

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA AGRÍCOLA E DO
AMBIENTE

**Avaliação do *Design* Higiênico de Equipamentos que Contribuem para
Contaminação de Carcaças na 1º Etapa de Abate de Suínos**

ROBERTA FOGLIATTO MARIOT
Engenheira de Alimentos

Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil

Janeiro de 2010

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA AGRÍCOLA E DO
AMBIENTE

**Avaliação do *Design* Higiênico de Equipamentos que Contribuem para
Contaminação de Carcaças na 1º Etapa de Abate de Suínos**

ROBERTA FOGLIATTO MARIOT
Engenheira de Alimentos

Dissertação apresentada
ao Programa de Pós-
Graduação em
Microbiologia Agrícola e do
Ambiente como um dos
requisitos para obtenção
do Grau de Mestre em
Microbiologia Agrícola.

Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil
Janeiro de 2010

Catálogo na Publicação
UFRGS/ICBS/Biblioteca Setorial

M342a Mariot, Roberta Fogliatto

Avaliação do design higiênico de equipamentos que contribuem para contaminação de carcaças na 1ª etapa de abate de suínos / Roberta Fogliatto Mariot. – 2010.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Instituto de Ciências Básicas da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola e do Ambiente. Porto Alegre, BR-RS, 2010.

Orientação: Prof. Eduardo César Tondo

1. Indústrias da carne 2. Contaminação de equipamentos 3. Contaminação de alimentos 4. Suínos 5. Salmonella I. Tondo, Eduardo César, orient. II. Título.

CDU 579.67 (043)

AGRADECIMENTOS

Um agradecimento muito especial a Dona Clarice e o Sr. Bruno, nunca teria conseguido fazer nada sem eles. Além de amor, dedicação total e educação, sempre me deram muita força pra conquistar meus objetivos.

Para o Igor que esteve ao meu lado, me incentivando, me ajudando na estatística e me servindo de exemplo como profissional.

Não poderia esquecer do Fábio e da Cláudia por me ajudarem sempre que precisei, pelas caronas, pelas conversas e pelos almoços de domingo.

Ao meu orientador, Eduardo Tondo, muito obrigada pela finalização de mais esta etapa.

Um agradecimento a todos os professores, funcionários desta universidade, que apesar das dificuldades enfrentadas, tornam a UFRGS uma das melhores universidades do país. Em especial a prof. Ana Frazzon, um exemplo de pessoa e profissional.

Para minhas bolsistas, ou melhor, escravinhas, Patrícia e Márcia pela ajuda, vocês foram uma parte muito importante deste trabalho. Cheila, muito obrigada pelas idas às coletas e pelas muitasssssss horas de análises. Não sei o que seria do laboratório sem ti. A todas as meninas do laboratório: Luiza, Ana, Jaslin, Letícia, Fabi, Fer, Carin, Júlia... pelos cafezinhos mais alegres, que deixam nosso dia-dia mais feliz.

A todos os meus amigos que tornam a minha vida especial.

A todo pessoal do SENAI: Mari, Nelys, Leo, Dai, Gus, Fábica e Márcia por todo o companheirismo.

AVALIAÇÃO DO *DESIGN* HIGIÊNICO DE EQUIPAMENTOS QUE CONTRIBUEM PARA CONTAMINAÇÃO DE CARÇAÇAS NA 1º ETAPA DE ABATE DE SUÍNOS ¹

Autor: Roberta Fogliatto Mariot

Orientador: Eduardo César Tondo

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar a contaminação microbiológica e o isolamento de *Salmonella* spp. em diferentes estágios da 1º etapa de um abatedouro frigorífico, além de aspectos importantes do *design* higiênico de equipamentos que demonstraram contribuir para a contaminação das carcaças. Para a avaliação microbiológica das carcaças suínas foram estimadas as contagens de microrganismos heterotróficos totais (CT) e a incidência de *Salmonella* spp. em quatro locais da superfície (papada, lombo, barriga e pernil) de 239 carcaças processadas em uma indústria exportadora Abatedoura frigorífica de suínos (3200 animais por dia). Equipamentos que demonstraram incrementar as CT e o isolamento de *Salmonella* spp. nas carcaças suínas avaliadas foram submetidos a uma lista de verificação dos requisitos do *design* higiênico (113 itens). A superfície em contato com as carcaças das polidoras foram os chicotes, confeccionados por elastômeros, avaliados quanto à formação e remoção de biofilme em dois diferentes tipos de elastômeros e analisados quanto a sua topografia, através de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). Reduções significativas ($p < 0,05$) foram observadas nas CT de 99,85% após a escaldagem e 99,8% e 94,36%, em ambas as chamuscagens, respectivamente. Incrementos significativos ($p < 0,05$) foram encontrados nas depilagem e em ambos os polimentos de carcaças. Na incidência de *Salmonella* spp. os resultados encontrados foram semelhantes; *Salmonella* spp. não foi detectada após a escalda e após os chamuscadores. Entretanto houve um aumento na incidência após a depiladeira e em ambas as polidoras. Estes resultados demonstraram que a depiladeira e a polidora aumentaram as contaminações microbiológicas das carcaças suínas, portanto foram diagnosticadas através de uma lista de verificação do *design* higiênico e demonstraram que mais de 50% dos requisitos não foram atendidos por estas máquinas, corroborando com a avaliação microbiológica. A formação e remoção de biofilme na superfície dos diferentes elastômeros, utilizados na construção dos chicotes e avaliados neste estudo, demonstraram que a maior aderência ocorreu no tempo de 180 min em ambos os materiais avaliados e que o elastômero termoplástico poliéster (ETP) demonstrou aderir menos em relação ao confeccionado de borracha natural vulcanizada. Em relação à remoção de biofilme, ambos os tempos de contato com o ácido peracético a 1% testados (1 e 10 min) demonstraram ser eficientes na remoção ou eliminação de *Salmonella* spp. dos corpos de prova. Na avaliação da topografia da superfície dos diferentes elastômeros, através da MEV, a borracha natural vulcanizada demonstrou possuir uma rugosidade mais elevada quando comparada ao ETP, corroborando com os resultados encontrados na aderência.

¹ Dissertação de Mestrado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente – Microbiologia Agrícola, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. (42p.) Janeiro, 2010.

EVALUATION OF HYGIENIC DESIGN OF EQUIPMENTS WHICH CONTRIBUTE TO PORK CARCASSES CONTAMINATION IN A SLAUGHTERHOUSE ²

Author: Roberta Fogliatto Mariot

Supervisor: Eduardo César Tondo

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the microbial contamination, the incidence of *Salmonella* spp. at various stages of the pork slaughterlines and aspects of hygienic design from equipments which contributed with the pork carcass contamination. To evaluate the microbial contamination and the incidence of *Salmonella* spp. at various stages of the pork slaughterlines, the total counts (TC) and the incidence of *Salmonella* spp. were estimated in four surface locations (Ham, belly, loin and neck) on 239 pork carcasses processed through a big exporter pig-slaughtering plant (3200 animals per day). In order to evaluate important aspects of design hygienic from equipments that contributed with pork carcass contamination, the hygienic design requirements list verification (113 items) were used to do a diagnosis, to verify the biofilm formation and removal in different elastomers used in polishing food area and to compare both surface in scanning electron microscope. A significant ($p < 0.05$) increase was found in dehairing and in both polishing stages. Similar results to *Salmonella* incidence were observed; the incidence increased to 16.67% from 0% on dehairing and then to 20% after the first polishing and increased 10.5% from 0% after the second polishing. When dehairing and polishing machines were diagnosed with hygienic design requirements list verification both demonstrated not attended more than 50 % of the hygienic design requirements, both machines shown poor welding, dead spaces where dirt can be retained and resulting in food contamination, for example. The biofilm formation and removal demonstrated significant difference between the time of contact with the bacterial solution (1, 30, 60 and 180 min) and the time of 180 min demonstrated greater adherence when compared to other contact time. Elastomer Termoplastic Polyester (ETP) demonstrated less adherence when compared with natural volcanic rubber. In the biofilm removals were used 180 min in contact with the bacterial suspension and 1 and 10 min in contact with the peracetic acid 1% were not observed microbial growth in both elastomers. When were compared both surface in scanning electron microscope, natural volcanic rubber demonstrated more roughness when compared with ETP.

² Master of Science dissertation in Agricultural Microbiology, Institute of Basic Health Sciences, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil. January, 2010.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
1.1 Objetivo geral	3
1.2. Objetivos específicos	3
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
2.1 DTA e <i>Design</i> Higiênico	4
2.2 Indústrias Frigoríficas Abatedouras de Suínos	5
2.2.1 Dados de Mercado e Produção de Carne Suína	5
2.2.2 Carne Suína e Contaminação Microbiológica	6
2.2.3 Carne Suína e contaminação por <i>Salmonella</i> spp.	7
2.6 Biofilmes	10
2.7 Normas EN 1672 e EN ISO 14159	11
3. MATERIAIS E MÉTODOS	14
3.1 Avaliação Microbiológica das Carcaças	14
3.1.1 O frigorífico e o processamento de carcaças suínas na 1ª etapa	14
3.1.2 Amostragem	15
3.1.3 Contagem de microrganismos heterotróficos totais (CT) em carcaças	16
3.1.4 Presença de <i>Salmonella</i> spp.	16
3.1.5 Análise Estatística	17
3.2 Avaliação de <i>Design</i> Higiênico	17
3.3 Formação e Remoção de Biofilme em Chicotes de Diferentes Elastômeros Utilizados nas Polidoras	18
3.3.1 Inóculo	18
3.3.2 Corpos de prova	18
3.3.3 Preparação dos corpos de prova	19
3.3.4 Formação de Biofilme	19
3.3.5 Remoção de Biofilme	20
3.3.6 Análises estatísticas	21
3.4 Microscopia Eletrônica de Varredura	21
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
4.1 Avaliação Microbiológica das Carcaças	23
4.2 Análise da depiladeira e da polidora quanto a requisitos de <i>Design</i> Higiênico	29
4.2.1 Principais não conformidades encontradas na Depiladeira	29
4.2.2 Principais não conformidades encontradas na Polidora	31
4.3 Formação e Remoção de Biofilme em Chicotes de Diferentes Elastômeros Utilizados nas Polidoras	32

4.4 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	36
5. CONCLUSÕES	39
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	40

