, a única isolada de equipamentos na sala de evisceração, apresentou esta característica, com tempo de sobrevivência também semelhante. Foi a partir da depenadeira que esta cepa introduziu-se nas carcaças, sendo constante nas salas posteriores de evisceração e resfriamento. Apesar disto, uma cepa resistente exclusivamente ao iodo não foi encontrada na depenadeira.

Já as cepas isoladas das mãos de operários comportaram-se diferentemente. A do manipulador da sala de depenagem não foi nem resistente nem demasiadamente sensível a qualquer dos três sanificantes, sobrevivendo quatro/cinco minutos. A do eviscerador foi a única cepa testada que apresentou maior resistência apenas ao hipoclorito de sódio (350 mg/l), sobrevivendo oito minutos.

TABELA 19.

Resultados dos testes com os três sanificantes sobre as cepas de *S. aureus* isoladas nas dependências do abatedouro, organizados de acordo com a estrutura da planta

Cepas (Fontes de obtenção)	Tempo máximo de sobrevivência (minutos)		
	COA 40 mg/l	HOCLO 350 mg/l	Iodóforo 100 mg/l
Sala escalda/depenagem			
Carcça após sangria	2	3	2
Carcça após escaldagem	<1	<1	4
Dedo 1ª depenadeira	1	10	10
Dedo da 3ª depenadeira	2	3	2
Carcça depenada	1	3	9
Mão depenador	4	4	5
Esteira depen.	2	4	2
Sala evisceração			
Aspirador de pulmão	5	2	8
Mão eviscerador	3	8	5
Carcça eviscerada	<1	4	8
Sala resfriamento			
Carcça resfriada	2	5	8

^aCOA = compostos quaternários de amônio; HOCLO = hipoclorito de sódio

Assim parece ter havido um certo padrão, especialmente nas carcaças de frango, nas quais cepas resistentes ao iodo instalaram-se após a depenagem. Anteriormente a este ponto, as cepas de carcaça apresentaram resistência mínima a todos os sanificantes. Na sala de depenagem há uma miscelânea, encontrando-se todos os tipos de cepas: resistentes e sensíveis (a maioria) aos sanificantes; enquanto que nas salas posteriores: evisceração e resfriamento, não houve cepa sensível a todos os produtos. Em abatedouro de frangos, a resistência de cepas de *Salmonella* sp. aos antibióticos foi atribuída ao tratamento prévio na granja (BERCHIERI et al., 1987).

A população de *S. aureus* na pele de frango é oriunda da granja, como demonstraram THOMPSON et al. (1980). Na granja as cepas de *S. aureus* na pele do frango provavelmente não têm contato com estes sanificantes, o que poderia explicar porque nas etapas iniciais a sensibilidade foi tão grande. GIBBS et al. (1978^a) e DOOD et al. (1988^{a,b}) realizaram estudos de tipificação de cepas de *S. aureus* em planta de abate de frangos; demonstraram que um tipo predominante de cepa é persistente na planta, nas carcaças e equipamentos após a depenagem. Não fizemos estudos de tipificação, mas tudo indica uma situação semelhante na planta estudada, pelo comportamento das cepas frente aos sanificantes.

Em relação ao cloro, MEAD & ADAMS (1986) e BOLTON et al. (1988) atribuíram às cepas endêmicas de *S. aureus* da depenadeira uma resistência maior ao cloro. Estas cepas de *S. aureus*, isoladas da depenadeira foram resistentes a 5 mg/l (BOLTON et al., 1988), e 1 mg/l (MEAD et al., 1989). Estas concentrações são bastante baixas se comparadas com as nossas (TABS. 15 e 16), mas nestes estudos não foi considerado o efeito da aderência. A utilização de cloro na planta de abate, em especial na depenadeira, encontraria uma dificuldade adicional à sua ação. A estrutura dos dedos de borracha do equipamento, com ranhuras e fissuras, dificultam o contato do sanificante com o

microrganismo. Como a água de remoção das penas nesta planta estudada tinha uma cloração (relatada) de 0,5 mg/l, pode-se presumir que era insuficiente para eliminar o *S. aureus*. A cepa CCT 1894 resistiu até 10 minutos 200 mg/l de cloro (TAB. 15), e cepas isoladas neste equipamento resistiram três e 10 minutos 350 mg/l de cloro (TAB. 16). No nosso caso, se formos considerar uma cepa "endêmica" ela seria mais resistente ao iodo que ao cloro.

Apesar da diferença de metodologia com os trabalhos de BOLTON et al. (1988) e HEAD et al. (1989), fica claro que o *S. aureus* possui cepas com respostas bastante diferentes ao hipoclorito de sódio, o que deve ser levado em conta na determinação da concentração deste sanificante. Uma dificuldade adicional neste caso foi termos encontrado no mesmo equipamento, frente à mesma concentração de 350 mg/l, uma cepa que foi sensível, não suportando mais de três minutos e outra que sobreviveu 10 minutos. Assim, testes com *S. aureus* para estabelecer uma concentração de cloro em uma planta de abate devem ser cautelosos na interpretação de seus resultados.

Um outro aspecto, neste caso, é que talvez o aumento da cloração não correspondesse a uma diminuição bacteriana esperada, dada a existência de cepas resistentes que ocupariam o nicho vago pela eliminação das mais sensíveis. O cloro foi apontado por RIDGWAY & OLSON (1982) como um forte agente seletivo sobre bactérias, e que cepas mais e menos resistentes ao cloro devem conviver em equilíbrio com a cloração utilizada. Também GIBBS & PATTERSON (1978) comprovaram que em um sistema de população mista, cepas de *S. aureus* mais competitivas, isoladas de carcaças de frangos, tornavam-se dominantes sobre as demais. E PURDY et al. (1988) encontraram uma rápida colonização na depenadeira por *S. aureus* após redução da cloração da água da planta de 60 mg/l para 15 mg/l. GIBBS et al. (1978^a) atribuíram a fatores tais como temperatura, umidade e sujeira da depenadeira como responsáveis pela colonização por *S. aureus*.

Além destes, o sanificante talvez possa ser mais um agente na seleção de cepas de *S. aureus* dentro do abatedouro.

No final do processo de abate, as carcaças sofreram no tanque de resfriamento uma redução da população de *S. aureus* de mais de um ciclo \log_{10} em relação ao ponto de entrada (TAB. 1). Os mesófilos (TAB. 2) sofreram uma redução um pouco menor, entre 0,6 e 0,7 ciclos \log_{10} . Na planta a fonte de cloro utilizado na água do tanque era o hipoclorito de sódio, injetado no contra-fluxo das carcaças no último tanque. O cloro medido esteve em 3 mg/l, e o pH 7,0. A concentração de cloro era muito baixa para justificar esta redução. Com efeito, a cepa de *S. aureus* isolada de carcaça após o resfriamento sobreviveu por até cinco minutos em contato com 350 mg/l de cloro livre, e as demais tiveram sobrevivência similar (TAB. 16). Além da concentração reduzida, o tempo de contato também era muito breve. Detectamos o cloro apenas na área de injeção deste, e as carcaças saíam do tanque logo após chegarem neste ponto; a medição do cloro em outro ponto do tanque demonstrou que antes da metade deste o cloro era eliminado. TSAI et al. (1992) demonstraram que, no tanque de resfriamento, o cloro é rapidamente inativado pela matéria orgânica presente na água gelada, e calcularam em 400 mg/l a concentração suficiente para suplantar a demanda.

