

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**  
**“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”**  
**FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS**  
***CÂMPUS DE JABOTICABAL***

***Campylobacter sp* COMO PERIGO BIOLÓGICO NA  
PRODUÇÃO DE PEITO DE FRANGO MATURADO**

**Márcio Roberto Butrico**

Tecnólogo em Saneamento Ambiental

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**  
**“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”**  
**FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS**  
***CÂMPUS DE JABOTICABAL***

***Campylobacter sp* COMO PERIGO BIOLÓGICO NA  
PRODUÇÃO DE PEITO DE FRANGO MATURADO**

**Márcio Roberto Butrico**

**Orientador: Prof. Dr. Ruben Pablo Schocken-Iturrino**

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Microbiologia Agropecuária.

**2014**

## FICHA CATALOGRAFICA

Butrico, Márcio Roberto  
O48f Campylobacter sp como perigo biológico na produção de  
peito de frango maturado / Márcio Roberto Butrico. --  
Jaboticabal, 2014  
viii, 57 p. : il. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista,  
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2014  
Orientador: Ruben Pablo Schocken-Iturrino  
Banca examinadora: Rubén Pablo Schocken-Iturrino, Luiz  
Augusto do Amaral, Alessandra Aparecida Medeiros.  
Bibliografia

1. Gerenciamento de risco. 2. Gallus. 3.  
Campilobacteriose. 4. PCR Tempo Real. 5. Contaminação  
fecal. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências  
Agrárias e Veterinárias.

CDU 633.34:631.54

**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**

**TÍTULO:** Campylobacter sp COMO PERIGO BIOLÓGICO NA PRODUÇÃO DE PEITO DE FRANGO MATURADO

**AUTOR:** MÁRCIO ROBERTO BUTRICO

**ORIENTADOR:** Prof. Dr. RUBEN PABLO SCHOCKEN ITURRINO

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de MESTRE EM MICROBIOLOGIA AGROPECUÁRIA , pela Comissão Examinadora:



Prof. Dr. RUBEN PABLO SCHOCKEN ITURRINO  
Departamento de Patologia Veterinária / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal



Prof. Dr. LUIZ AUGUSTO DO AMARAL  
Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal



Profa. Dra. ALESSANDRA APARECIDA MEDEIROS  
Universidade Federal de Uberlândia / Uberlândia/MG

Data da realização: 15 de julho de 2014.

## **DADOS CURRICULARES DO AUTOR**

**MÁRCIO ROBERTO BUTRICO** - nascido em 05 de Setembro de 1979, natural de Mogi Guaçu, São Paulo, graduou-se no Curso Superior de Tecnologia em Saneamento Ambiental pela Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP – São Paulo, em 2006. Em Dezembro de 2010 concluiu curso de pós-graduação Lato Sensu em MBA em Gestão Empresarial, pela Universidade Paulista, câmpus Ribeirão Preto. Iniciou o curso de Mestrado em Microbiologia Agropecuária na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, câmpus de Jaboticabal. Atualmente é Analista de Qualidade em uma empresa na área de alimentos de origem animal.

## **Dedico**

Ao meu pai, que foi um exemplo da força do trabalho e cuidado com a família;  
Á minha mãe, que me influencia com sua sabedoria e que cuida de mim com tanto carinho;

Á minha irmã, que me inspira com sua bondade e bom coração;  
Aos meus sobrinhos, Lucas e Vinícius, que me permitem exercer o sentimento do amor pela continuação da minha família;

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus por todas as etapas que consegui conquistar. Pela paz interior e pela força que me deu nos dias em que mais precisei. Pela proteção durante as tantas vezes em que transitei até Jaboticabal e retornei para o trabalho. A Tua ajuda veio de diversas formas e muitas delas por todos que agradeço nestas páginas.

Agradeço ao Prof. Dr. Ruben Pablo Schocken-Iturrino pela oportunidade e orientação, apoio e estímulo ao longo deste trabalho. Agradeço pelas críticas suaves e profundas a ponto de me transformar positivamente. Sou seu admirador e lhe tenho muito respeito e orgulho, sou grato pela confiança depositada em mim, por ter colaborado para o meu crescimento pessoal e profissional.

Agradeço ao Prof. Dr. Ricardo Cavani pelo aceite em coorientar meu trabalho. Mais do que a orientação no trabalho acadêmico, recebi inestimável apoio profissional e um grande companheiro, que levo comigo por toda minha vida. Agradeço pela inspiração na minha vida pessoal em sempre trilhar o caminho dos justos.

Aos meus colegas de trabalho, que sempre mantiveram apoio e entenderam meus momentos de ausência: Andrea, Paulo André, Lúcia Lopes, Monique, Mikahely, Angela e Silvana.

Aos meus amigos do Laboratório de Anaeróbios, agradeço pelos momentos que passamos juntos, pelos conhecimentos que fizemos multiplicar e pelo apoio dividido. Jamais me esquecerei das brincadeiras que fizemos e da simpatia e constante auxílio da Mariana Beraldo Massoli, que me inspira profissionalmente, e da atenção e apoio recebidos da Lívia Boarini, Mariana Froner e Silvina Berchielli.