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Contagens de microrganismos heterotróficos totais (CT) na superfície de carcaças suínas avaliadas em diferentes estágios da 1° etapa do abate de um abatedouro frigorífico do Rio Grande do Sul.....	23
Tabela 2. Frequência de isolamento de <i>Salmonella</i> spp. em carcaças suínas amostradas em diferentes estágios da 1° etapa do abate de um abatedouro frigorífico do Rio Grande do Sul.....	24
Tabela 3. Contagens médias de <i>Salmonella</i> spp. aderidas a superfícies de corpos de prova elaborados com dois elastômeros utilizados para confecção de chicotes de polidoras para abatedouros frigoríficos.	33
Tabela 4. Médias de <i>Salmonella</i> spp. aderidas aos elastômeros A e B em relação ao tempo de contato com Ácido Peracético 1%.....	35

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** CT (\log_{10} UFC/cm²) no pernil, barriga, lombo e papada das carcaças avaliadas nos estágios do abate 1. após a sangria, 2. após chuvaeira de aspersão, 3. após a escalda, 4. após a depiladeira, 5. após a primeira polidora, 6. após o primeiro chamuscador, 7. após a segunda polidora, 8. após o segundo chamuscador e 9. após o toailete manual das carcaças....28
- Figura 2:** Formação de biofilme de *Salmonella* spp. em dois diferentes tipos de elastômeros: Elastômero A (♦) confeccionado com borracha natural vulcanizada; Elastômero B (■) confeccionado com elastômero termoplástico poliéster.33
- Figura 3:** Avaliação da Remoção de Biofilme de *Salmonella* spp. em 2 diferentes elastômeros utilizando Ácido Peracético a 1%: Elastômero A (♦) confeccionado com borracha natural vulcanizada; Elastômero B (■) confeccionado com elastômero termoplástico poliéster.35
- Figura 4:** Imagem de Microscopia Eletrônica de Varredura ilustrando a análise topográfica da 1. borracha natural vulcanizada e 2. ETP com aumento de 500 vezes.37
- Figura 5: Imagem de Microscopia Eletrônica de Varredura ilustrando a análise topográfica da 1. borracha natural vulcanizada e 2. ETP com aumento de 3.000 vezes.37
- Figura 6:** Imagem de Microscopia Eletrônica de Varredura ilustrando a análise topográfica da 1. borracha natural vulcanizada e 2. ETP com aumento de 6.000 vezes.37

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

ANUALPEC: Associação Brasileira da Indústria Produtora e Exportadora de Carne Suína

AP: Água Peptonada

APT: Água Peptonada Tamponada

ABNT: Associação Brasileira de Normas Técnicas

BHI: *Brain Heart Infusion*

BPLS: *Brilliant-green Phenol-red Lactose Sucrose Agar*

CIP: *Clean in Place*

CT: Contagem de Microrganismos Heterotróficos Totais

DTA: Doença Transmitida por Alimento

DVS: Divisão Vigilância Sanitária

Elastômero A: borracha natural vulcanizada

Elastômero B: elastômero termoplástico poliéster

ETP: Elastômero Termoplástico Poliéster

EHEDG: *European Hygienic Engineering & Design Group*

ICTA: Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos

LIA: Agar Lisina-Ferro

MAPA: Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento

OMS: Organização Mundial da Saúde

PCA: Agar Padrão para Contagem

SENAI: Serviço Nacional de Aprendizagem Industrial

SIF: Serviço de Inspeção Federal

SIM: Sulfureto, Indol, Motilidade

TSI: Tríplice Açúcar e Ferro

XLD: *Xylose lysine decarboxylase*

UFRGS: Universidade Federal do Rio Grande do Sul

UFC: Unidade Formadora de Colônia

1. INTRODUÇÃO

No Estado do Rio Grande do Sul (RS) foram notificados 3200 surtos alimentares entre os anos de 1980 a 2006, expondo mais de 286.000 pessoas (DVS/RS). Os alimentos de origem animal foram apontados como os principais veículos causadores destas doenças, e esse fato assume grande importância, uma vez que o RS abriga dezenas de indústrias de carne, dentre elas as de produtos suínos.

A prevenção de DTA é um dos objetivos fundamentais dos órgãos de fiscalização e das indústrias de alimentos. São muitas as ações e os meios que estas indústrias dispõem para alcançar este objetivo. Como ponto de partida, devem ser mantidas condições de trabalho higiênico-sanitárias de maneira a minimizar os riscos de contaminação cruzada no seu processo produtivo, evitando-se que o produto acabado chegue até o cliente fora dos padrões sanitários estabelecidos.

A formação de biofilmes tem grande importância nas indústrias de alimentos, uma vez que pode dificultar a higienização das superfícies que entram em contato com o alimento, propiciando a contaminação cruzada e, conseqüentemente a ocorrência de surtos.

Atualmente, uma das formas mais eficazes para evitar a formação de biofilmes em equipamentos e utensílios utilizados na produção de alimentos é a adequação às normas de *design* higiênico, como a norma européia EN 1672 e a EN ISO 14159. Dentre as características preconizadas por essas normas, pode-se citar a fácil desmontagem de equipamentos, a utilização de materiais inertes

para a construção dos mesmos, a presença de superfícies lisas, não absorventes e que não contaminem ou sejam atacadas pelos produtos, a ausência de cantos ou bordas de difícil acesso para limpeza e desinfecção.

O processo de abate suíno necessita de equipamentos capazes de processar milhares de carcaças diariamente, e esses não devem ser fontes de contaminação dos produtos finais. Sendo assim, requisitos de *design* higiênico são muito importantes nesses equipamentos.

Uma vez que o abate suíno envolve muitas operações, a identificação dos principais equipamentos que podem contribuir com a contaminação das carcaças, assim como as características que os tornam fontes de contaminação, adquire grande importância. Em vista disso, o presente estudo avaliou a contaminação microbiológica de carcaças suínas, durante diferentes etapas do processamento, e buscou identificar alguns aspectos do *design* higiênico dos equipamentos que contribuíram com a elevação dessa contaminação.

1.1 Objetivo geral

Identificar as etapas e avaliar o *design* higiênico dos equipamentos que contribuíram para a contaminação de carcaças na 1ª etapa do abate suíno.

1.2. Objetivos específicos

- Identificar os equipamentos que mais contribuíram para a contaminação por microrganismos heterotróficos totais e *Salmonella* spp. de carcaças suínas, na 1ª etapa do abate de um abatedouro frigorífico do sul do Brasil;
- Avaliar o *design* higiênico dos equipamentos que mais contribuíram com a contaminação das carcaças suínas.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 DTA e *Design* Higiênico

Segundo a OMS, ocorrem 1,8 milhões de mortes anuais devido à ingestão de alimentos e ou água contaminada (JAY, 2005). Nos EUA foram estimados 76 milhões de casos por ano, resultando em 323 mil hospitalizações e 5 mil mortes anuais. Na Inglaterra foram 9,4 milhões de casos estimados por ano (FORSYTHE, 2002).

Já no Brasil, segundo o Boletim Eletrônico do Ministério da Saúde (DADOS..., 2005), ocorreram quase 2.400.000 casos de doenças diarréicas agudas em 2004. Afirmam, também, que entre 1999 e 2004 ocorreram mais de 3.400.000 internações por DTA, com uma média de 568.000 casos por ano. Ocorreram 25.281 óbitos registrados entre 1999 a 2002, com média de 6.320 por ano.

Com o objetivo de contribuir com a redução desses números, o maquinário e/ou equipamentos devem ser projetados e construídos a fim de permitir a correta instalação, operação, higienização e manutenção, assegurando que os perigos sejam eliminados ou os riscos associados ao produto reduzidos (HOLAH, 2000).

O *design* de um equipamento é considerado higiênico quando se incorpora, como caráter preventivo, características que reduzam ou eliminem o risco de constituir uma fonte de contaminação para os alimentos, de forma direta ou indireta. O *design* higiênico é um dos fatores fundamentais na obtenção de

alimentos seguros, em conjunto com práticas higiênicas, desenvolvimento e controle de processo (HOLAH, 2000).

2.2 Indústrias Frigoríficas Abatedouras de Suínos

2.2.1 Dados de Mercado e Produção de Carne Suína

Conforme a ANUALPEC (2006), a carne suína é a proteína animal mais consumida no mundo, com consumo *per capita* de 16 kg de carne suína/habitante/ano, ganhando das carnes bovinas e de aves. Na Áustria, país que possui o maior consumo *per capita* de carne suína do mundo, esse número sobe para 73,1 kg de carne suína/habitante/ano, entretanto no Brasil este consumo é mais baixo que a média mundial, na casa de 12,6 kg/habitante/ano, mas com grande perspectiva de crescimento.

O aumento de consumo de carne suína no Brasil pode ser verificado no aumento da oferta de animais para abate, que foi de 3,8% em 2008, passando de 34,2 milhões de cabeças, em 2007, para 35,5 milhões, em 2008. No mesmo período, os abates sob Inspeção Federal (SIF) atingiram 25,8 milhões de cabeças, um crescimento de 6% em relação a 2007. Em relação ao mercado externo, no ano de 2008, o Brasil atingiu a cifra recorde de US\$ 1,48 bilhão em exportações de carne suína, 20% a mais do que em 2007 (US\$ 1,23 bilhão), sendo os principais destinos da exportação brasileira de carne suína foram a Rússia, Hong Kong, Ucrânia, Cingapura, Argentina, Angola, Uruguai, Moldávia, entre outros. Um dado bastante importante é que o Estado do Rio Grande do Sul

é o maior exportador de carne suína do Brasil, correspondendo a 44,84% do total de volume de carne suína exportada (ABIPECS, 2009).

2.2.2 Carne Suína e Contaminação Microbiológica

Produtos de origem animal, incluindo carcaças e carne *in natura*, são facilmente contaminados por microrganismos, podendo permitir o crescimento desses microrganismos quando não devidamente manipulados, processados e armazenados (SOFOS, *et al.*, 1999). Além disso, Sofos, Belk & Smith (1999) relataram que carnes com alto grau de contaminação microbiológica ou condições abusivas de manipulação e armazenamento permitem a proliferação microbiana, aumento do potencial da presença de bactérias patogênicas e da formação de suas toxinas, reduzem sua vida de prateleira, pois degradam mais rapidamente, e causam sérios problemas de saúde pública.