Concentrações maiores de cloro foram recomendadas por outros autores: 100-150 mg/l (TSAI et al., 1992), 50 mg/l (THOMSON et al., 1979), 20-40 mg/l (WABECK et al., 1968) e 10-20 mg/l (MEAD et al., 1975). Nestes trabalhos a redução obtida com estas concentrações geralmente foi sobre a contaminação cruzada, com pequeno efeito sobre a contaminação da carcaça. Isto porque a aderência provoca um aumento da resistência ao cloro em bactérias, como demonstrado nos trabalhos de HOLAH et al. (1990), LeCHEVALIER (1984) e RIDGWAY & OLSON (1982). Assim, a redução na etapa de resfriamento deve ter sido por efeito de lavagem e remoção do que pela utilização do cloro. Este efeito de

lavagem foi relatado por LILLARD (1990) e MARSHALL (1977).

Assim a qualidade microbiológica das carcaças deve ter sido fruto da utilização de grandes quantidades de água, o que foi discutido por PERIC et al. (1971). Em outros países há preocupação em diminuir a utilização de água no processo de abate, o que é positivo econômica e ecologicamente (MULDER, 1976; ANÔNIMO, 1991). Um fator que deve ser levado em conta é que estamos nos referindo apenas à contagem de população na pele. A contaminação cruzada (*Salmonella* sp., ex.) certamente será favorecida nesta situação, pois a bactéria arrancada de carcaça permaneceria viável na água. Entendemos assim que há necessidade de uma correta e eficiente utilização do cloro.

Neste caso, aumento da dosagem de hipoclorito de sódio seria recomendável. Entretanto outros compostos liberadores de cloro, tais como dióxido de cloro, não enfrentam problema de depleção. Em planta de abate de frangos, o dióxido de cloro foi estudado nas concentrações do produto livre de 3 mg/l, 5 mg/l por LILLARD (1985) e 20 mg/l por VILARREAL et al. (1990), que foram consideradas eficientes na redução da contaminação das carcaças.

Entendemos que o processo de limpeza nesta planta era deficiente. Por um lado o cloro era utilizado de maneira inadequado, tanto no tanque de resfriamento quanto na água da planta. A água da planta tinha cloração de cerca de 0,5 mg/l, pois era comum ao consumo humano. Pelos resultados encontrados (TABS. 15 e 16) a cloração deveria ser bem maior para evitar o acúmulo de *S. aureus* nos equipamentos. Também não eram seguidas no intervalo das operações todas as etapas preconizadas como tecnicamente mais corretas: pré enxágue, limpeza com detergentes, enxágue e sanificação (DUNSMORE et al., 1981 e MARRIOT, 1983). O resultado foi, em algumas amostragens, a permanência do *S. aureus* nos equipamentos após o processo de limpeza, que era realizado apenas com a utilização de jatos d'água sem pressão.

O composto mais indicado na sanificação da depenadeira, considerando-se o *S. aureus*, seria o composto quaternário de amônio. Nenhuma das cepas apresentou resistência a este sanificante. Uma possível seleção de cepas neste caso seria de mais difícil ocorrência, pois ao contrário dos halógenos, o resultado foi muito homogêneo, sem haver em uma mesma concentração cepas muito sensíveis e muito resistentes. Outra vantagem adicional deste composto, seria a formação de películas sobre equipamentos, que são bacteriostáticas, segundo SCHIMIDT (1984), o que impediria a capacidade de multiplicação de *S. aureus* nas superfícies nos intervalos, uma possibilidade alertada nos trabalhos de SCOTT & BLOOMFIELD (1990^{a,b}). O risco desta situação era real, pois detectamos *S. aureus* após a limpeza em superfícies (TAB. 6) e na depenadeira antes do início das operações de abate no dia e também após a limpeza (TAB. 4).

Também os compostos quaternários de amônio são menos afetado pela matéria orgânica do que o hipoclorito de sódio, estáveis, não corrosivos e pouco irritantes. Este tipo de composto tem sua eficiência aumentada com a temperatura de acordo com FREKE & HAGGIE (1981), podendo ser utilizado nestas condições, ao contrário do cloro, o que facilitaria a remoção de resíduos de matéria orgânica acumulados nos dedos do equipamento. Assim, as dificuldades apontadas na sanificação da depenadeira que são o acúmulo e dificuldade de remoção dos resíduos poderiam ser minimizadas. Sendo também detergentes, além de atuarem na remoção da sujeira acumulada, possuem maior poder de penetração, podendo atingir ranhuras e rachaduras dos dedos que os halógenos não alcançam. Em bactérias aderidas, LeCHEVALIER et al. (1988) encontraram diferenças na ação de compostos clorados devidas ao seu poder de penetração, onde a menor capacidade de penetração do hipoclorito de sódio reduziu sua ação.

Um inconveniente dos compostos quaternários de amônio é o fato de poderem selecionar a microbiota Gram negativa em detrimento da Gram positiva, o que em planta de abate pode ser problemático, alertam-nos ANDERSON, (1977) e SCHMIDT (1984). Entretanto, pelo menos *E. coli* não parece ser capaz de colonizar a depenadeira (CHERRINGTON et al., 1988). Este aspecto pode também ser minimizado pelo fato da contaminação interna se disseminar mais na evisceração, e a externa na depenagem de acordo com SILVA & ALMEIDA (1992), e a microbiota da pele constitui-se principalmente por microrganismos Gram positivos. A restrição do uso seria mais na sala de evisceração, não devendo haver maiores problemas no uso para a higienização da depenadeira.

6. CONCLUSÕES

1. O *S. aureus* é continuamente introduzido no abatedouro através da microbiota da ave viva. O microrganismo foi observado nas carcaças de frangos em todas as operações de abate estudadas, variando, apenas, a sua quantidade.
2. A contaminação das carcaças por mesófilos foi sempre maior que a por *S. aureus*. A população de mesófilos era bastante variável nos diferentes dias de análise da água de escaldagem, mas uniforme nos tanques em amostras do mesmo dia.
3. A escaldagem, através da temperatura da água e tempo de imersão, funciona como ponto de redução da contaminação microbiana de carcaças. A escaldagem à temperatura de 58°C reduziu drasticamente a contaminação por *S. aureus* das carcaças.