Aos amigos que fiz durante as disciplinas que cursamos juntos, sempre me lembrarei de cada um de vocês com muito carinho e amizade.

A todos os demais amigos, que se mantiveram como meus amigos, compreendendo a distância e isolamento necessários nesse período.

## SUMÁRIO

RESUMO.....	iii
ABSTRACT .....	v
LISTA DE TABELAS .....	vii
LISTA DE FIGURAS .....	viii
1 INTRODUÇÃO .....	1
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	3
2.1 Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle.....	3
2.2 Programas de Prérrequisitos para Análise de Perigos – Programas de Autocontrole nos Abatedouros de Aves.....	5
2.3 Processos do abate de aves .....	16
2.3.1 Recepção das aves .....	18
2.3.2 Área de pendura das aves em linha de abate .....	18
2.3.3 Insensibilização .....	18
2.3.4 Sangria .....	19
2.3.5 Escaldagem.....	19
2.3.6 Depenagem .....	19
2.3.7 Retirada dos pés cabeças e toilette.....	20
2.3.8 Evisceração .....	20
2.3.9 Toilette Final .....	21
2.3.10 Pré-resfriamento por imersão em água .....	21
2.3.11 Avaliação da eficiência do sistema de pré-resfriamento por imersão....	23
2.3.12 Gotejamento .....	24
2.3.13 Classificação.....	25
2.3.14 Embalagem .....	25
2.3.15 Resfriamento e Congelamento .....	25
2.3.16 Armazenagem .....	25
2.3.17 Expedição.....	26
2.4 Processos adicionais no abate de aves .....	26
2.4.1 Maturação.....	26
2.4.2 Regenerador de temperatura da água no sistema de pré-resfriamento	27



2.5	Risco para a saúde humana por <i>Campylobacter sp</i> .....	28
2.6	Parâmetros de Desempenho de processo para <i>Campylobacter sp</i> em abatedouros de aves .....	29
3	OBJETIVO .....	32
3.1	Objetivos gerais .....	32
3.2	Objetivos específicos .....	32
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	32
4.1	Delineamento experimental.....	32
4.2	Análises microbiológicas .....	35
4.3	Tratamento estatístico.....	37
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	37
6	CONCLUSÕES .....	46
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	47

## ***Campylobacter sp* COMO PERIGO BIOLÓGICO NA PRODUÇÃO DE PEITO DE FRANGO MATURADO**

**RESUMO** - *Campylobacter sp* é o patógeno mais envolvido em casos de infecção alimentar no mundo. Uma das principais fontes identificadas é a carne de frango, seja por má preparação antes do consumo ou contaminação cruzada durante sua manipulação. Atualmente, o mercado tem buscado produtos com alto valor agregado e algumas empresas tem utilizado o método de maturação, que consiste em manter o músculo da ave em baixa temperatura ambiente por determinado período de tempo até que enzimas naturais confirmem à carne maior suculência e maciez. O objetivo deste estudo foi identificar se *Campylobacter sp* é um perigo biológico a ser considerado na Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle na produção de peito de frango maturado. Para isso, seis lotes de aves de integrados diferentes foram testados para a presença de *Campylobacter coli*, *Campylobacter lari* e *Campylobacter jejuni* antes do abate (n= 1500), pelo método PCR-RT Multiplex, utilizando um kit comercial. Em seguida, amostras dos respectivos lotes foram retiradas na Evisceração, antes e após o Ponto Crítico de Controle para contaminação fecal visível (n=30 cada etapa) e analisadas pelo método qPCR-RT Multiplex, para as três espécies, além de contagem total de coliformes e *E. coli*, utilizando Placa Petrifilm 3M®. Os mesmos parâmetros foram analisados antes e após o Pré-resfriamento, antes e após a Maturação e após o Congelamento, além de dois pontos da superfície de equipamentos em contato com produto (n = 30 por etapa e n=06, cada equipamento). Dos três sorotipos pesquisados, apenas *Campylobacter jejuni* e *Campylobacter coli* foram recuperados a partir das amostras. Apenas um dos seis lotes foi positivo para *Campylobacter jejuni* antes do abate, entretanto, ao menos um dos dois sorotipos identificados foi recuperado a partir de amostras coletadas dos demais lotes em uma das etapas do processo. Os resultados de *E. coli* e coliformes totais decresceram significativamente ao longo do processo. O número de amostras positivas para uma *Campylobacter jejuni* decaíram ao longo do processo, assim como as contagens recuperadas. Observou-se, entretanto, aumento significativo no número de *Campylobacter coli* depois do pré-resfriamento e após maturação, assim como na detecção de amostras positivas

nessas etapas. Depois do congelamento amostras positivas foram recuperadas para *Campylobacter coli*, embora as populações foram significativamente menores quando comparados com a etapa anterior. Pode-se supor que *Campylobacter coli* é capaz de sobreviver às condições do processo de maturação, mesmo após o congelamento, e deve ser incluído como um perigo nos planos HACCP, bem como os resultados obtidos podem ser aplicados em estudos de gerenciamento de risco para

*Campylobacter sp* na produção de peito de frango maturado.