Em muitos países, a carne suína vem sendo confirmada como um veículo importante na transmissão de patógenos (BERENDS, *et al.*, 1998). Muitos estudos têm destacado a carne suína como uma importante fonte de *Campylobacter*, *Escherichia coli*, *Yersinia*, *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* spp. (BOLTON, PEARCE & SHERIDAN, 2002; BOLTON, *et al.*, 2003). Este último microrganismo vem sendo considerado um sério e frequente problema na cadeia produtiva suína, uma vez que tem sido responsável por muitos surtos envolvendo carne suína e seus produtos (WEGENER & BAGGESEN, 1996; BAGGESEN, AARESTRUP & MOLBAK, 1999; SPRICIGO, MATSUMOTO & ESPÍNDOLA, 2008; MÜRMAN, SANTOS & CARDOSO, 2009).

2.2.3 Carne Suína e contaminação por *Salmonella* spp.

Na maioria dos casos, as salmoneloses são causadas por produtos de origem animal, especialmente ovos crus e carne de frango. Entretanto, carne suína vem sendo identificada como uma importante fonte de salmoneloses humanas (SWANENBURG, *et al.*, 2001).

Salmonella spp. em suínos pode estar em muitos tecidos, entretanto os linfonodos e o trato digestório são os tecidos onde mais se concentra esta bactéria. Portanto, as fezes e os linfonodos mesentéricos são importantes fontes de contaminação de carcaças no abatedouro (ROSTAGNO, *et al.*, 2003).

Swanenburg, *et al.* (2001) apontam, ainda, que suínos saudáveis podem freqüentemente ser portadores de *Salmonella* spp., mesmo sem demonstrar qualquer sintoma da doença, por isso muitos criadores não sabem que seus animais estão infectados por este microrganismo. Além disso, os animais contaminados com *Salmonella* não são identificados durante a inspeção veterinária, após o abate, sendo necessário o estudo deste patógeno diretamente nas carcaças.

Alban & Stärk (2005) identificaram como variáveis de máximo efeito sobre a prevalência de *Salmonella* spp. na carcaça final além do número de rebanhos com alta prevalência, a eficácia da flambagem/chamuscagem da carcaça, a contaminação e contaminação cruzada durante evisceração e a contaminação cruzada durante a manipulação. Contudo, melhoras em um único fator isoladamente têm um impacto limitado no nível da contaminação. Assim, se o processo de abate é conduzido adequadamente, suínos com *Salmonella* em

seus intestinos podem não apresentar carcaças contaminadas (SWANENBURG, *et al.*, 2001). Contudo, melhorar a desinfecção de utensílios e equipamento pode reduzir a probabilidade de contaminação cruzada no processo.

Swanenburg, *et al.* (2001) e Botteldoorn, *et al.* (2003) sugerem que em muitos casos a população de *Salmonella* no ambiente da indústria abatedoura frigorífica reflete a microbiota dos suínos que foram entregues naquele dia e que a outra parte da microbiota do ambiente reflete os microrganismos dos suínos entregues ao longo do tempo, considerada esta a microbiota residente do frigorífico (SWANENBURG, *et al.*, 2001).

Além disso, diversos estudos têm apontado a alta contaminação do ambiente frigorífico e, também, a área de espera como sendo, provavelmente, as maiores fontes de contaminação por *Salmonella* antes do abate (HURD, *et al.*, 2001; SWANENBURG, *et al.*, 2001). Botteldoorn, *et al.* (2003) demonstraram que *Salmonella* spp. estava presente nas amostras de ambiente de muitos frigoríficos, variando entre 33% e 75%, de modo que a alta contaminação de carcaças, presente já no início do abate, em um dos frigoríficos estudados, foi provavelmente devido à contínua fonte de contaminação ambiental. Assim, a contaminação de carcaças é o resultado de dois parâmetros: o *status-Salmonella* dos animais entregues e a higiene do ambiente (BOTTELDOORN, *et al.*, 2003). A contaminação a partir do ambiente pode ocorrer via pessoal ou equipamentos do frigorífico, formando complexos ciclos de contaminação entre suínos infectados e o ambiente do abatedouro, o que acaba sendo determinante

para a origem e prevalência de contaminação nas carcaças (BOTTELDOORN, *et al.*, 2004).

Segundo Seixas, Tochetto & Ferraz (2009), a evisceração e o toailete manual das carcaças são as principais etapas envolvidas com a contaminação por *Salmonella* spp. em carcaças suínas. Já Bolton, *et al.* (2003), citam que a escaldagem pode ser uma etapa importante na contaminação das carcaças por *Salmonella* spp., já que um grande número de suínos é usualmente escaldado no mesmo volume de água do tanque, que rapidamente torna-se contaminada com sujidades, fezes, ingesta e bactérias carregadas pelos suínos que ali passam. Portanto, se patógenos, como a *Salmonella*, sobrevivem na água da escalda, o processo de escaldagem pode aumentar significativamente o risco de contaminação de carcaças (HALD & WEGENER, 1999). Entretanto, um dado bastante relevante em relação ao risco de contaminação via água da escalda, é que o risco pode ser minimizado se a temperatura da água for suficientemente alta (BOLTON, *et al.*, 2003). Corroborando com isto diversos estudos têm demonstrado que não há recuperação de *Salmonella* das amostras de água do tanque de escalda quando a temperatura é superior a 60°C (PEARCE, *et al.*, 2004).

Estudo realizado por Berends, *et al.* (1997), estimou que 5% a 15% de toda contaminação de carcaças suínas ocorre durante a etapa de depilação, de forma que a inadequada higienização da depiladora caracteriza um fator de risco muito importante. Opinião esta também compartilhada por Davies, McLaren & Bedford (1999) que concluíram que *Salmonella* spp. no equipamento de

depilação pode ser uma das maiores fontes de contaminação de suínos. A implicação da contaminação através da depiladora pôde ser observada em um estudo onde houve um aumento na incidência de carcaças contaminadas após a depilação, passando de 1% após a escalda para 7% após depilação (PEARCE, *et al.*, 2004).

2.6 Biofilmes

Um biofilme consiste no crescimento de bactérias, fungos e/ou protozoários de modo isolado ou em combinação, ligados por uma matriz extracelular, a qual é presa a sólidos ou superfícies sólidas, como o aço inoxidável, por exemplo. Os biofilmes são formados sobre superfícies, uma vez que há maiores quantidades de nutrientes nestes locais, em comparação com líquidos (LERICHE & CARPENTIER, 1995).

A comunidade de um biofilme exibe uma homeostase primitiva, um sistema circulatório primitivo, uma troca de material genético e uma cooperação metabólica, conforme descrito por Costerton, *et al.* (1994). A presença de biofilme é altamente predominante e de difícil eliminação por completo. O biofilme pode se formar em diferentes tipos de superfícies em indústria de alimentos associados a plástico, vidro, metais, madeira, elastômeros e alimentos. A borracha nitrílica, material vedante muito utilizado em plantas de processamento de alimentos, possui um efeito bacteriostático sob diversos patógenos (RONNER & WONG, 1993).

De acordo com Silagyi, *et al.* (2009), biofilmes são mais resistentes a situações estressantes, como falta de nutrientes e estresse oxidativo, desidratação, exposição à luz UV e agentes saneantes.

Por hospedarem e protegerem microrganismos patogênicos e degradadores, biofilmes comprometem os padrões higiênico-sanitários de indústrias de alimentos. Além disso, biofilmes microbianos em superfícies podem causar danos em equipamentos, contaminação dos produtos, perdas energéticas e DTA. Acredita-se que a formação de biofilme é parte de uma estratégia dos microrganismos de sobreviverem em ambientes adversos. A inativação de bactérias por métodos convencionais, como o uso de antibióticos e desinfetantes, é geralmente ineficiente na remoção de um biofilme bacteriano. Novas estratégias no controle dos biofilmes, oriundas do melhor entendimento de como as bactérias se fixam, multiplicam e são liberados são importantes para as indústrias de alimentos (TRACHOO, 2003).

Uma vez que o Brasil começa a ter acesso as normas européias e americanas de *Design* higiênico de equipamentos, e o reflexo econômico desses aspectos têm influência direta sobre a economia do País, projetos como o aqui proposto são de grande relevância.

2.7 Normas EN 1672 e EN ISO 14159

O objetivo do *design* higiênico é eliminar ou minimizar os riscos de contágio, infecção, doenças ou danos à saúde e/ou integridade do consumidor. Seu principal objetivo é prevenir a contaminação dos produtos originada durante

o processamento e/ou embalagem, quando um *design* inadequado pode dificultar a limpeza e permitir que resíduos sejam retidos em fendas, ranhuras e áreas mortas, contaminando as bateladas seguintes de alimentos (DUTRA, ALLES & MARIOT, 2008).

O cumprimento dos requisitos do *design* higiênico fornece às empresas fabricantes de alimentos e de máquinas e equipamentos para a indústria da alimentação vantagens como garantia de maior facilidade de limpeza e desinfecção e aumento do valor agregado de máquinas e equipamentos, já que estes oferecem maior garantia (DUTRA, ALLES & MARIOT, 2008).

Os requisitos do *design* Higiênico estão definidos nas seguintes normas:

- EN 1672:2005, referente a Comunidade Européia
- EN ISO 14159:2002

As normas citadas acima são bastante semelhantes, ambas contêm requisitos que devem ser utilizados em projetos de máquinas e equipamentos, um fluxograma de análise de riscos para avaliar se os perigos identificados na máquina e/ou equipamento são significativos para saúde do consumidor. Este fluxograma pode ser aplicado para otimizar as características higiênicas dos equipamentos, permitindo que testes de higiene, geralmente de alto custo, sejam realizadas somente onde for realmente necessário, priorizando as ações no projeto dos maquinários e equipamentos da indústria de alimentos.