4. As depenadeiras, através de seus dedos de borracha, funcionam como um reservatório e disseminador de *S. aureus* entre as carcaças. É um importante ponto para a recontaminação das carcaças escaudadas e para o resto do processo. A lavagem com jato de água sem pressão reduz, mas não é suficiente para eliminar a contaminação dos dedos de borracha por *S. aureus*.
5. O resfriamento em tanques com água fria foi fator de redução de contaminação microbiana de carcaças no abatedouro. A concentração de cloro livre precisa ser superior a 3 mg/l para afetar a contaminação por *S. aureus*. O cloro era rapidamente inativado, não atingindo todo tanque. A redução deve ter se dado por efeito de lavagem.
6. Testes "in vitro" mostraram que a temperatura de 60°C eliminou a maioria das cepas de *S. aureus* entre um e dois minutos de contato, enquanto que na temperatura de 50°C as cepas de *S. aureus* sobreviveram por um período de até 10 minutos. A diferença na sensibilidade térmica entre as cepas estudadas foi pequena, mesmo entre aquelas isoladas de pele de frango imediatamente após a sangria.
7. *S. aureus* foi detectado na sala de depenagem em todas as superfícies de equipamentos examinados, mesmo após a limpeza. Na sala de evisceração somente foi detectado no aspirador de pulmão e não nos equipamentos que entram em contato com vísceras. Os manipuladores de ambas as salas eram portadores de *S. aureus*.

8. O uso de ácidos láctico e acético por aspersão não teve uma eficiência que justificasse sua utilização para a redução da contaminação por *S. aureus*.
9. O *S. aureus* foi muito resistente aos sanificantes hipoclorito de sódio (350 mg/l) e iodóforo (100 mg/l). Houve grandes variações de sobrevivência entre as cepas testadas.
10. O composto quaternário de amônio (40 mg/l) foi muito eficiente e regular. Neste estudo foi o produto indicado na sanificação de equipamentos contaminados pelo *S. aureus*, especialmente a depenadeira.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1-ADEGOKE, G.O. Characteristics of *staphylococci* isolated from man, poultry and some others animals. J. Appl. Bact. 40(2): 97-102, 1986.
- 2-ADESYUN, A. Enterotoxigenicity of *Staphylococcus aureus* strain isolated from nigerian ready-to-eat-foods. J. Fd. Prot. 42(6): 438-440, 1984.
- 3-ALLOWOOD, W.C & RUSSEL, D.A. Mechanisms of thermal injury in *Staphylococcus aureus*. Appl. Mic. 15(6): 1266-1269, 1967.
- 4-ALMEIDA, P.F & SILVA, E.N. Estudos sobre o controle e disseminação bacteriana em carcaças de frango de abatedouros industriais. Arg. Bras. Med. Vet. Zootec. 44(2): 105-120, 1992.

- 5-ANDERSON, M.E; MARSHALL, R.T.; STRINGER, W.C; & NAUMANN, H.D.
Combined and individual effects of washing and sanitizing on
bacterial counts of meat-A model system. J.Fd Prot. 46 (10):
680-670, 1977^a.
- 6-ANDERSON, M.E; MARSHALL, R.T.; STRINGER, W.C; & NAUMANN, H.D.
Efficacies of three sanitizers under six conditions of
application to surfaces of beef. J.Fd.Sci. 42(2): 326-329,
1977^b.
- 7-ANONIMO. Hygiene during scalding can be improved. Misset-World
Poultry 2(6): 32-33, 1991.
- 8-ARAFI, A.S; WILSON, H.R; JANKY, D.M & OBLINGER, J.C. Quality
characteristics of Bobwhite quail scalded at different times
and temperatures. J.Fd.Sci. 43(3): 870-873, 1978.
- 9-AVENS, J.S & MILLER, B. Quantifying bacteria on poultry carcass
skin. Poult.Sci. 49(5): 1309-1315, 1970.
- 10-BAILEY, J.S; THOMSON, J.E; COX, N.A & SEHACKELFORD, A.D. Chlorine
spray washing to reduce bacterial contamination of poultry
processing equipment. Poult.Sci. 65(6): 1120-1123, 1986.
- 11-BAIRD-PARKER, A.C. The *Staphylococci*: an introduction. J.Appl.
Bact. Symp. Series 12:16-89, 1990.
- 12-BAIRD-PARKER, A.C. Factors affecting the production of
bacterial food poisoning toxins. J.Appl. Bact. 34(1): 181-197,
1971.
- 13-BANAWART, G.J. Basic Food Microbiology. Nova Iorque, Avi
book, 2^a ed., EUA, 1989 p 195-219.

- 14-BARNES, E.M. Food poisoning and spoilage bacteria in poultry processing. The Veterinary Record. 24: 720-722, 1972.
- 15-BATISH, V; NATARJ, B & GROVER, S. Variation in the behaviour of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* after heat stress in milk. J. Appl. Bact. 66(1): 27-35, 1989.
- 16-BENEDICT, R.C. Microbial attachment to meat surfaces. Reciprocal Meat Conference proceedings. (41): 1-6, 1988.
- 17-BERCHIERI JR., A.; et alli. *Salmonella* em um abatedouro avícola. Ars Vet. 3(1): 81-87, 1987.
- 18-BERGDOLL, M.S. Staphylococcal Food poisoning in: Foodborne Disease. Cliver, D.O (ed.). San Diego, Academic Press., EUA, 1990. 2ª ed. Cap 5 p 86-106.
- 19-BERGDOLL, M.S. Staphylococcal intoxication in: Riemans, H.S & Byran, F. Foodborne Infections and Intoxications. Nova Iorque, Academic Press, EUA, 2ª ed, 1979. Cap IX, p 444-490.
- 20-BIANCO, L.; DAGNA, L; MARUCCHI, M. Il cloro nelle industrie alimentari: impiego, azione e residui nelle carni. Industria Alimentari 25(234): 11-18, 24, 1986.
- 21-BIBEL, D.J, ALY, R.; BAYLES, C.; STRAUSS, W.; SHINFIELD, H.R.; & MAIBACHA, M.I. Competitive adherence as a mechanism of bacterial interference Can. J. Micr. 22(6): 700-703, 1983.
- 22-BIEMULLER, G.W; CARPENTER, J.A & REYNOLDS, A.E. Reduction of bacteria on pork carcasses. J. Fd. Sci. 38(2): 261-263, 1973.