**Palavras chaves:** Gerenciamento de risco, *Gallus*, Campilobacteriose, PCR tempo real, contaminação fecal.

## ***Campylobacter sp* AS A BIOLOGICAL HAZARD TO AGED CHICKEN BREAST PRODUCTION**

**ABSTRACT** - *Campylobacter sp* is the pathogen involved in most cases of foodborne diseases in the world. A major source is chicken meat due to poor preparation or cross-contamination during its handling. Nowadays, customers seek for chicken products with higher added value and some slaughterhouses have used aging procedures, which consists of keeping meat under low temperature for a certain period of time, until natural enzymes confer more tenderness to it. The aim of this study was to identify whether *Campylobacter sp* is a biological hazard to be considered in the hazard analysis of aged chicken breast production. To do that, six flocks from different farms were tested for the presence of *Campylobacter coli*, *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter lari* before slaughter (n=1500) using a commercial kit for Multiplex RT-PCR assay. Consecutively, samples from those flocks were taken at the evisceration before and after the Critical Control Point for visible ingesta contamination; before and after chilling; before and after aging (24 h) and after freezing, besides surface swabs of two equipments in contact with products. For each step thirty samples were gathered (n = 240) and six swabs per equipment (n = 12) to be analyzed by the Multiplex qRT-PCR method for the three *Campylobacter* serovars, including total coliforms and *E. coli* counts by Petrifilm plates. From the three serovars tested, *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* were recovered from the samples, but not *Campylobacter lari*. Although only one of the six flocks was pre-slaughter positive for *Campylobacter jejuni*, positive samples were recovered from all the other flocks, at least for one of the serovars tested in one of the steps. *E.coli* and total coliforms counts decreased significantly throughout process. The number of positive samples for one of the two species recovered were also lower throughout process to the finished product, as were the bacterial load. But significant increasing was observed in *Campylobacter coli* numbers after chilling, as after aging stage. After freezing positive samples were recovered for *Campylobacter coli* although counts were significantly lower when compared to aging stage. It may

be assumed that *Campylobacter coli* is able to survive the aging process conditions, even after freezing, thus should be included as a hazard in the HACCP plan considering aged chicken breast production. Those findings may be considered for further risk management studies to be carried out on aged chicken breast production.

**Key words:** Risk management, *Gallus*, Campilobacteriose, Real Time PCR, fecal contamination

**LISTA DE TABELAS**

	Página
Tabela 1 Lista dos Programas de Autocontrole implantados nos abatedouros de aves, estabelecidos pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento pelos Ofícios Circulares 175 e 176/CGPE/DIPOA/2005.....	06
Tabela 2 Incidência de isolamento e valores médios das populações de <i>Campylobacter coli</i> e <i>Campylobacter jejuni</i> em Carcaças de Frango evisceradas e Peito de Frango Maturado.....	38
Tabela 3 Valores médios das populações de <i>E. coli</i> e coliformes totais recuperadas de carcaças de frango evisceradas coletadas em várias etapas do processo e Peito de Frango Maturado Congelado.....	43

## LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1 Fluxo de produção e posicionamento dos colaboradores na etapa de revisão de carcaças após evisceração e inspeção <i>post mortem</i> .....	13
Figura 2 Etapas do processo simplificado de abate de aves.....	17
Figura 3 Fluxograma do processo de abate de frango para produção de peito de frango maturado e identificação dos pontos de coleta.....	33
Figura 4 Valores médios e máximos para populações de <i>Campylobacter coli</i> em carcaças de frango evisceradas e peito de frango maturado congelado, por qPCR Tempo Real.....	40
Figura 5 Valores médios das populações de <i>E. coli</i> e coliformes totais de amostras de carcaças de frango evisceradas em várias etapas do processo e de Peito de Frango Maturado Congelado.....	44

## 1 INTRODUÇÃO

A produção Brasileira de carne de frango tem uma significativa participação no mercado internacional. Em 2013, a produção alcançou 12.300.000 toneladas, das quais 31% foram exportadas, colocando o país como o terceiro produtor mundial de carne de frango e o maior exportador mundial de carne de frango (UBABEF, 2012). Tal condição de liderança requer investimentos em padronização de processo, estritos controles de qualidade do produto e constante desenvolvimento tecnológico (DELIBERALI et al, 2010).

Em busca do atendimento de requisitos desse mercado, alguns abatedouros de aves tem submetido a carne ao processo de maturação, um procedimento que dá ao produto maior suculência, agregando assim maior valor de mercado (GARCIA et al., 2012). A maior maciez do produto resulta da ação de várias proteases endógenas presentes no músculo no período postmortem, quando a carne é mantida a baixa temperatura ambiente, sem alcançar o ponto de congelamento (MOREIRA et al., 2008).