Neste sentido, foi realizado um projeto intitulado *design* higiênico de Máquinas, Equipamentos e Instalações na Indústria de Alimentos e Bebidas pelo Serviço Nacional de Aprendizado Industrial (SENAI) dos departamentos

regionais dos Estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina, onde uma metodologia de avaliação do *design* Higiênico foi desenvolvida para priorizar as ações e otimizar a implementação das normas. Além disso, um grupo de estudos foi formado para tradução da norma ISO 14159, produzindo a primeira norma oficial brasileira sobre *Design* Higiênico através da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), intitulada NBR ISO 14159, já em consulta pública.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Avaliação Microbiológica das Carcaças

3.1.1 O frigorífico e o processamento de carcaças suínas na 1ª etapa

Este estudo foi realizado em uma indústria Abatedoura frigorífica exportadora de suínos, localizado na cidade de Caxias do Sul, no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. Nesta indústria são abatidos, aproximadamente, 3200 suínos por dia, em dois turnos de trabalho.

Antes do abate, os animais foram submetidos a uma dieta hídrica de 12 horas e um banho por aspersão, com água potável pressurizada. Em seguida, os suínos foram submetidos a um choque elétrico para insensibilização e imediatamente sangrados pela jugular, utilizando uma faca. Em seguida, cada animal foi suspenso em uma nória por uma pata. Após, as carcaças passaram por um chuveiro de aspersão para remoção do sangue e, posteriormente, escaldadas em um tanque de água aquecida a 59,9°C, por 8 minutos, com o objetivo de otimizar a etapa da depilagem.

Após a escaldagem, as carcaças passaram por um depilador, onde foram removidos os pêlos, sendo então submetidas a uma polidora com chicotes de borracha e flambadas em um chamuscador, com temperatura de aproximadamente 1200°C, para redução da contaminação microbiológica. As carcaças foram novamente polidas e novamente chamuscadas. Finalmente, as carcaças passaram por um toailete manual, utilizando uma faca para remoção de qualquer pelo remanescente.

3.1.2 Amostragem

A avaliação microbiológica das carcaças foi realizada utilizando esponjas de celulose estéreis, acondicionadas em sacos plásticos individuais (Nasco). As esponjas foram umedecidas em 10mL de água peptonada (AP) 0,1% estéril e então esfregadas 10 vezes, em duas direções, em áreas de 100cm² do pescoço, barriga, lombo e pernil, totalizando 400cm² amostrados, conforme preconizado pelo Jornal Oficial da União Européia, – Regulamento (CE) n° 2073 (2005).

Cada carcaça foi avaliada para contagem de microrganismos heterotróficos totais (CT) e para presença de *Salmonella* spp., em várias estágios da 1° etapa do abate de suínos, as quais estão descritas a seguir. O número entre parênteses indica quantas carcaças foram amostradas em cada ponto: 1. após a sangria (n = 20), 2. após o chuveiro de aspersão (n = 39), 3. após a escaldagem (n = 30), 4. após a depiladeira (n = 30), 5. após o 1° polimento (n = 30), 6. após a primeira flambagem (n = 30), 7. após o segundo polimento (n = 19), 8. após a segunda flambagem (n = 20) e 9. após o toaleta manual das carcaças (n = 20) antes da área limpa do abate, totalizando 238 amostras.

Após as coletas, as esponjas foram transportadas até o Laboratório de Microbiologia e Controle de Alimentos – ICTA/UFRGS, sob refrigeração, sendo então adicionadas de 90mL de AP e homogeneizadas manualmente durante 30 segundos, antes das análises.

3.1.3 Contagem de microrganismos heterotróficos totais (CT) em carcaças

A partir dos 100mL das amostras coletadas com as esponjas, foram retiradas alíquotas de 1mL, as quais foram diluídas sucessivamente em água peptonada (AP) 0,1% (Himedia – Mumbai, Índia). Em seguida, alíquotas de 1mL das diluições decimais foram semeadas em Ágar Padrão para Contagem (PCA) (Merck – Darmstadt, Alemanha), pelo método de *Pour Plate* e incubadas a 37°C, por 48h, de acordo com a técnica preconizada pela Instrução Normativa nº 62 do MAPA (2003).

3.1.4 Presença de *Salmonella* spp.

As carcaças foram avaliadas para presença de *Salmonella* spp., utilizando os métodos preconizados pela Instrução Normativa nº 62 do MAPA (2003).

Uma alíquota de 25mL das amostras foram homogeneizados em 225mL de Água Peptonada Tamponada (APT), (Oxoid – Hampshire, Inglaterra) e incubadas a 37°C, por 24h. Após, foram retiradas alíquotas de 0,1mL e 1mL desta suspensão, as quais foram transferidas para 10mL e 9mL dos caldos Rappaport Vassiliadis (Merck – Darmstadt, Alemanha) e Selenito Cistina (Acumedia – Lansing, Michigan, EUA), respectivamente, sendo então, ambos, incubados a 42°C, por 18 horas.

Após incubação, uma alçada de cada caldo foi semeado em placas contendo os meios diferenciais Verde Brillante, Vermelho de Fenol, Lactose e Sacarose Ágar (BPLS) (Oxoid – Hampshire, Inglaterra) e Ágar Xilose-Lisina

Deoxicolato (XLD) (Oxoid – Hampshire, (Inglaterra), os quais foram incubados a 37°C, por 24h.

Colônias típicas de *Salmonella* spp. (puntiformes, com centro negro ou da mesma cor do meio) foram confirmadas através de testes bioquímicos caldo Uréia, Citrato, Sulfureto Indol e Motilidade (SIM), Ágar lisina-ferro (LIA) e Tríplice Açúcar e Ferro (TSI).

3.1.5 Análise Estatística

Para avaliar a significância das diferenças entre os pontos de coleta, foi realizada uma análise de variância (ANOVA) com teste de aleatorização, usando soma dos quadrados (estatística Qb) como critério do teste (PILLAR & ORLLÓCI, 1996). Essa análise foi realizada através do programa MULTIV v2.3 (PILLAR, 2004), a partir de distâncias euclidianas e com 10000 iterações. O nível de significância estipulado foi de $\alpha=0,05$.

3.2 Avaliação de *Design* Higiénico

Os equipamentos que foram identificados como responsáveis pelo aumento das CT e pelo aumento da ocorrência de amostras contaminadas por *Salmonella* spp. foram a depiladeira e as polidoras, sendo portanto, submetidas a uma lista de verificação com 113 itens referentes ao cumprimento dos requisitos de *Design* Higiénico. Esta lista de verificação foi elaborada pelo SENAI/RS e com base nas normas EN 1672:2005 e EN ISO 14159:2002, além

dos documentos e diretrizes européias publicados pelo *European Hygienic Engineering & Design Group* (EHEDG).

3.3 Formação e Remoção de Biofilme em Chicotes de Diferentes Elastômeros Utilizados nas Polidoras

3.3.1 Inóculo

Um cultivo de cinco colônias de *Salmonella* spp., isoladas da 1ª etapa da indústria abatedoura frigorífica de suínos foi realizado em caldo BHI. As colônias foram escolhidas aleatoriamente entre os isolados de *Salmonella* spp. que foram coletados nas amostras das carcaças. Os microrganismos semeados foram cultivados por 18 horas a 37°C, antes de serem utilizados na formação de biofilmes sobre os corpos de prova.

3.3.2 Corpos de prova

Corpos de prova de diferentes tipos de elastômeros utilizados na construção de chicotes de polidoras foram elaborados. Para tanto, chicotes novos foram cortados utilizando uma serra metálica. Após os cortes, os corpos de prova de borracha natural vulcanizada apresentaram uma área superficial média de 19,4625cm², enquanto os corpos de prova de elastômero termoplástico poliéster (ETP) apresentaram área média de 16,6805cm².

3.3.3 Preparação dos corpos de prova

Previamente aos ensaios de adesão bacteriana, os corpos de prova foram imersos em solução 0,3% de detergente neutro, por 1 hora, e esfregados, sendo em seguida enxaguados com água destilada, pulverizados com álcool 70% para desinfecção e secos a 60°C. Após a higienização, estes corpos de prova foram autoclavados a 121°C, por 15 minutos e mantidos em recipiente fechado até o momento do ensaio (ROSSONI & GAYLARDE, 2000).

3.3.4 Formação de Biofilme

Uma alíquota de 1mL do inóculo de *Salmonella* spp., contendo aproximadamente 10^8 UFC/mL, foi diluída em 99mL de AP (Himedia – Mumbai, Índia) 0,1% estéril. Em seguida, os corpos de prova foram imersos nesta suspensão por 1, 30, 60 e 180 minutos, sendo então retirados e enxaguados com 1mL de água destilada estéril, para remoção das células fracamente aderidas. Em seguida, os corpos de prova foram colocados em um recipiente contendo 50mL de AP (Himedia – Mumbai, Índia) 0,1% estéril, sendo então imediatamente sonicados no desruptor de células ultrassônico, a fim de que todas as células aderidas se soltassem da superfície dos corpos de prova (DA SILVA, 1997). Diluições decimais seriadas foram então realizadas e alíquotas de 20µL das diluições foram semeadas em placas contendo meio Infusão de Cérebro e Coração Agar (BHI) (Oxoid – Hampshire, Inglaterra). A quantificação bacteriana foi realizada pelo método descrito por Da Silva (1997), após

incubação a 37°C, por 18h. Cada contagem foi realizada em duplicata e os experimentos foram repetidos três vezes.

3.3.5 Remoção de Biofilme

Após 180 minutos de contato com a suspensão contendo 10^6 UFC/mL de *Salmonella* spp. os corpos de prova foram imersos em ácido peracético a 1%. Essa concentração desse desinfetante foi escolhida por ser utilizada pela indústria Abatedoura frigorífica em questão. Os tempos de imersão testados neste estudo foram de 1 minuto e de 10 minutos.

Como controles, foram analisados corpos de prova de cada elastômero que não foram submetidos ao contato com o desinfetante.

A solução de desinfetante foi preparada imediatamente antes de colocar os corpos de prova em imersão, uma vez que o ácido peracético é bastante volátil.

Após o tempo de 1 e 10 minutos, respectivamente, os corpos de prova foram retirados da solução desinfetante e colocados em contato durante aproximadamente três segundos com uma solução 0,6% de Tiosulfato de Sódio, a fim de neutralizar a ação do desinfetante (JOSEPH, *et al.*, 2001; KUNIGK & ALMEIDA, 2001). Em seguida, foram imersos em 50mL de AP 0,1% estéril e sonicados por 10 minutos no desruptor de células ultrassônico para que as células aderidas se soltassem da superfície dos corpos de prova (SINDE & CARBALLO, 2000).