- 23-BLANKESHIP, L.C.; COX, N.A.; CRAVEN, S.E.; MERCURI, A.J & WILSON, R. L.. Comparison of the microbiological quality of inspection-passed and fecal contamination-condemned broiler carcasses. J.Fd.Sci. 40(6): 1236-1238, 1975.
- 24-BLANKESHIP, L.C.. Some characteristics of acid injury and recovery of *Salmonella bairdii* in a model system. J.Fd. Prot. 44(1): 73-77, 1981.
- 25-BLOOD, M.R. & JARVIS. Chilling of poultry: the effects of process parameters on the level of bacteria in spin-chiller waters. J.Fd.Tec. 2(2): 157-169, 1974.
- 26-BOLTON, K.J.; DOOD, C.E.R.; & WAITES, W.M. Chlorine resistance of *Staphylococcus aureus* strains isolated from poultry processing plants. Lett.Appl.Micr. 6(3): 31-34, 1988.
- 27-BÖHM, R. Acidos Organicos como desinfectantes. Fleischwirtschaft esp. 2: 52-54, 1988.
- 28-BRANT, A.W. The current status of poultry chilling in Europe. Poult.Sci. 53(4): 1291-1295, 1974.
- 29-BREMNER, A.S. Higiene e Inspección de Carne de Aves. Saragoça, Acribia, Esp., 1981. 205p.
- 30-BUSTA, F.F. Practical implications of injured microorganisms in food. J.Milk.Fd.Tec. 32(2): 138-145, 1976.
- 31-CAMPER, A.K. & McFETERS, G.A. Chlorine injury and the enumeration of waterborne coliform bacteria. Appl.Env.Micr. 3(37): 633-641, 1979.

- 32-CHATUVERDI, S.K & MAXCY, R.B. Ecosystems of food contact surfaces. Fd. Technol. 1(23): 67-71, 1969.
- 33-CHERRINGTON, A.C; BOARD, R.G & HINTON, M. Persistence of *Escherichia coli* in a poultry processing plant. Letts Appl. Micro. Z(5): 141-143, 1988.
- 34-CHERRINGTON, A.C; HINTON, M. & CHOPRA, I. Effect of short-chain organic acid on macromolecular synthesis in *E.coli*. J Appl. Bact. 3(68): 69-74, 1990.
- 35-CHERRINGTON, A.C; HINTON, M.; PEARSON, G.R.; & CHOPRA, I. Short-chain organic acids at pH 5.0 kill *E.coli* and *Salmonella spp.* without causing membrane perturbation. J. Appl. Bact. 2 (70): 161-165, 1991^a.
- 36-CHERRINGTON, A.C; HINTON, M.; PEARSON, G.R & CHOPRA, I. Inhibition of *E.coli* K12 by short-chain organic acids: lack of evidence for induction of the SOS response. J. Appl. Bact. 2 (70): 156-160, 1991^b.
- 37-COX, N.A; MERCURI, A.J; JUVEN, B.J; THOMSON, J.E & CHEW, V. Evaluation of succinic acid and heat to improve the microbiological quality of poultry meat. J. Fd. Sci. 39 (5): 985-987, 1974.
- 38-DERVRISE, L.A.; DEVOS, A.H; BEUMER, J. & MAES, R. Characteristics of *Staphylococcus* isolated from poultry. Poult Sci. 51: 389-397, 1971.
- 39-DERVRISE, L.A; DEVOS H.A ; VAN DAME, LR . Quantitative aspects of the *Staphylococcus aureus* flora of poultry. Poult Sci. 54(1): 95-101, 1975.

- 40-DERVRISE, L.A. & HÁJAK, V. Identification of pathogenic *Staphylococcus* isolated from animals and foods derived from animals. J. Appl. Bact. 49(1): 1-11, 1980.
- 41-DERVRISE, L.A. A simplified system for biotyping *Staphylococcus aureus* strains isolated from different animal species. J. Appl. Bact. 56(2): 215-220, 1984.
- 42-DERVRISE, L.A.; SCHELEIR, K.H. & ADEGOKE, G.O. Identification of coagulase-negative *staphylococci* from farm animals. J. Appl. Bact. 59(1): 45-55, 1985.
- 43-DODD, C.R., ADAMS, B.W. & MEAD, G.C. Use of plasmid profiles to detect changes in strains of *Staphylococcus aureus* during poultry processing. J. Appl. Bact. 63(5): 417-425, 1987.
- 44-DODD, C.E.R.; MEAD, G.C.; WAITES, W.M. Detection of the site of contamination by *Staphylococcus aureus* within the defeathering machinery of a poultry processing plant. lett. Appl. Microb. 2(3): 63-66, 1988^a.
- 45-DODD, C.E.R.; CHAFFEY, B.J.; WAITES, W.M. Plasmid profiles as indicators of the source of contamination of *Staphylococcus aureus* endemic within poultry processing plants. Appl. Env. Microb. 54(6): 1541-1549, 1988^b.

- 46-DUDDRIDGE, J.E; KENT, C.A & LAWS, J.F. Effect of surfaces shear stress on the attachment of *Pseudomonas fluorescens* to stainless steel under defined conditions. Biotechnology and Bioengineering 1(24): 153-164, 1982.
- 47-DUNSMORE, D.E; TWOMEY, W.G; WHITTLESTONE, W.G & MORGAN, H.W. Design and performance of system for cleaning product-contact surfaces of food equipment: a review. J. Fd. Prot. 3(44): 220-240, 1981^a.
- 48-DUNSMORE, D.E. Bacteriological control of food equipment surfaces by cleaning systems. I- Detergent effects. J.Fd. Prot. 1(44): 15-20, 1981.
- 49-DUNSMORE, D.E & THOMSON, M.A. Bacteriological control of food equipment surfaces by cleaning systems. II- Sanitizers effects. J.Fd. Prot. 1(44): 21-27, 1981.
- 50-DUNSMORE, D.E; THOMSON, M.A & MURRAY, G. Bacteriological control of food equipment surfaces by cleaning systems. III- Complementary cleaning. J.Fd. Prot. 2(44): 100-108, 1981^b.
- 51-EVANS, J.B; ANANABA, G.A, FATE, C.A & BERGDOLL, M.S. Enterotoxin production by atypical *Staphylococcus aureus* from poultry. J. Appl. Bact. 54(2): 257-261, 1983.
- 52-FLETCHER, M. The effects of culture concentration and age, time, and temperature on bacterial attachment to polystyrene. Can. J. Micr. 23(1): 1-6, 1977.
- 53-FREDELL, D.C; CORDS, B.B & BIVINS, B. Effect of pH and water hardness on the sanitizing activity of five commercial iodophors. J.Fd. Prot. 2(48): 558-561, 1985.