Entretanto, incluir um procedimento a mais em um processo produtivo pode ser uma via extra para a contaminação microbiológica, tanto pela maior manipulação aplicada (YOUNG et al., 2004), quanto pelo favorecimento da multiplicação de microrganismos estimulado pela liberação de aminoácidos envolvidos no processo de caráter proteolítico (MIN et al., 2007).

*Campylobacter sp* é um dos patógenos com maior implicação na produção de produtos de aves relacionados a problemas de segurança alimentar, que pode acometer os consumidores devido ao consumo indevido de produtos mal cozidos ou pela contaminação cruzada causada pela manipulação do produto cru nas cozinhas (WAGENAAR et al., 2006).

Nos Estados Unidos, a incidência da infecção em 2012 foi 14% maior comparado ao período de 2006 – 2008, caracterizando como a segunda maior causa de notificação de agravos a saúde humana ao Centro de Controle e Prevenção de Doenças em Atlanta (CDC, 2013). Na América Latina, embora não exista a pesquisa sistemática de casos de diarreia em humanos suspeitos de



campilobacteriose, se reconhece a importância de tal patógeno, especialmente ao risco para crianças e idosos (FERNÁNDEZ, 2011).

*Campylobacter sp* é uma bactéria Gram-negativa, microrganismos microaerofílico, o que torna o isolamento por técnicas microbiológicas tradicionais dispendioso e problemático. Adiciona-se a isso o fato de *Campylobacter sp* poder permanecer no estado viável mas não cultivável (IVNITSKI et al., 1999). Métodos moleculares são uma alternativa as técnicas tradicionais de detecção de *Campylobacter sp* em vários substratos (LEBLANC-MARIDOR et al., 2011).

No intestino das aves, *Campylobacter sp* vive em estado comensal (SCHLUNDT et al., 2004). Porém outros autores relataram a recuperação de *Campylobacter jejuni* também em ambientes aquáticos, incluindo sedimento em rios, lagos e sistemas de distribuição de água potável (OYOFO et al., 1993; KEMP et al., 2005; ABULREESH et al., 2006). Sugere-se que a presença de biofilme em sistemas de distribuição de água para desedentação das aves possa ser uma das vias responsáveis pela colonização dos aviários de frangos de corte (GREGORY et al., 1997; ZIMMER et al., 2003; LEE et al., 2006).

No Brasil, a implantação nos abatedouros de aves de sistemas de qualidade baseados na ferramenta APPCC (Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle) tornou-se mandatório a partir do segundo semestre de 2006, quando o Ministério da Agricultura e Pecuária publicou o Ofício Circular 668/2006. Essa publicação trouxe um plano APPCC genérico a ser adaptado nas unidades produtoras (BRASIL, 2006).

A metodologia para a construção dos Planos APPCC seguiu os preceitos do *Codex Alimentarius*, baseado em sete princípios e doze passos para a aplicação da ferramenta (*Codex Alimentarius*, 2003). Embora cada processo tenha suas peculiaridades, os riscos biológicos envolvidos na produção de carne de aves são muito similares de uma planta para outra. Geralmente dois Pontos Críticos de Controle (PCC) para riscos biológicos são estabelecidos. O primeiro (PCC 1B), diz respeito aos procedimentos de evisceração da carcaça e a permanência de resíduos gastrointestinais visíveis (ração, conteúdo do proventriculo, fezes ou bÍlis). Esse Ponto Crítico de Controle foi estabelecido logo após a etapa de Revisão de Carcaças, onde uma linha de auxiliares de produção inspecionam visualmente todas as carcaças interna e externamente, para remover as partes visivelmente

contaminadas. O limite crítico adotado é a ausência de contaminação gastrointestinal visível (BRASIL, 2006). As carcaças que contenham partes visivelmente contaminadas são transferidas para uma linha secundária, onde funcionários removem as partes contaminadas, que são descartadas como resíduos não comestíveis. As carcaças remanescentes são novamente inspecionadas e rependuradas na linha principal, para serem checadas novamente na etapa de revisão de carcaças.

Seguindo o fluxo do processo, o segundo Ponto Crítico de Controle (PCC 2B) é baseado no tempo de produção e temperatura do produto, devido ao risco de multiplicação bacteriana. Para evitar que os microrganismos passem da fase de crescimento lag para a log, onde há multiplicação exponencial, o limite crítico estabelecido foi de 4 horas entre a sangria do animal até a entrada da carne no túnel de congelamento ou resfriamento, quando o produto final deve alcançar 4 ° C (BRASIL, 2006).