Diluições decimais seriadas foram realizadas para cada amostra sonicada, sendo que 20µL das mesmas foram semeados em placas contendo meio BHI Agar (Oxoid – Hampshire, Inglaterra), segundo o método preconizado por Da Silva (1997). As contagens foram realizadas após incubação 18h a 37°C. As contagens foram realizados em duplicata e repetidos três vezes.

3.3.6 Análises estatísticas

As contagens microbianas foram expressas em Unidade Formadora de Colônia por centímetro quadrado (UFC.cm⁻²). A quantificação dos microrganismos do biofilme formado na superfície dos corpos de prova de diferentes elastômeros e o número de células inativadas pelo desinfetante testado foi expressa em UFC.cm⁻² da superfície dos corpos de prova. As contagens foram comparadas utilizando a análise de variância feita através do teste ANOVA, via reamostragem iterativa, pelo *Bootstrap*. O programa utilizado foi o MULTIV, versão para *Windows* e a diferença significativa foi determinada utilizando nível de 5% de segurança ($p < 0,05$).

3.4 Microscopia Eletrônica de Varredura

A Microscopia Eletrônica de Varredura foi efetuada para a obtenção de imagens da superfície dos corpos de prova, para uma melhor observação da porosidade e da rugosidade do material.

A preparação do material foi realizada de acordo com o protocolo preconizado pelo Centro de Microscopia Eletrônica da UFRGS e está descrita a seguir.

Os dois elastômeros testados neste estudo foram cobertos com ouro (metalização) no equipamento Balzers SCD050 (Balzers Union Ltd, Balzers, Lichtenstein). Após a metalização, as amostras foram observadas no microscópio eletrônico de varredura Joel JSM-6060.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Avaliação Microbiológica das Carcaças

Na primeira etapa avaliada neste estudo (estágio 1. após a sangria), as carcaças suínas apresentaram CT médias de $2,21 \cdot 10^7$ UFC/cm² (Tabela 1). Em seguida, na estágio 2 (após o chuveiro de aspersão), as carcaças demonstraram CT médias menores, porém a diferença não foi significativa. Nessas etapas, 30 e 17,95% das carcaças suínas apresentaram contaminação por *Salmonella* spp., respectivamente (Tabela 2).

Tabela 1. Contagens de microrganismos heterotróficos totais (CT) na superfície de carcaças suínas avaliadas em diferentes estágios da 1^o etapa do abate de um abatedouro frigorífico do Rio Grande do Sul.

Número do estágio	Nome da Etapa	Número de amostras (n)	Média da CT (UFC/cm ²)
1	Após a sangria	20	$2,21 \cdot 10^7$
2	Após o chuveiro de aspersão	39	$9,43 \cdot 10^6$
3	Após a escalda	30	$1,45 \cdot 10^{4*}$
4	Após a depiladeira	30	$9,46 \cdot 10^{5*}$
5	Após a primeira polidora	30	$7,98 \cdot 10^{6*}$
6	Após o primeiro chamuscador	30	$1,56 \cdot 10^{4*}$
7	Após a segunda polidora	19	$4,88 \cdot 10^{5*}$
8	Após o segundo chamuscador	20	$2,75 \cdot 10^{4*}$
9	Após o toailete manual das carcaças	20	$1,55 \cdot 10^5$

* demonstra a diferença significativa ($p < 0,05$) entre as etapas.

Os resultados da detecção de *Salmonella* spp. na papada, lombo, barriga e pernil das carcaças avaliadas nas diferentes estágios do abate de suínos esta demonstrada na Tabela 2, abaixo.

Tabela 2. Frequência de isolamento de *Salmonella* spp. em carcaças suínas amostradas em diferentes estágios da 1ª etapa do abate de um abatedouro frigorífico do Rio Grande do Sul.

Número do estágio	Nome da Etapa	Número de amostras (n)	Frequencia de <i>Salmonella</i> spp.
1	Após a sangria	20	30%
2	Após o chuveiro de aspersão	39	17,95%
3	Após a escalda	30	ND
4	Após a depiladeira	30	16,67%
5	Após a primeira polidora	30	20%
6	Após o primeiro chamuscador	30	ND
7	Após a segunda polidora	19	10,5%
8	Após o segundo chamuscador	20	ND
9	Após o toailete manual das carcaças	20	5%

ND – Não detectado.

Contagens elevadas após a sangria dos suínos também foram encontradas em estudos realizados por Bolton, *et al.* (2002), sendo que, também, foram consideradas as contagens mais altas em relação aos outros estágios avaliados.

Como descrito anteriormente, antes do estágio de escalda (estágio 2, após o chuveiro de aspersão), a CT média das carcaças foi de $9,43.10^6$ UFC/cm², sendo reduzida significativamente ($p < 0,05$) para $1,45.10^4$

UFC/cm², após a escalda. Essa redução representou a inativação de 99,85% dos microrganismos, a qual foi alcançada depois de expor as carcaças suínas a temperatura de 59,9° C, durante 8 minutos. Estudos realizados por Bolton, *et al.* (2002) e Pearce, *et al.* (2004) demonstraram resultados semelhantes, e esses autores atribuíram as reduções alcançadas à temperatura da água do tanque de escaldagem acima de 60° C.

Conforme demonstrado na Tabela 2, nenhuma das carcaças analisadas apresentou contaminação por *Salmonella* spp. após o estágio da escaldagem (Etapa 2), o que também pode ser atribuído ao binômio tempo/temperatura em que as carcaças foram submetidas. Resultados semelhantes foram encontrados por Bolton, *et al.* (2002), Botteldoorn, *et al.* (2003) e Pearce, *et al.* (2004) os quais também não detectaram *Salmonella* spp. após o estágio de escaldagem de carcaças suínas.

O estágio da depilação das carcaças demonstrou um incremento significativo ($p < 0,05$) na CT média, uma vez que aumentou de $1,45 \cdot 10^4$ UFC/cm² para $9,46 \cdot 10^5$ UFC/cm². Além disso, o incremento também ocorreu na detecção de *Salmonella* spp., a qual não foi encontrada após a escaldagem, e foi detectada em 16% das carcaças avaliadas após a depiladeira. Pearce, *et al.*, (2004) analisaram a CT e, também, a incidência de *Salmonella* spp., e demonstraram que o estágio da depilação aumentou as CT e a incidência de *Salmonella* spp. de carcaças suínas, podendo ser considerada como a principal fonte de contaminação das carcaças, concordando com Berends, *et al.* (1997).

Na depiladeira, a carcaça suína passa por uma rosca “sem fim” que gira. Em virtude disto há extravasamento do conteúdo intestinal da carcaça no interior da máquina, o que justifica este incremento de CT e de *Salmonella* spp. nas carcaças amostradas. Além disso, o contato das carcaças com a água quente da escaldagem, com temperatura de 59,9°C, estágio este anterior a depilagem, possui um efeito de relaxamento muscular, o que propicia o referido extravasamento no estágio posterior. Em virtude disto, a dieta hídrica de 12 horas a qual os animais são submetidos, antes do abate, é bastante importante para a diminuição da contaminação microbiológica das carcaças em decorrência da menor quantidade do conteúdo intestinal no momento do abate.

Os resultados do presente estudo e dos estudos realizados por Berends, *et al.* (1997) e Pearce, *et al.*, (2004), sugerem a depiladeira como um equipamento importante no aumento da contaminação de carcaças suínas, sendo que a adequação do projeto desse equipamento aos requisitos de *design* higiênico pode reduzir essa contaminação.

Outros equipamentos que demonstraram aumentar a contaminação das carcaças suínas foram as polidoras, uma vez que, em ambas testadas (estágios 5 e 7) observou-se um aumento significativo ($p < 0,05$) nas CT. Por exemplo, no estágio 4, após a depiladeira, a CT média foi de $9,46 \cdot 10^5$ UFC/cm², aumentando para $7,98 \cdot 10^6$ UFC/cm². Do mesmo modo, no estágio 6, após o primeiro chamuscador, a CT média foi de $1,56 \cdot 10^4$ UFC/cm² atingiu $4,88 \cdot 10^5$ UFC/cm², após a segunda polidora (estágio 7). Esses equipamentos também contribuíram com o incremento do isolamento de *Samonella* spp. nas carcaças, já que houve

um aumento de 16 para 20%, após a primeira polidora, e de zero para 10,5%, após a segunda polidora. Resultados similares foram encontrados nos estudos de Berends, *et al.* (1997).

A polidora possui como principal função a remoção dos pêlos que não foram totalmente removidos na depiladeira, e é construída com chicotes de borracha que ficam girando tangentes as carcaças que passam, removendo os pêlos remanescentes. Portanto, a única superfície do equipamento que entra em contato com o suíno são os chicotes, importantes, então, na redução da contaminação microbiana. O equipamento não permite acesso para sua limpeza e desinfecção. Em virtude disto é higienizado com detergente alcalino através de um jato pressurizado na etapa da limpeza e ácido peracético a 1%, também, através de um jato na etapa da desinfecção.

A função principal do estágio da chamuscagem no abate de suínos é a redução da contaminação microbiológica superficial das carcaças. Esse efeito pôde ser verificado no presente estudo através da redução significativa ($p < 0,05$) alcançada após ambas as chamuscagens. As CT médias decresceram de $7,98.10^6$ UFC/cm², após o primeiro polimento das carcaças, para $1,56.10^4$ UFC/cm², após o primeiro chamuscador, e de $4,88.10^5$ UFC/cm², após o segundo polimento, para $2,75.10^4$ UFC/cm², após o segundo chamuscador. Essas reduções foram de 99,8 e 94,36%, respectivamente. Além disso, *Salmonella* spp. não foi detectada após ambas as chamuscagens em nenhuma das carcaças avaliadas neste estudo. Resultados semelhantes aos encontrados por Berends, *et al.* (1997), Pearce, *et al.*, (2004) e Alban, *et al.* (2005).

As reduções nas CT da superfície das carcaças após os chamuscadores foram consideradas significativas, entretanto não podem ser consideradas eficientes. De acordo com Alban, *et al.* (2005) deve-se regular a pressão do gás nos bicos dos chamuscadores de maneira que aumente a temperatura e conseqüentemente a eficiência, reduzindo ainda mais as CT.