- 54-FREKE, C.D. & HAGGIE, D. Improved bactericidal efficiency of an acidic quaternary ammonium compound with increasing temperature. J. Fd. Prot. 2(44): 699-700, 1981.
- 55-GENIGEORGIS, C. & SADLER, W.W. Characterization of strains of *Staphylococcus aureus* isolated from livers of commercially slaughtered poultry. Poult. Sci. 45: 973-980, 1966.
- 56-GENIGEORGIS, C.; CARNUCIU, H.; DUTULESCU, D. & FAVER, T.B. Growth and survival of *Listeria monocytogenes* in market cheeses stored at 4 to 30°C. J. Fd. Prot. 2(54): 662-668, 1991.
- 57-GIBBS, P.A.; PATTERSON, J.T. & THOMPSON, J.K. The distribution of *Staphylococcus aureus* in a poultry processing plant. J. Appl. Bact. 34(3): 401-410, 1978^a.
- 58-GIBBS, P.A.; PATTERSON, J.T. & THOMPSON, J.K. Characterization of poultry isolates of *Staphylococcus aureus* by a new set of poultry phages. J. Appl. Bact. 48(2): 191-205, 1978^b.
- 59-GIBBS, P.A.; PATTERSON, J.T. & HARVEY, J. Biochemical characteristics and enterotoxigenicity of *Staphylococcus aureus* strains isolated from poultry. J. Appl. Bact. 44(1): 57-74, 1978^c.
- 60-GIBBS, P.A. & PATTERSON, J.T. Interactive growth of *Staphylococcus aureus* strains with a poultry skin microflora in a diffusion apparatus. J. Appl. Bact. 44(3): 387-400, 1978.

- 61-GOELKER, L.; NOTERMANS, S.; KRAMER, J. Production of enterotoxins and thermonuclease by *Staphylococcus aureus* strains in cooked egg-noodles. Int. J. Fd. Micr. 6(2): 127-139, 1988.
- 62-GOODSON, M & ROWBURY, R.J. Habituation to normally lethal acidity by prior growth of *Escherichia coli* at a sub-lethal acid pH value. Lett. Appl. Micr. 8(1): 77-79, 1989^a.
- 63-GOODSON, M & ROWBURY, R.J. Resistance of acid-habituated *Escherichia coli* to organic acids and it's medical and applied significance. Lett. Appl. Micr. 8(2): 211-214, 1989^a
- 64-HART, C.D; MEAD, G.C & NORRIS, A.P. Effects of gaseous enviroment and temperature on chicken breast meat. J. Appl. Bact. 70(1): 40-46, 1991.
- 65-HARVEY, J.; PATTERSON, J.T & GIBBS, P.A. Enterotoxigenicity of *Staphylococcus aureus* strains isolated from poultry: raw poultry carcasses as a potential food-poisoning hazard. J. Appl. Bact. 52(2): 257-264, 1982.
- 66-HEINZEL, M. & DUSSELDORF, H.K. Importância de la higiene personal en la transformación industrial de la carne. Fleischwirtschaft esp. (2): 41-42, 1984.
- 67-HERTEN, B.; BOARD, R.G; MEAD, G.C. Conditions affecting growth and enterotoxin production by *Staphylococcus aureus* on temperature-abused chicken meat. Lett. Appl. Micr. 9(2): 145-148, 1989.
- 68-HERSON, D.S.; MCGONIGLE; PAYER, M.A & BAKER, K.H. Attachment as a factor in the protection of *Enterobacter cloacae* from chlorination. Appl. Env. Micr. 53(5): 1178-1180, 1987.

- 69-HOLAH, J.T & THORPE, R.H. Cleanability in relation to bacterial retention on unused and abraded domestic skin materials. J. Appl. Bact. 62(4): 599-608, 1990.
- 70-HOLAH, J.T; HIGGS, S.R; ROBINSON, S; WORTHINGTON, D. & SPENVELEY, H. A conductance-based surface disinfection test for hygiene. Lett. Appl. Micr. 11(5): 225-259, 1990.
- 71-HUDSON, W.R & MEAD, G.C. *Listeria* contamination at a poultry processing plant. Lett. Appl. Micr. 2(6): 211-214, 1989.
- 72-HUMPREY, T.J & LANNING, D.G. *Salmonella* and *Campylobacter* contamination of broiler chickens carcass and scald tank water: the influence of water pH. J. Appl. Bact. 62(1): 21-25, 1987.
- 73-HUMPREY, T.J ; LANNING, D.G & LEEPER, D. The influence of scald water pH on the rates of *Salmonella typhimurium* and other bacteria attached to chicken skin. J. Appl. Bact. 57(3): 355-359, 1984.
- 74-HUMPREY, T.J. The effects of pH and levels of organic matter on the death rates of *Salmonellas* in chicken scald-tank water. J. Appl. Bact. 51(1): 27-39, 1981.
- 75-HURST, A; HUGHES, A & COLLIN-THOMPSON, D. The effect of sublethal heating on *Staphylococcus aureus* at different physiological ages. Can. J. Mic. 20(5): 765-768, 1974.
- 76-HURST, A; HUGHES, A & PONTEFRACT, R. Mechanisms of the temperature protective effect of salts on *Staphylococcus aureus*. Can. J. Mic. 26(4): 511-517, 1980.

- 77-ISIGIDI, B.K; DEVRIESE, L.A; GODARD, C & VAN HOOF, J.
Characteristics of *Staphylococcus aureus* associated with
meat products and meat workers. Lett Appl Mic 11(3):
145-147, 1990.
- 78-ISIGIDI, B.K; MATHIEU, L.A.D; GODARD, C; & VAN HOOF, J. Enterotoxin
production in different *Staphylococcus aureus* biotypes
isolated from food and meat plants. J Appl Bact 72(1):
16-20, 1992.
- 79-JUVEN, B.J & ROGOL, M. Incidence of *Campylobacter jejuni* and
Campylobacter coli serogroups in a chicken processing
factory. J.Fd. Prot. 49(9): 209-292, 1986.
- 80-KINDE, H.; GENIGEORGIS, A & PAPPAIONOU, M. Prevalence of
Campylobacter jejuni in chicken wings. Appl Env. Micr 45
(3): 1116-1118, 1983.
- 81-LACHICA, R.V.F. GENIGEORGIS, C. & HOEFRICH, P.D. Metachromatic
agar-difusion methods for detecting staphylococcal nuclease
activity. Appl. Micr. 4(1): 585-587, 1971.
- 82-LECHEVALLIER, M.W; HASSENAUER, T.S; CAMPER, A.K; McFETERS, G.A.
Disinfection of bacteria attached to granular activated
carbon. Appl. Env. Mic. 48(5): 918-923, 1984.
- 83-LECHEVALLIER, M.W.; CAWTHON, C.D; LEE, R.G. Inactivation of
biofilm bacteria. Appl. Env. Mic. 54(10): 2492-2499, 1988.
- 84-LILLARD, H.S. Occurrence of *Clostridium perfringens* in broiler
processing and further processing operations. J.Fd.Sci.
36(7): 1008-1010, 1971.