## **2 REVISÃO DA LITERATURA**

### **2.1 Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle**

O *Codex Alimentarius* é um fórum internacional de normatização do comércio de alimentos (WHO, 2006). É o emitente de uma coleção de padrões internacionalmente reconhecidos, códigos de boas práticas de fabricação e outras recomendações relacionadas a alimentos, sua produção e segurança alimentar. Foi estabelecido em 1963 pela Organização das Nações Unidas (ONU), por ato da Organização para a Agricultura e Alimentação (FAO) e Organização Mundial de Saúde (OMS) (BRASIL, 2014). O fórum tem a finalidade de proteger a saúde dos consumidores e assegurar práticas equitativas no comércio regional e internacional de alimentos, sendo reconhecido pela Organização Mundial do Comércio como uma referencia internacional para a solução de disputas referentes à segurança alimentar e proteção dos consumidores.

As normas *Codex* abrangem os principais alimentos, sejam estes processados, semiprocessados ou crus (WHO, 2006). Também tratam de substâncias e produtos usados na elaboração de alimentos. Suas diretrizes referem-se aos aspectos de higiene e propriedades nutricionais dos alimentos, abrangendo

código de prática e normas de aditivos alimentares, pesticidas, resíduos de medicamentos veterinários, substâncias contaminantes, rotulagem, classificação, métodos de amostragem e análise de riscos. Atualmente é formado por 186 membros e 215 observadores, sendo 49 organizações intergovernamentais, 150 organizações governamentais e 16 organizações de nações unidas (BRASIL, 2014).

Para o *Codex Alimentarius*, a presença de um agente, seja biológico, químico ou físico com o potencial de causar efeitos adversos à saúde humana caracteriza um perigo à produção de alimentos seguros. A partir da presença de um perigo, a função resultante entre a probabilidade de ocorrência desse agente e a gravidade do efeito nocivo para a saúde resultante desse perigo, é definido como risco. (WHO, 1999). A definição de perigo e risco para a produção de alimentos seguros é a base para a aplicação da ferramenta de qualidade conhecida como HACCP (“Hazard Analysis and Critical Control Points”) ou APPCC (Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle).

Em 1969, o *Codex Alimentarius* adotou o HACCP, uma ferramenta inicialmente desenvolvida pela “Pillsbury Corporation” em conjunto com a NASA para a produção de alimentos destinados às missões espaciais tripuladas por humanos (WHO, 1999). Atualmente essa ferramenta de qualidade foi estendida aos mais diferentes processos produtivos de alimentos, destinados até à alimentação de animais. A ferramenta sistematiza a identificação, avaliação e controle dos perigos significativos para a produção de alimentos.

O processo de análise de perigos se baseia em coletar e avaliar informações sobre os perigos pertinentes ao processo produtivo em questão e as condições que permitem sua permanência. A decisão baseada em fatos científicos de quais perigos são significativos para a segurança alimentar leva à consideração de quais agentes devem ser incluídos em um plano HACCP (WHO, 1999). O plano HACCP consiste de um documento preparado de acordo com os princípios da ferramenta para assegurar o controle dos perigos levados em consideração do processo estudado. Tal plano é o resumo de um trabalho que se inicia com a análise dos perigos presentes em um processo de produção de alimentos e culmina com a determinação dos pontos críticos de controle (WHO, 1999).

Ponto Crítico de Controle é a etapa na qual uma medida de controle é aplicada e tal ação será essencial para a prevenção, eliminação ou redução a um nível aceitável de um perigo a segurança alimentar (WHO, 1999). Determinado quais etapas serão pontos críticos de controle, o critério que separará uma condição aceitável da não aceitável é denominada limite.

A aplicação da ferramenta HACCP, conforme definida pelo *Codex Alimentarius*, deve seguir sete princípios e doze passos:

- **1° Passo** – Estabelecer equipe multidisciplinar para o sistema HACCP;
- **2° Passo** – Descrever o Produto, identificando o uso pretendido;
- **3° Passo** - Descrever a população alvo;
- **4° Passo** – Construir fluxograma do processo;
- **5° Passo** – Validar o fluxograma *in loco*;
- **6° Passo e Princípio 1** – Conduzir uma análise de perigos;
- **7° Passo e Princípio 2** – Determinar os pontos críticos de controle;
- **8° Passo e Princípio 3** – Estabelecer limites críticos;
- **9° Passo e Princípio 4** – Estabelecer um sistema para monitorar o controle dos pontos críticos de controle;
- **10° Passo e Princípio 5** – Estabelecer as ações corretivas a serem tomadas quando o monitoramento indicar que um ponto crítico de controle apresenta desvio;
- **11° Passo e Princípio 6** – Estabelecer procedimentos de verificação que confirmem que o sistema HACCP está funcionando efetivamente;
- **12° Passo e Princípio 7** – Documentar todos os procedimentos e registrar os achados de processo para manutenção do sistema.