Um incremento na CT das carcaças foi verificado após o toailete manual, entretanto este incremento não foi significativo. Do mesmo modo, um aumento no isolamento de *Salmonella* nas carcaças analisadas foi verificado, variando de zero para 5% das carcaças amostradas.

Na Figura 1 estão ilustradas as variações das CT nas amostras analisadas, assim como os principais estágios que contribuíram para o aumento das contagens.

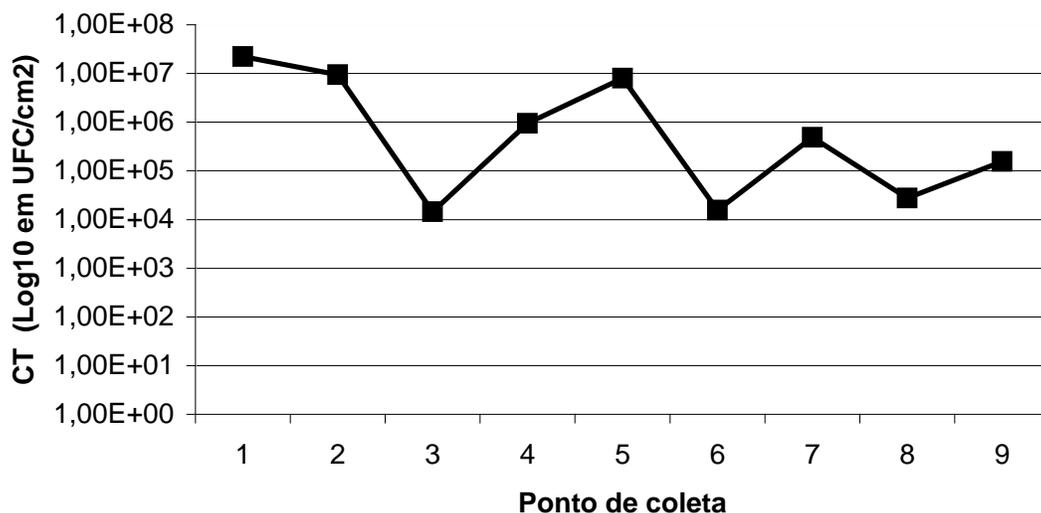


Figura 1. CT (log₁₀ UFC/cm²) no pernil, barriga, lombo e papada das carcaças avaliadas nos estágios do abate 1. após a sangria, 2. após chuva de aspersão, 3. após a escalda, 4. após a depiladeira, 5. após a primeira polidora, 6. após o primeiro chamuscador, 7. após a segunda polidora, 8. após o segundo chamuscador e 9. após o toailete manual das carcaças.

4.2 Análise da depiladeira e da polidora quanto a requisitos de *Design* Higiênico

Os resultados das análises completas realizadas na depiladeira e na polidora de carcaças suínas estão apresentados nos Anexos 1 e 2. Abaixo estão apresentadas as principais não conformidades encontradas nesses equipamentos, pelo presente estudo.

A partir do diagnóstico realizado nas máquinas que demonstraram incrementar significativamente a CT e a ocorrência de *Salmonella* spp. nas carcaças analisadas, pôde-se observar que a quantidade de itens não conformes foram superiores a 50% em relação aos 113 requisitos do *design* higiênico avaliados, em ambas as máquinas.

4.2.1 Principais não conformidades encontradas na Depiladeira

1. A depiladeira não foi projetada e construída de maneira a se manter higienizada, e a água que passou durante o processo foi recirculada e possuía muitos resíduos de produto (sangue, pêlos, fezes, entre outros), gerando contaminação cruzada entre as carcaças.
2. O equipamento não permitiu acesso para higienização, inspeção e manutenção.
3. Partes da máquina foram construídas com aço carbono e estavam enferrujando.

4. Havia muitos espaços mortos na área em contato com o produto, permitindo que sujidades se acumulassem e, conseqüentemente, resultassem em contaminação cruzada.
5. A máquina não permitiu o acesso para limpeza e desinfecção e não foi projetada prevendo a limpeza *Clean in place* (CIP).
6. O desmonte da máquina foi difícil, e foi necessário o uso de ferramentas.
7. Superfícies como o painel de controle, teto entre outras demonstraram ser planas, permitindo o acúmulo de sujidades.
8. Soldas estavam ponteadas (descontínuas) e não polidas, com alta rugosidade, permitindo a formação de biofilmes, e podendo gerar contaminação cruzada.
9. Os cantos no interior da máquina eram retos, de difícil limpeza e desinfecção, possibilitando o acúmulo de sujidades e a formação de biofilme.
10. Elementos de fixação, que não eram passíveis de limpeza e desinfecção e sem meio eficiente de travamento, estavam presentes na área do produto.

Em relação a avaliação da depiladeira foi sugerida à indústria um aumento na freqüência de higienização da máquina. Além disso, a utilização de água recirculante demonstrou ser um fator importante no aumento da contaminação cruzada das carcaças suínas. Entretanto, a adoção dos

requisitos do design higiênico poderia reduzir esta contaminação da superfície das carcaças.

4.2.2 Principais não conformidades encontradas na Polidora

1. Havia cantos retos na área em contato com o produto, permitindo o acúmulo de resíduos e posteriormente a formação de biofilme.
2. A área do produto não permitia o acesso para higienização, inspeção e manutenção.
3. Partes do equipamento eram construídas em aço carbono e estavam enferrujando.
4. Eram necessárias ferramentas para o desmonte da máquina.
5. O equipamento não permitia o acesso para higienização e não foi projetado prevendo a limpeza CIP.
6. O manual de instrução da máquina não possuía informações sobre limpeza e desinfecção.
7. Não havia indicações de monitoramento e controle de parte crítica no manual de instrução.
8. Soldas eram ponteadas (descontínuas) e não polidas, permitindo o acúmulo de resíduos e a formação de biofilmes.
9. Os elementos de fixação não eram passíveis de limpeza e desinfecção e não possuíam um sistema eficiente de travamento.
10. Havia ranhuras nos chicotes, os quais eram elaborados com diferentes elastômeros, mais profundas do que largas, que permitiam o acúmulo de

sujidades, dificultavam a higienização e, provavelmente, contribuíam com a contaminação cruzada das carcaças.

Dentre os itens acima citados, os chicotes feitos de diferentes elastômeros foram escolhidos para serem mais profundamente analisados. Para tanto, foram realizados demais estudos para avaliar a influência dos diferentes elastômeros na formação e remoção de biofilmes formados por *Salmonella* isoladas no próprio abatedouro frigorífico. No caso das ranhuras dos chicotes, devem ser mais largas que profundas, para que possa ser mais facilmente higienizadas reduzindo a probabilidade de acúmulo de sujidade e posterior formação de biofilme. Além disso, a adoção de todos os requisitos do *design* higiênico pertinentes ao projeto desta máquina, reduziria este incremento da contaminação microbiológica verificado na superfície das carcaças após este equipamento.

4.3 Formação e Remoção de Biofilme em Chicotes de Diferentes Elastômeros Utilizados nas Polidoras

A Tabela 3 e a Figura 2 demonstram os resultados dos experimentos de formação de biofilme de *Salmonella* spp. na superfície dos diferentes elastômeros testados neste estudo.

Tabela 3. Contagens médias de *Salmonella* spp. aderidas a superfícies de corpos de prova elaborados com dois elastômeros utilizados para confecção de chicotes de polidoras para abatedouros frigoríficos.

Tempo (min.)	Contagens de <i>Salmonella</i> spp. aderidas (UFC/cm ²)	
	Elastômero A ¹	Elastômero B ²
01	1,41.10 ⁴	1,65.10 ⁴
30	3,26.10 ⁴	4,18.10 ⁴
60	3,60.10 ⁴	1,20.10 ^{5a}
180	2,11.10 ^{7a}	9,34.10 ⁴

¹ Elastômero A confeccionado com borracha natural vulcanizada; ² Elastômero B confeccionado com elastômero termoplástico poliéster

^a diferença significativa ($p < 0,05$) em relação a contagem no tempo de exposição anterior

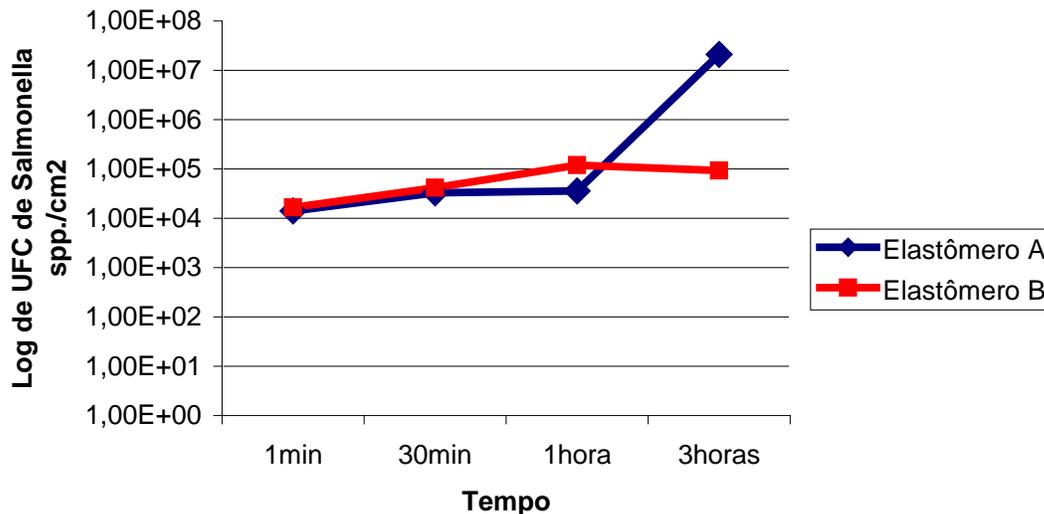


Figura 2: Formação de biofilme de *Salmonella* spp. em dois diferentes tipos de elastômeros: Elastômero A (◆) confeccionado com borracha natural vulcanizada; Elastômero B (■) confeccionado com elastômero termoplástico poliéster.

No experimento de formação de biofilmes, pôde-se observar que o elastômero B permitiu significativamente maior adesão de *Salmonella* spp. após

60 minutos de contato, quando comparado com o elastômero A. Por outro lado, o elastômero A promoveu maior adesão ($p < 0,05$) de *Salmonella*, após 180 minutos de exposição.