- 85-LILLARD, H.S. Effect on broiler carcasses and water of treating chiller water with chlorine or chlorine dioxide. Poult. Sci. 59(8): 1761-1766, 1980.
- 86-LILLARD, H.S. Improved chilling systems for poultry. Fd Techn. 43(3): 58-67, 1982.
- 87-LILLARD, H.S.; HAMM, D & THOMSON, J.E. Effect of spray-washing uneviscerated carcasses on microbiological quality of hot-boned poultry meat harvested after reduced processing. Poult. Sci. 63(4): 661-663, 1984.
- 88-LILLARD, H.S. Bacterial cell characteristics and conditions influencing their adhesion to poultry skin. J. Fd. Prot. 48(9): 803-807, 1985.
- 89-LILLARD, H.S.; BLANKESHIP, L.C.; DICKENS, J.A.; CRAVEN, S.E.; SHACKELFORD, A.D. Effect of acetic acid on the microbiological quality of scalded picked and unpicked broiler carcasses. J. Fd. Prot. 50(2): 112-114, 1987.
- 90-LILLARD, H.S. Comparison of sampling methods and implications for bacterial decontamination of poultry carcasses by rinsing. J. Fd. Prot. 51(5): 405-408, 1987.
- 91-LILLARD, H.S. The impact of commercial processing procedures on the bacterial contamination and cross-contamination of broiler carcasses. J. Fd. Prot. 53(3): 202-204, 1990.

- 92-LOTTER, L. & GENIGEORGIS, C.A. Deoxyribonucleic acid base composition and biochemical properties of certain coagulase-negative enterotoxigenic cocci. Appl. Micro. 22 (2): 152-158, 1975.
- 93-MARRIOTT, N.C. Principles of Food Sanitation. Nova Iorque, Avi Book, EUA, 1983, Cap.6: Sanitizers p 101-113.
- 94-MARSHALL, R.T.; ANDERSON, M.E; NAUMANN, H.D; STRINGER, W.C. Experiments in sanitizing beefs with sodium hypochlorite. J. Fd. Prot. 40(4): 246-249, 1977.
- 95-MAY, K.N. Changes in microbial numbers during final washing and chilling of commercially slaughtered broilers. Poult. Sci. 53(4): 1282-1285, 1974.
- 96-McBRIDE, G.B; SKURA, B.J; YADA, R.Y & BOWMER, E.J. Relationship between incidence of *Salmonella* contamination among pre-scalded, eviscerated and post-chilled chickens in a poultry processing plant. J. Fd. Prot. 43(7): 538-542, 1980.
- 97-McCOY & FABER, J.E. Influence of food microorganisms on staphylococcal growth and enterotoxin production in meat. Appl. Micro. 14(3): 372-377, 1966.
- 98-McCLURE, P.J, Kelly, T.M & ROBERTS, T.A. The effects of temperature, pH, sodium chloride and sodium nitrite on the growth of *Listeria monocytogenes*. Int. J. Fd. Micro. 1(14): 77-92, 1991.
- 99-MEAD, G.C; ADAMS, B.W & PARRY, R.T. The effectiveness of in-plant chlorination in poultry processing. Brit. Poult. Sci. 16(5): 517-525, 1975.

- 100-MEAD, G.C & ADAMS, B.W. Chlorine resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from turkeys and turkey products. Lett. Appl. Microb. 3(2): 131-133, 1986.
- 101-MEAD, G.C; NORRIS, A.F & BRATCHELL, N. Differentiation of *Staphylococcus aureus* from freshly slaughtered poultry and strains "endemic" to processing plants by biochemical and physiological tests. J. Appl. Bact. 66(2): 153-159, 1989.
- 102-MERCER, W.A & SOMMERS. Chlorine in food plant sanitation. Adv. Fd. Research (7): 129-169, 1957.
- 103-MINOR, T.S & MARTH, E.H. Staphylococci and Their Significance in Foods. Nova Iorque, Elsevier, EUA, 1976. Cap 11. Behavior of *Staphylococci* in meat, fish and poultry products. p 219-231.
- 104-MORRISON, G.J & FLEET, G.H. Reduction of *Salmonella* on chicken carcasses by immersion treatments. J. Fd. Prot. 49(11): 939-943, 1985.
- 105-MULDER, R.W.A; DORRESTEIJN, L.J & HOFMANS, G.P. Experiments with continuous immersion chilling of broilers carcasses according to the code of practice. J. Fd. Sci. 41(2): 438-442, 1976.
- 106-MULDER, R.W.A; DORRESTEIJN, L.W.J. & VAN DER BROEK, J. Cross-contamination during the scalding and plucking of broilers. Br. Poult. Sci. 19(1): 61-70, 1978.

- 107-NORTERMANS, S. & KAMPELMACHER, H.E. Further studies on the attachment of bacteria to skin. Brit. Poult. Sci. 16(5): 351-361, 1975^a.
- 108-NORTERMANS, S. & KAMPELMACHER, H.E. Heat destruction of some bacterial strains attached to broiler skin. Br. Poult. Sci. 16(4): 351-361, 1975^b.
- 109-NORTERMANS, S.; VAN LEUDSDEN, F.M. & VAN SCHOTHORST, M. Suitability of different bacterial groups for determining faecal contamination during post scalding stages in the processing of broiler chickens. J. Appl. Bact. 63(43): 383-389, 1977.
- 110-NORTERMANS, S.; DUFRENNE, J.; VAN LEEUWEN, W.J. Contamination of broilers chicken by *Staphylococcus aureus* during processing : incidence and origin. J. Appl. Bact. 52(2): 275-281, 1982.
- 111-OCKERMAN, W.H; BORTON, R.J.; CAHILL, V.R; PARRETT, N.A & HOFFMAN, H.G. Use of acetic and lactic acid to control the quantity of microorganisms on lamb carcasses. J. Milk Fd Tec 32 (4): 203-204, 1974.
- 112-OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS OF THE ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRIS. 15th ed. AOAC, Arlington, 1990p 133-131, cap 6 vol 1 p 133-131.
- 113-OKREND, A.J; JOHNSTON, R.W & MORAN, A. Effect of acetic acid on the death rates at 52°C of *Salmonella newport*, *Salmonella typhimurium* and *Campylobacter jejuni* in poultry scald water. J. Fd. Prot. 49(7): 500-503, 1986.