## **2.2 Programas de Prérrequisitos para Análise de Perigos – Programas de Autocontrole nos Abatedouros de Aves.**

Antes da implantação da ferramenta HACCP, programas de controle primários devem estar instalados no processo (WHO, 1999). Esses programas são conhecidos como Programas de Prérrequisitos e visam à proteção dos alimentos, pelo meio de controles básicos dos perigos identificados no processo. Os controles

mínimos implantados no processo antes da ferramenta HACCP podem ser denominados como "Good Hygienic Practices" (GHP) e devem incluir (WHO, 1999):

- Programa de Manutenção das instalações e equipamentos;
- Procedimentos de higienizaçãodos equipamentos e utensílios de produção;
- Procedimentos operacionais;
- Controle da higiene e saúde dos funcionários;
- Controle de matérias primas, insumos e embalagens;
- Gestão de fornecedores;
- Controle da água de Abastecimento;
- Procedimento de *Recall* de produtos;
- Controle de Pragas;
- Controle de Águas residuais;
- Programa de treinamento contínuo dos funcionários

Para a produção de alimentos de carne de aves, o tradicional Manual de Boas Práticas de Fabricação (BPF) foi desmembrado em 18 Programas de Autocontrole, desde 2005, pela publicação dos Ofícios Circulares 175/2005 e 176/2005 (Tabela 1). Além dos programas de pré-requisitos, foram incluídos a própria ferramenta HACCP e também controles não destinados à inocuidade dos produtos, como o Programa de Prevenção e Controle de Adição de água em produtos e o de Bem Estar Animal (BRASIL, 2005 a; BRASIL, 2005 b).

**Tabela 1** - Lista dos Programas de Autocontrole implantados nos abatedouros de aves, estabelecidos pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento pelos Ofícios Circulares 175 e 176/CGPE/DIPOA/2005.

01	Manutenção das instalações e equipamentos industriais
02	Vestiários, sanitários e barreiras sanitárias
03	Iluminação
04	Ventilação
05	Água de abastecimento
06	Águas residuais
07	Controle de pragas

08	Limpeza e sanitização - PPHO
09	Higiene, hábitos higiênicos e saúde dos operários
10	Procedimentos sanitários das operações - PSO
11	Controle de matérias-primas, ingredientes e material de embalagem
12	Controle de temperaturas
13	Calibração e aferição de instrumentos de controle de processo
14	HACCP/APPCC – Avaliação de Perigos e Pontos Críticos de Controle
15	Testes microbiológicos
16	Certificação dos produtos destinados à exportação
17	Programa de Proteção e Controle de Adição de Água nos Produtos - PPCAAP
18	Bem estar animal

Os programas de autocontrole fundamentam-se na inspeção contínua e sistemática de todos os fatores que, de alguma forma, possam interferir na qualidade higiênica sanitária dos produtos expostos ao consumo da população. As modernas legislações dirigidas ao controle sanitário de alimentos tratam estes programas como requisitos básicos para garantia da inocuidade dos produtos (BRASIL, 2005; BRASIL, 2006).

Os dezoito programas de autocontrole ou também conhecido como dezoito elementos de inspeção, são estabelecidos pelas indústrias e inspecionados pelo serviço de inspeção federal do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, sempre visando à segurança alimentar. Estes programas abrangem vários procedimentos, os quais vão desde o pré-abate, até o produto final. Atualmente, estes programas são requisitos para exportação dos produtos (CORDEIRO, 2009):

- a) **Programa 01 - manutenção das instalações e equipamentos:** envolve um conjunto de revisões e operações para a conservação do patrimônio e atendimento aos padrões sanitários dos equipamentos e instalações. Neste, a indústria deve descrever quais serão as manutenções preditivas, preventivas e corretivas para toda estrutura e equipamentos da indústria, garantindo assim, o bom funcionamento do processo de abate das aves (BRASIL, 2005).

- b) **Programa 02 - vestiários, sanitários e barreiras sanitárias:** determinam o fluxo, organização e limpeza dos vestiários e sanitários e tem a função de prevenir e reduzir a contaminação nas áreas de produção, pela higienização e sanitização de mãos e botas nas entradas das áreas produtivas (BRASIL, 2005).
- c) **Programa 03 - Iluminação:** garante a integridade de lâmpadas/luminárias e, por luxímetro, a intensidade de luz ideal para cada setor na indústria (BRASIL, 2005).
- d) **Programa 04 - ventilação:** avalia a necessidade e condições dos equipamentos desenvolvidos para eliminar odores, vapores e condensações não características do processo.
- e) **Programa 05 - água de abastecimento:** as indústrias devem dispor de água potável em quantidade suficiente para o desenvolvimento de suas atividades. O abastecimento de água da indústria pode ser oriundo de rede pública ou rede própria (manancial subterrâneo ou de superfície). Pontos previamente definidos pela indústria devem ser mapeados e monitorados diariamente (cloro residual livre e pH) e outros parâmetros conforme consumo de água da indústria e exigências legais (BRASIL, 2005). As exigências legais variam conforme os países que indústria produz. Para o mercado brasileiro, as indústrias devem atender as exigências contidas na Portaria 2.914 de 2011 - Normas de qualidade de água para consumo humano, Portaria 210 de 1998 - Regulamento técnico da inspeção tecnológica e sanitária de carnes de aves e Regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal - RIISPOA. Para os países de comunidade européia, a Diretiva 83 de 1998 - Diretiva Qualidade da água destinada ao consumo humano. Para o mercado russo, a Circular nº 997 de 2008 - Normas sanitárias da federação russa para inspeção de unidades de abate de aves.
- f) **Programa 6 - águas residuais:** devem ser recolhidas e direcionadas a central de tratamento, por tubulação própria, adequada e identificada, de forma a evitar contaminação da água de abastecimento da indústria (BRASIL,

2005). Estas águas geralmente são originadas por falhas de cálculos das dimensões e posicionamentos das tubulações da indústria.