O ETP (elastômero B) é considerado um material superior, capaz de suportar maiores temperaturas e umidade, possuindo assim uma maior durabilidade. Segundo os resultados apresentados nesse estudo, ele inicialmente permitiu inicialmente maior adesão de bactérias, entretanto, após 3 horas de contato, o elastômero A continha um número significativamente maior de *Salmonella* spp. aderidas. Com base nesses dados, o elastômero B seria mais apropriado para ser utilizado nos chicotes das polidoras. Alguns fabricantes de ETP adicionam substâncias bacteriostáticas na composição, conforme algumas fichas técnicas de ETP, as quais explicariam os resultados apresentados no presente estudo. Contudo, na ficha técnica do elastômero de ETP não havia a descrição da presença dessas substâncias, não sendo possível concluir sobre os seus efeitos. Um fato que deve ser levado em consideração é que o custo do ETP é maior que o da borracha natural vulcanizada, portanto outros estudos em relação a sua durabilidade são necessários para concluir em relação ao seu custo-benefício.

Conforme a Tabela 4 e Figura 3, pôde-se verificar que o ácido peracético a 1% demonstrou ser eficiente na remoção de *Salmonella* spp. em ambos os elastômeros e em ambos os tempos de contato testados (1 e 10 minutos).

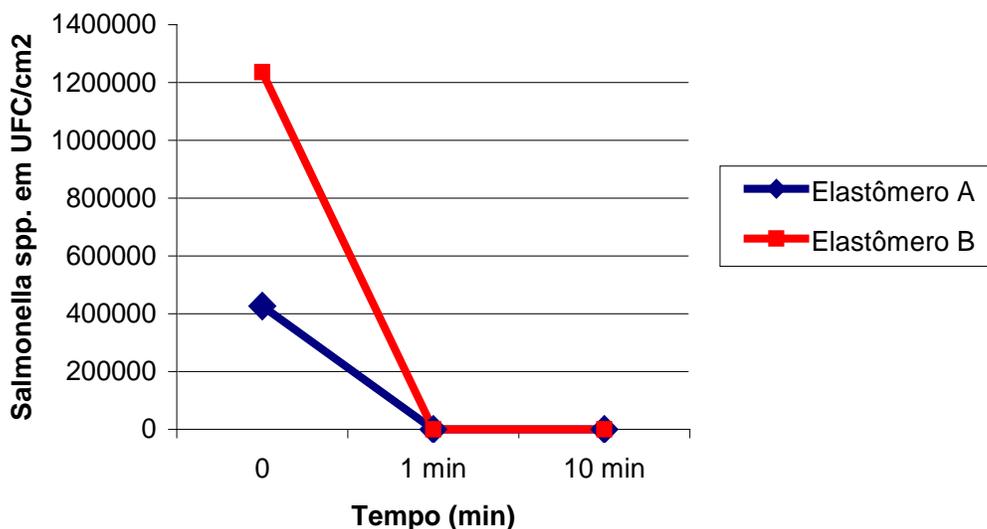


Figura 3: Avaliação da Remoção de Biofilme de *Salmonella* spp. em 2 diferentes elastômeros utilizando Ácido Peracético a 1%: Elastômero A (♦) confeccionado com borracha natural vulcanizada; Elastômero B (■) confeccionado com elastômero termoplástico poliéster.

Tabela 4. Médias de *Salmonella* spp. aderidas aos elastômeros A e B em relação ao tempo de contato com Ácido Peracético 1%.

Tempo em Contato com o Ácido Peracético 1%	Contagens de <i>Salmonella</i> spp. aderidas (UFC/cm ²)	
	elastômero A ¹	elastômero B ²
0 (controle)	4,27E+05	1,24E+06
1 min	ND	ND
10 min	ND	ND

ND: não detectado. ¹ Elastômero A confeccionado com borracha natural vulcanizada; ² Elastômero B confeccionado com elastômero termoplástico poliéster.

Com base nos resultados, pode-se sugerir que o protocolo de higienização utilizado na indústria era eficiente, uma vez que o ácido peracético a 1%, durante aproximadamente um minuto era utilizado. Entretanto, a frequência dessa higienização pode não estar sendo adequada, pois ocorreu a recontaminação por *Salmonella* spp. e incremento na CT nas carcaças avaliadas depois deste equipamento, conforme apresentado anteriormente.

4.4 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Os dois diferentes elastômeros, borracha natural vulcanizada e ETP, foram fotografados por microscopia eletrônica de varredura (MEV) para melhor observação da porosidade e rugosidade dos materiais.

As Figuras 4, 5 e 6 ilustram a topografia dos elastômeros da borracha natural vulcanizada e do ETP com um aumento de 500, 3.000 e 6.000 vezes, respectivamente.

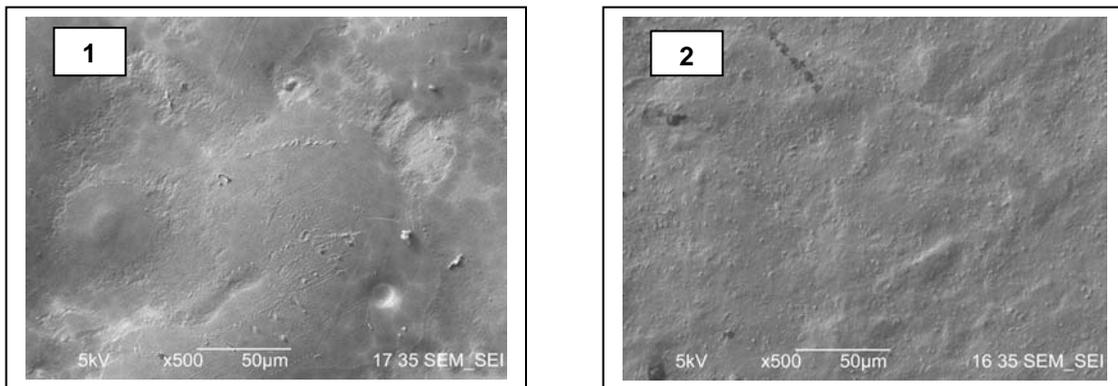


Figura 4: Imagem de Microscopia Eletrônica de Varredura ilustrando a análise topográfica da 1. borracha natural vulcanizada e 2. ETP com aumento de 500 vezes.

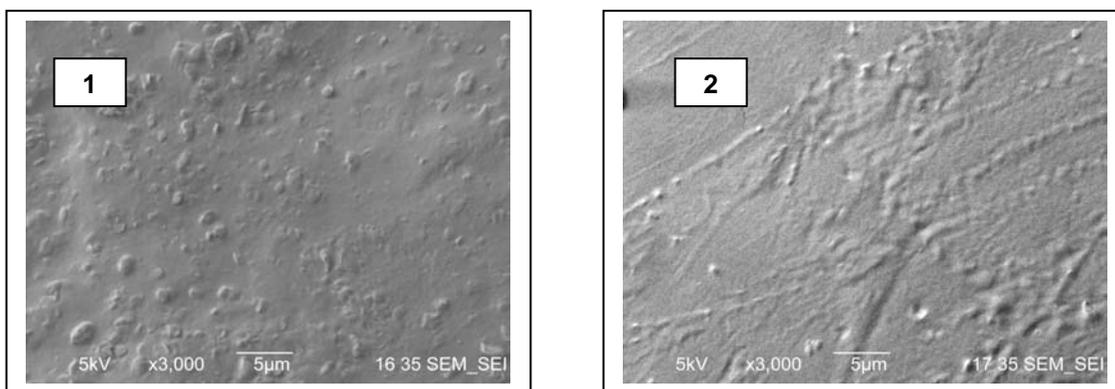


Figura 5: Imagem de Microscopia Eletrônica de Varredura ilustrando a análise topográfica da 1. borracha natural vulcanizada e 2. ETP com aumento de 3.000 vezes.

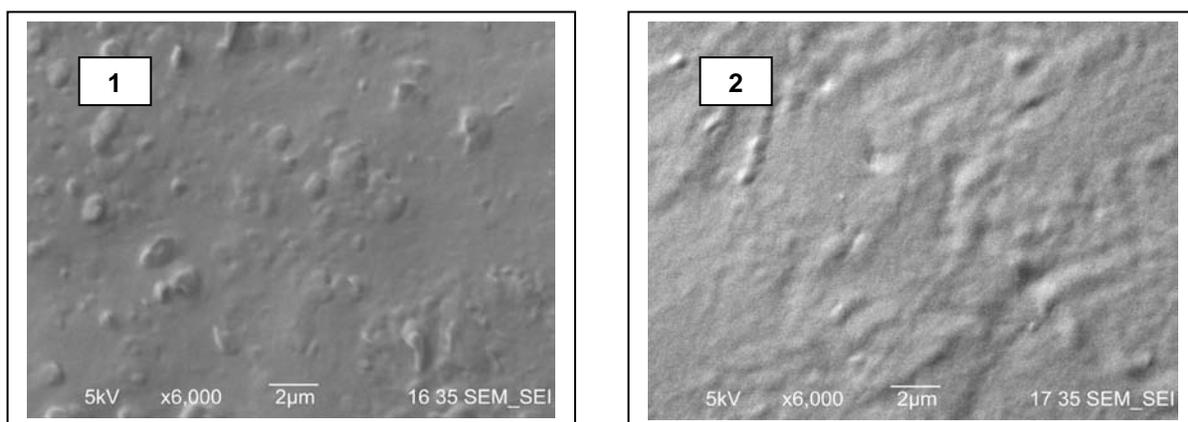


Figura 6: Imagem de Microscopia Eletrônica de Varredura ilustrando a análise topográfica da 1. borracha natural vulcanizada e 2. ETP com aumento de 6.000 vezes.

Como pode ser visualizado nas fotos de MEV, o elastômero ETP apresentou uma superfície um pouco mais lisa quando comparado com a borracha natural vulcanizada, justificando as maiores contagens de bactérias aderidas nesta última, após 180 minutos. Entretanto, irregularidades leves puderam ser observadas em ambos os materiais, as quais podem ter contribuído na aderência da *Salmonella* spp. em ambos os tipos de elastômeros avaliados. Outros fatores como a hidrofobicidade dos materiais, podem ter contribuído nessa aderência.