- 114-DOOSTEROM, J; WILDE, G. J; BOER, E; BLAAUW, L & KARMAN, H. Survival of *Campylobacter jejuni* during poultry processing and pig slaughtering. J.Fd.Prot. 46(8): 702-706, 1983.
- 115-PARK, D.; RUA, S.M & ACKER, R.C. Direct application of a new hypochlorite sanitizer for reducing bacterial contamination on foods. J.Fd.Prot. 54(12): 960-965, 1991.
- 116-PERIC, G.A; ROSSMAITH, E; LEISTENER, L. Investigations into the influence of spin chiller cooling on the surface bacterial content of poultry. Die Fleischwirtschaft (51): 216-218 1971.
- 117-PURDY, J; DODD, C.E.R; FOWLER, P.R. Increase in microbial contamination of defeathering machinery in a poultry processing plant after changes in the method of processing. Lett.Appl.Micr. 4(2): 35-38 1988.
- 118-QUARTNEY-PAPAFID, E.A; MARSHALL, R.T & ANDERSON, M.E. Short-chain fatty acids as sanitizers for beef. J.Fd.Prot. 43(3): 168-171, 1980.
- 119-RIDGWAY, H.F & OLSON, B.H. Chlorine resistance patterns of bacteria from two drinking water distribution systems. Appl.Env.Micr. 44(4): 972-987, 1982.
- 120-ROSKY, C.T & HANDY, M.K. Persistence of *Staphylococcus* in Bruised tissue microenvironment affecting persistence of *Staphylococcus aureus*. J.Fd.Sci. 40(3): 496-499. 1975.
- 121-SCHEUSNER, D.L; BUSTA, F.F & SPECK, M.L. Injury of bacteria by sanitizers. Appl.Env.Micr. 21(1): 41-45, 1971.

- 122-SCHIMIDT,U & BEMM,Z. How should a meat products factory be cleaned and disinfected and how should the effects of these process be controled. Die Fleischwirtschaft. 2: 1442-1441, 1978.
- 123-SCHIMIDT,U. Contaminación de alimentos, agentes limpiadores y desinfectantes. Fleischwirtschaft esp. (2): 38-41, 1987.
- 124-SCHIMITT,M.; SCHULER-SCHID,U.;SCIMIDT-LORENZ,W. Temperature limits of growth,tnase and enterotoxin production of *Staphylococcus aureus* strains isolated from foods. Int.J. Fd.Micr. 11(1): 1-20, 1990.
- 125-SCOTT,E. & BLODMFIELD,S.F. The survival and transfer of microbial contamination via cloths, hands and utensils. J.Appl.Bact. 1(68): 271-278, 1990.
- 126-SCOTT,E. & BLOOMFIELD,S.F. Investigations of the effectiveness of detergent washing, dryng and chemical disinfection on contamination of cleaning cloths. J.Appl. Bact. 2(68): 279-283, 1990.
- 127-SEYFRIED,P.L & FRASER,D.J. Persistence of *Pseudomonas aeruginosas* in chlorinated swimming pools. Can.J.Micr. 24 (3): 350-355, 1980.
- 128-SHANKER.S.; ROSENFELD,J.A; DAVEY,G.R & SORREL,T.C. *Campylobacter jejuni*: incidence in processed broilers and biotype distribution in human and broilers isolate. Appl. Env.Micr. 43(5): 1219-1220, 1982.
- 129-SHEENA,A.Z & STILES,M.E. Efficacy of germicidal hand wash agents against transient bacteria inoculated onto hands. J.Fd.Prot. 44(8): 772-727, 1983.

- 129-SHEENA, A.Z & STILES, M.E. Efficacy of germicidal hand wash agents against transient bacteria inoculated onto hands. J.Fd.Prot. 36(8): 772-727, 1983.
- 130-SHIMIZU, A. Bacteriophage typing of *Staphylococcus aureus* isolated from chicken Staphylococcosis in Japan. Jap. J. Vet. Sci. 68: 629-634, 1976
- 131-SHIOZAWA, K ; KATO, E; SHIMIZU, A. Enterotoxigenicity of *Staphylococcus aureus* isolated from chickens. J.Fd.Prot. 42(9): 683-685, 1980
- 132-SKITH, J.L, BENEDICT, R.C & PALUMBO, S.A. Protection against heat-injury in *Staphylococcus aureus* by solute. J.Fd.Prot. 45 1): 54-58, 1982.
- 133-SKITH, J.L, BUCHANA, R.L & PALUMBO, S.A. Effect of food environment on Staphylococcal enterotoxin synthesis: a review. J.Fd.Prot. 5(46): 545-555, 1983.
- 134-SMULDERS, F.J.M.; BARENDSEN, P.; VAN LOGTESTIJN, J.G; MOSSEL, D. A.A; & VAN DER KAREL, G.N. Review: Lactic acid: considerations in favour of its acceptance as a meat decontaminant. J.Fd.Tec. 21(4): 419-436, 1986.
- 135-SNEATH, P.H ed. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Baltimore: Williams & Wilkin, EUA, vol 2. Seção 12, 1986, p 999-1013.
- 136-SPECK, I.M. Compendium of Methods for the Microbiological Examinations of Food. Washington, APHA, EUA, 22 ed. 1984. 702p .

- 137--SPERBER, W.H. & TATINI, S.R. Interpretation of the tube coagulase test for identification of *Staphylococcus aureus*. Appl. Mic. 22(4): 502-505, 1975
- 138--STANDART METHODS FOR THE EXAMINATION OF WASTES AND WASTEWATERS. APHA, Washington, 16th ed 1985. p 294-300.
- 139--STANLEY, P. Factors affecting the irreversible attachment of *Pseudomonas aeruginosa* to stainless steel. Can. J. Micr. 22(11): 1493-1499, 1983.
- 140--TAKEUCHI, S. & SUTO, T. Biological characters of *Staphylococcus aureus* isolated from diseased chickens. Nat. Inst. Anim. Hlt. Quart 13: 124-130, 1973.
- 141--TANNER, R.S. Comparative testing and evaluation of hard-surface disinfectants. J. Ind. Micr. 4: 145-154, 1989.
- 142--TATINI, S.R. Influence of food environments on growth of *Staphylococcus aureus* and production of various enterotoxins. J. Milk Fd. Tec. 36(11): 559-563, 1973.
- 143--THOMPSON, J.K.; GIBBS, P.A.; PATTERSON, J.T. *Staphylococcus aureus* in commercial laying flocks: incidence and characteristics of strains isolated from chickens pullets and hens in an integrated commercial enterprise. Brit. Poul. Sci. 3(11): 317-330, 1980.
- 144--THOMSON, J.E.; WHITEHEAD, W.K. & MERCURI, A.J. 2. Chilling poultry meat-a literature review. Poult. Sci 53(2): 1268-1267, 1974.