- g) **Programa 07 - controle de pragas:** devem evitar que o recinto industrial seja um ambiente propício a proliferação de insetos e roedores e que estes ingressem na área industrial (BRASIL, 2005).

Pode ser realizado por empresa contratada ou própria que monitoram e combatem pragas. Os mecanismos utilizados são armadilhas mecânicas, adesivas (placas de colas atóxicas), atrativos sexuais, repelentes, raticidas e inseticidas. O controle a estas pragas é fundamental para indústria de alimentos, pois as pragas são grandes disseminadores de vírus e bactérias quando presentes no parque fabril.

- h) **Programa 08 - limpeza e sanitização (PPHO):** compreende a higienização pré-operacional e operacional da indústria (BRASIL, 2005). Na higienização pré-operacional, acontecem os procedimentos de higienização e sanitização em ambientes e equipamentos, antes do início das atividades do abatedouro (BRASIL, 1998). Os passos desta higienização devem ser primeiramente a remoção de resíduos, enxágue com água sobre pressão e temperatura entre 45 °C a 50 °C, aplicação de detergente, esfrega, enxágue com água sobre pressão e temperatura entre 45 °C a 50 °C, aplicação de sanitizante (tempo de ação de no mínimo 15 minutos) e enxágue final, com água sobre pressão e temperatura entre 45 °C a 50 °C.

Na higienização operacional, acontecem os procedimentos de higienização de ambientes e equipamentos, nos intervalos não superiores há 1 hora, ou seja, refeições e descanso dos operários (BRASIL, 1998). Os procedimentos de higienização e sanitização dos utensílios (facas, chairas, tesouras e luvas de aço), utilizados nos processos do abatedouro, estão compreendidos na higienização operacional. Os passos para esta higienização são somente a remoção de resíduos e enxágue com água sobre pressão e temperatura entre 45 °C a 50 °C, exceto para higienização dos utensílios, a qual deve contemplar o pré-enxágue, aplicação de detergente, esfrega, enxágue e sanitização ou imersão em água com temperatura mínima de 85° C. NOTTINGHAM (1982), SCHMIDT (1989), SMULDERS & WOOLTHUIS (1985)



e SILVA (1998), citam como medida imprescindível para o controle de contaminação da carne fresca, a higienização adequada dos locais de abate e de manipulação;

- i) **Programa 09 - higiene, hábitos higiênicos e saúde dos operários:** a sigla mundialmente conhecida como GMP (“Good Manufacturing Practices”) ou BPF (Boas Práticas de Fabricação), referencia regras de higiene que evitam que os produtos sejam contaminados por qualquer perigo físico, químico e biológico.

As principais regras que devem ser adotados pelos operários são a higiene pessoal (tomar banho diariamente, utilizar sempre toalhas limpas, escovar os dentes ao acordar e após cada refeição, lavar as mãos ao sair dos sanitários e antes das refeições, manterem unhas limpas e curtas, manter a barba aparada, manter cabelos sempre limpos e aparados e usar roupas limpas) e os hábitos higiênicos na produção de alimentos (não fumar nas áreas internas da empresa, não comer ou beber nas áreas produtivas, não utilizar maquiagens, esmalte, perfumes e adornos, manter o cabelo totalmente coberto mesmo nas áreas externas da produção, fazer o uso correto dos sanitários, não sentar no chão vestindo uniforme, cobrir os ferimentos com curativos e luvas ao manipular alimentos, lavar e sanitizar as botas e mãos antes de entrar nas áreas produtivas, não voltar para o processo, produtos que por ventura tenham caído no chão, armazenar os utensílios em local específico e não armazenar junto a eles outros pertences pessoais, usar bebedouros com acionamento a pedal ou mecanismo que não envolva o uso das mãos e somente utilizar ferramentas limpas para manutenção dos equipamentos).