5. CONCLUSÕES

Em relação a influência do equipamento na contaminação microbiológica, pode ser concluído que a depiladeira e ambas as polidoras incrementaram as CT e o isolamento de *Salmonella* spp.. Verificou-se, também, que mais de 50% dos requisitos do *design* higiênico destes equipamentos estavam não-conformes. Portanto, a adoção das normas do *design* higiênico no projeto destas máquinas poderiam reduzir este incremento microbiológico identificado nas carcaças amostradas.

Em relação à avaliação dos dois tipos de elastômeros, utilizados na construção dos chicotes, sugeriu que a o ETP foi considerado melhor quanto à segurança de alimentos. Entretanto, independente do tipo de material as ranhuras destes chicotes devem ser mais largas que profundas, reduzindo a possibilidade de acúmulo de sujidades e formação de biofilme.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIEPCS - Associação Brasileira da Indústria Produtora e Exportadora de Carne Suína. **Relatório Anual ABIEPCS do ano de 2008**. São Paulo: ABIEPCS, 2009. Disponível em: <www.abiepcs.org.br>. Acesso em: 10 set. 2009.

ALBAN, L.; STÄRK, K.D.C. Where should the effort be put to reduce the Salmonella prevalence in the slaughtered swine carcass effectively? **Preventive Veterinary Medicine**, Amsterdam, v.68, n.1, p.63-79, 2005.

ANUALPEC. **Anuário da Pecuária Brasileira**. 12 ed. São Paulo: FNP Consultoria, 2006.

BAGGENSEN, D. L.; AARESTRUP, F.; MOLBAK, K. The emergence of nalidixic acid resistant, multiresistant *S. typhimurium* DT104 in Denmark: an outbreak in humans traced back to pork. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON THE EPIDEMIOLOGY AND CONTROL OF SALMONELLA IN PORK, 3., 1999. **Proceedings...** Washington, D.C.: University of Illinois, 1999. p.191-193.

BERENDS, B.R. et al. Identification and quantification of risk factors regarding Salmonella spp. on pork carcasses. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.36, n.2/3, p.199-206, 1997.

BERENDS, B.R., et al. Salmonella spp. on pork at cutting plants and at the retail level and the influence of particular risk factors. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.44, n.3, p.207-217, 1998.

BOLTON, D.J., et al. Decontamination of pork carcasses during scalding and the prevention of Salmonella cross-contamination. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, England, v.94, n.6, p.1036-1042, 2003.

BOLTON, D.J., et al. Washing and chilling as critical control points in pork slaughter hazard analysis and critical control point (HACCP) systems. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, England, v. 92, n.5, p.893-902, 2002.

BOLTON, D.J.; PEARCE, R.; SHERIDAN, J.J. **Risk based determination of critical control points for pork slaughter**. Dublin: Teagasc, 2002. (The National Food Centre, Research & Training for The Food Industry, Research Report, 56). Disponível em: <<http://www.teagasc.ie/research/reports/foodprocessing/4667/eopr-4667.pdf>>. Acesso em: out. 2008.

BOTTELDOORN, N., et al. Salmonella on pig carcasses: positive pigs and cross contamination in the slaughterhouse. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, England, v. 95, n.5, p. 891-903, 2003.

BOTTELDOORN, N., et al. Phenotypic and molecular typing of Salmonella strains reveals different contamination sources in two commercial pig slaughterhouse. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, D.C., v.70, n.9, p.5305-5314, 2004.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 62**, de 26 de agosto de 2003. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. Disponível em: <<<http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em: 10 jul. 2008.

COSTERTON, J.W., et al. Biofilms, the customized microniche. **Journal of Bacteriology**, Washington, D.C., v.176, n.8, p.2137-2142, 1994.

DADOS estatísticos de DTA. **Boletim Eletrônico Novidades do Sistema Nacional de Vigilância Sanitária (SINAVISA)**, Brasília, ano 1, n.2, ago. 2005. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 2 out. 2007.

DA SILVA, N. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. São Paulo: Liv. Varela, 1997. 295 p.

DAVIES, R.H.; MCLAREN, I.M.; BEDFORD, S. Distribution of Salmonella contamination in two pig abattoirs. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON THE EPIDEMIOLOGY AND CONTROL OF SALMONELLA IN PORK, 3., 1999. **Proceedings...** Washington, D.C.: University of Illinois, 1999. p. 267-272.

DUTRA, C.C.; ALLES, M.J.L.; MARIOT, R.F. **Manual do design higiênico para máquinas, equipamentos e instalações da indústria de alimentos e bebidas**. Porto Alegre: SENAI-RS, 2008.

FORSYTHE, S.J. **Microbiologia da Segurança Alimentar**. Porto Alegre: Artmed, 2002. 424 p.

HALD, T.; WEGENER, H.C. Quantitative assessment of the sources of human salmonellosis attributable to pork. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON THE EPIDEMIOLOGY AND CONTROL OF SALMONELLA IN PORK, 3., 1999. **Proceedings...** Washington, D.C.: University of Illinois, 1999. p. 200-205.

HOLAH, J. **Food processing equipment design and cleanability**. Dublin:Teagasc, 2000. (National Food Center, Flair-Flow Europe Technical Manual F-FE 377A/00). Disponível em: <<http://flairflow4.vscht.cz/cleaning00.pdf>>. Acesso em: 10 jun. 2009.

HURD, H.S., et al. The effect of lairage on salmonella isolation from market swine. **Journal of Food Protection**, Iowa, v.64, n.7, p. 939-944, 2001.

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

JORNAL OFICIAL DA UNIÃO EUROPÉIA. **Regulamento (CE) N° 2073/2005 da Comissão de 15 de Novembro de 2005**. Relativo a critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios. Disponível em: <<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2007:322:0012:0029:PT:PDF>> Acesso em: 5 jun. 2008.

JOSEPH, B. et al. Biofilm formation by Salmonella spp. on food contact surface and their sensitivity to sanitizers. **International Journal of Food microbiology**, Amsterdam, v.64, n.3, p. 367-372, 2001.

KUNIGH, L.; ALMEIDA, M.C.B. Action of peracetic acid on Escherichia coli and Staphylococcus aureus in suspension or settled on stainless steel surfaces. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 32, n.1, p. 38-41, 2001. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/bjm/v32n1/5029.pdf>>. Acesso em: 30 mar. 2009.

LERICHE, V.; CARPENTIER, B. Viable but nonculturable Salmonella typhimurium in single and binary-species biofilms in response to chlorine treatment. **Journal of Food Protection**, Iowa, v.58, n.11, p.1186-1191, 1995.

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

- PEARCE, R.A., et al. Studies to determine the critical control points in pork slaughter hazard analysis and critical control point systems. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.90, n.3, p.331-339, 2004.
- PILLAR, V. D. P. **MULTIV: Multivariate Exploratory Analysis, Randomization Testing and Bootstrap Resampling**. User's Guide v.2.3.10. UFRGS, Porto Alegre, Brasil, 2004.
- PILLAR, V. D. P., ORLLÓCI, L. On randomization testing in vegetation science: multifactor comparisons of relevé groups. **Journal of Vegetation Science**, San Francisco, USA, v.7, n. 4, p.585-592, 1996.
- RONNER, A.B.; WONG, A.C.L. Biofilm development and sanitizer interaction of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella typhimurium* on stainless steel and buna-n rubber. **Journal of Food Protect**, Iowa v.56, p.750-758, 1993.
- ROSSONI, E.M.M.; GAYLARDE, C.C. Comparison of sodium hypochlorite and peracetic acid as sanitizing agents for stainless steel food processing surfaces using epifluorescence microscopy. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.61, n.1, p.81-85, 2000.
- ROSTAGNO, M.H. et al. Preslaughter holding environment in pork plants is highly contaminated with *Salmonella enterica*. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington v. 69, p. 4489-4494, 2003.
- SEIXAS, F.N.; TOCHETTO, R.; FERRAZ, S.M. Presença de *Salmonella* sp. em carcaças suínas amostradas em diferentes pontos da linha de processamento. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia , v. 10, n. 2, p. 634-640, 2009.
- SILAGYI, K. et al. Production of biofilm and quorum sensing by *Escherichia Coli* O157:H7 and its transfer from contact surfaces to meat, poultry, ready-to-eat deli, and produce products. **Food Microbiology**, London v. 26, p.514-519, 2009.
- SINDE, E.; CARBALLO, J. Attachment of *Salmonella* sp. And *Listeria monocytogenes* to stainless steel, rubber and polytetrafluorethylene: the influence of free energy and the effect of commercial sanitizers. **Food Microbiology**, London , v. 17, n. 4, p. 439-447, 2000.
- SOFOS, J.N. et al. Extent of beef carcass contamination with *Escherichia coli* and probabilities of passing United States regulatory criteria. **Journal of Food Protection**, Iowa, v.62, p. 234-238, 1999.

SOFOS, J.N.; BELK, K.E.; SMITH, G.C. Processes to reduce contamination with pathogenic microorganisms in meat. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF MEAT SCIENCE AND TECHNOLOGY, 45., Yokohama. **Proceedings ...** Yokohama: [s.n.t.], 1999. p 596-605. Disponível em: <http://ansci.colostate.edu/files/meat_science/processes.pdf>. Acesso em: mar. 2009.

SPRICIGO D.A.; MATSUMOTO S.R.; ESPÍNDOLA M.L. Prevalência e perfil de resistência a antimicrobianos de sorovares de Salmonella isolados de lingüiças suínas tipo frescal em Lages, SC. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária Zootecnia**, Belo Horizonte, v.60, n.2, p.517-520, 2008.

SWANENBURG, M., et al. Salmonella in slaughter pigs: prevalence, serotypes and critical control points during slaughter in two slaughterhouses. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.70, n.3, p.243-254, 2001.

TRACHOO, N. Biofilms and the food industry : review article. **Songklanakarín Journal of Science and Technology**, Songkhla, Thailand v. 25, n. 6, p. 807-815, 2003. Disponível em:< http://www.rdoapp.psu.ac.th/html/sjst/journal/25-6/12biofilm_food.pdf>. Acesso em: 10 mar. 2009.

WEGENER, H. C. D.; BAGGENSEN, D. L. Investigation of an outbreak human salmonellosis caused by Salmonella enterica spp. enterica serovar Infantis by use of pulse field electrophoresis. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.32, n.1-2, p.125- 131, 1996.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)