- 145--THOMSON, J.E; COX, N.A & BAILEY, J.S. Chlorine, acid, and heat treatments to eliminate *Salmonella* on broiler carcasses. Poult. Sci 55(4): 1513-1517, 1976^a.
- 146--THOMSON, J.E; COX, N.A ; BAILEY, J.S; HOLLADAY, J.H & RICHARDSON, R.L. Bacteriological sampling of poultry carcasses by a template-swab method. Poult. Sci 55(1): 459-462, 1976^b.
- 147--THOMSON, J.E; BAILEY, J.S; COX, N.A; POSEY, D.A & CARSON, M. *Salmonella* on broiler carcasses as affected by fresh water input rate and chlorination of chiller water. J.Fd. Prol 32(12): 954-955, 1979.
- 148--TO, E.C & ROBACH, M.C. Potassium dip as a method of extending shelf life and inhibiting the growth of *Salmonella* and *Staphylococcus aureus* on fresh, whole broilers. Poult. Sci. 59(4): 726-730, 1980.
- 149--TROLLER, J.A. Sanitation in Food Processing Orlando, Acad. Press, inc. EUA, 1983 p 79-110.
- 150--TSAI, I.; SCHADE, J.E; HOLYNEUX, B.T. Chlorination of poultry chiller water: chlorine demand and disinfection efficiency. Poult. Sci 71(1): 188-196, 1992.
- 151--VAN NETTEN, P.; DER VEN, J.V; JAISILI, F. & MOSSEL, D.A.A.. The enumeration of sublethally injured populations of *Staphylococcus aureus* in foods. Lett. Appl. Mic. 19(3): 117-122, 1996.
- 152--VEERKAMP, C.H.; MULDER, R.W.A. & GERRITS, A.R. Chilling and cleaning of poultry. Flenschwirtschaft 52(5): 612-614, 616 & 619-621, 1972.

- 153-VILARREAL, M; BAKER, R.C; REGENSTEIN, J.M. The incidence of *Salmonella* on poultry carcasses following the use of slow release chlorine dioxide (alcide). J.Fd.Prot. 53(6): 465-467, 1990.
- 154-WABECK, C.J; SCHAWALL, D; EVANCHO, B; HECK, J. & ROGERS, D. *Salmonella* and total count reduction in poultry treated with sodium hypochlorites solutions. Poult.Sci. 32 (4): 1090-1094, 1968.
- 155-WEMPE, J.K; GENIGEORGIS, C.A; FARVER, T.B & YUSUFU, H. Prevalence of *Campylobacter jejuni* in two California chicken processing plants. Appl. Env. Micro. 2(45): 355-359, 1983.
- 156-WINPFHEIMER, I.; ALTMAN, N.S & HOTCHKINS, J.H. Growth of *Listeria monocytogenes* Scott A, serotype 4 and competitive spoilage organisms in raw chicken packaged under modified atmospheres and in air. Int. J.Fd.Micro. 324(11): 205-214, 1990.
- 157-WOOLTHUIS, C & SMULDERS, F.J.M. Microbial decontamination of calf carcasses by lactic acid sprays. J.Fd.Prot. 38(10): 823-837, 1985.
- 158-YANG, X.; BOARD, R.G; MEAD, G. Influence of spoilage flora and temperature on growth of *Staphylococcus aureus* in turkey meat. J. Fd. Prot. 51(4): 303-309, 1988.

159-ZEITOUN, A.A.M & DEBEVERE, J.M. The effect of treatment with buffered lactic acid on microbial decontamination and on shelf life of poultry. Int. J. Food Micro. 11(3/4): 305-312, 1990.

160-ZOLTAI, P.T; ZOTTOLA, E.A & MCKAY, L.L. Scanning electron microscopy of microbial attachment to milk contact surfaces. J. Food Prot. 44(3): 204-208, 1981.

APÊNDICE

1. CALDO SAL-MANITOL

Triptona.....	17,0	g
Soitone.....	10,0	g
Cloreto de sódio.....	100,0	g
d-Manitol.....	2,5	g
Fosfato dipotássio.....	2,5	g
Bacto vermelho de fenol.....	0,0025	g
Água destilada.....	1000,0	ml

pH 7,3

Esterilização em autoclave, 15 minutos 121°C/15 libras de pressão

2. AGAR DNASE

Agar Dnase Difco.....	5,8	g
Cloreto de cálcio anidro (solução 1%).....	0,1	g
Cloreto de sódio.....	9,26	g
Azul de O-toluidina (solução 1%).....	0,3	ml
Tampão Tris.....	6,1	g
Ágar.....	8,22	g
Água destilada.....	1000,0	ml

pH 9,0

O tampão Tris era adicionado na água e o pH ajustado. Após eram acrescentados os outros componentes, com exceção do Azul de O-toluidina. O meio era aquecido até fundir totalmente o agar, resfriado e só então adicionado o Azul de O-toluidina. Meio não pode sofrer esterilização.

3. AGAR BAIRD-PARKER BASE

Triptona	10,0	g
Extrato de carne.....	5,0	g
Extrato de levedura.....	1,0	g
Piruvato de sódio.....	5,0	g
Cloreto de sódio.....	5,0	g
Cloreto de lítio.....	20,0	g
Glicina.....	12,0	g
Agar.....	20,0	g
Água destilada.....	1000,0	ml

pH 7,3

Esterilização em autoclave, 15 minutos 121°C 15 libras de pressão

3.1. SOLUÇÃO GEMA DE OVO

-Lavar e escovar o ovo

-Imergir em solução álcool 70% 15 minutos

-Abrir assepticamente e separar gema da clara

-Diluir 1:1 em solução salina 0,85% estéril

Para 90 ml do meio base estéril adicionar:

-Solução gema de ovo.....	5,0	ml
-Solução estéril 1% telurito de potássio.....	1,0	ml

O telurito de K foi esterilizado por filtração. O meio base era resfriado até temperatura adequada para não cozer a gema antes da solução ser misturada.

6. CALDO NUTRIENTE (OAGAC)

Extrato de carne.....	5,0	g
Peptona.....	10,0	g
Cloreto de sódio.....	5,0	g
Água destilada.....	1000,0	ml

pH 6,8

Esterilização em autoclave, 15 minutos 121°C/15 libras de pressão

5. ÁGUA SALINA PEPTONADA

Peptona.....	1,0	g
Cloreto de sódio.....	8,5	g
Água destilada.....	1000,0	ml

Esterilização em autoclave, 15 minutos 121°C/15 libras de pressão

7. CALDO INFUSO CÉREBRO-CORAÇÃO

Infuso cérebro de vitela	200,0	g
Infuso coração de boi.....	250,0	g
Proteose peptona.....	10,0	g
Dextrose.....	2,0	g
Cloreto de sódio.....	5,0	g
Fosfato dipotássio.....	2,5	g
Água destilada.....	1000,0	ml

pH 7,4

Esterilização em autoclave, 15 minutos 121°C/15 libras de pressão

B. AGAR INFUSO CÉREBRO-CORAÇÃO

Infuso cérebro de vitela	200,0 g
Infuso coração de boi.....	250,0 g
Proteose peptona.....	10,0 g
Dextrose.....	2,0 g
Cloreto de sódio.....	5,0 g
Fosfato dipotássio	2,5 g
Ágar.....	15,0 g
Água destilada.....	1000,0 ml

pH 7,4

Esterilização em autoclave, 15 minutos 121°C/15 libras de pressão