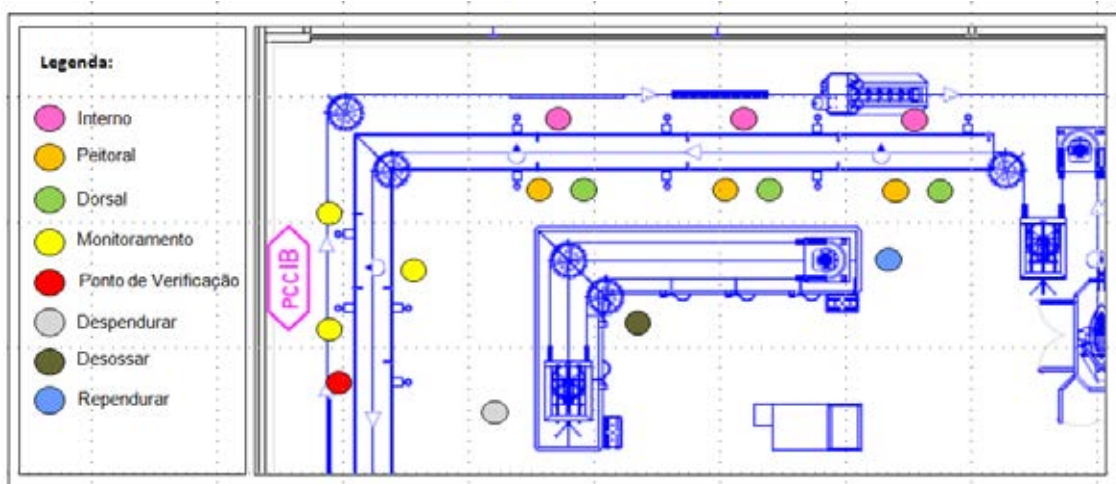
Os operários devem receber treinamento sobre as regras de GMP/BPF quando são contratados pelas indústrias e treinamentos de reciclagem, no mínimo anual. Devem estar atualizados e aptos para manipular alimentos baseando-se em seus atestados de saúde ocupacional – ASO (BRASIL, 2005).

- j) **Programa 10 - procedimentos sanitários das operações (PSO):** tem como objetivo, garantir a manutenção das condições higiênico sanitárias das operações industriais, possibilitando que o processo permaneça em condições higiênicas adequadas a fim de evitar que ocorra o acúmulo de sujidades, contaminação cruzada e outras situações que proporcionem o aumento da carga microbiana nos produtos (BRASIL, 2005). Alguns PSO's estão determinados na legislação vigente e outros podem ser determinados em comum acordo entre as indústrias e o serviço de inspeção federal. Geralmente os PSO's são implantados em processos ou procedimentos que possuem falhas e que estas falhas se repetem com frequência.
- k) **Programa 11 - controle de matérias-primas, ingredientes e material de embalagens:** tudo que entra na composição dos produtos e em contato direto com estes deve ser avaliado sistematicamente quando a inocuidade (BRASIL, 2005). Geralmente As indústrias possui um programa de gestão de fornecedores para selecionar os fornecedores e avaliá-los periodicamente. Também é realizada a gestão dos lotes que chegam à indústria, classificando-os como aprovados ou reprovados, este gerenciamento deve ficar registrado em sistema da indústria para possíveis rastreabilidades.
- l) **Programa 12 - controle das temperaturas:** visa garantir a inocuidade e qualidade dos produtos, pelas medições de temperaturas em produtos e processos do abate de aves (BRASIL, 2005). As medições são realizadas em câmaras de estocagem de produtos, câmaras de resfriamento, túnel de congelamento rápido, águas do sistema de pré-resfriamento (por equipamento de mensuração contínua), águas de abastecimento da indústria, ambientes, esterelizadores, escaldadores e produtos. Estas medições são realizadas por termômetros digitais e termômetros a laser. Os padrões de temperatura utilizados para cada processo ou produto, devem ter consistência técnico-científica (BRASIL, 2005).
- m) **Programa 13 - calibração e ajuste de instrumentos de controle de processo:** conjunto de operações, que estabelece sob condições especificadas, a relação entre os valores indicados por um instrumento de medição e os valores correspondentes das grandezas estabelecidas por

padrões. Os procedimentos de calibração dos dispositivos de medição e ensaios (balanças, termômetro e equipamentos e vidrarias de laboratório), devem ser realizados por calibradores habilitados. O ajuste em alguns dispositivos de medição e ensaio é realizado fora das dependências da indústria, sendo necessário o envio para instituições especializadas e credencias por organismos oficiais (BRASIL, 2005). Estes devem possuir registro de acreditação do Inmetro e os certificados dos padrões utilizados. Estes procedimentos garantem os que os resultados encontrados nas monitorias da indústria sejam confiáveis.

- n) **Programa 14 - Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) / “Hazard Analysis Critical Control Points” (HACCP):** tradicionalmente, até o ano de 2006, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento havia adotado a medida de não interferir na confecção dos Programas de Autocontrole na indústria de aves, limitando-se apenas na avaliação técnica dos procedimentos adotados para controlar os riscos identificados e a adequação dos mesmos a requisitos legais, de acordo com o mercado de atendimento da unidade. Entretanto, com o intuito de definir diretrizes gerais visando orientar os estabelecimentos no que tange a aplicação das legislações dos países importadores, aos moldes dos procedimentos utilizados por outros Governos como EUA e Canadá, um plano genérico foi publicado, pelo Ofício Circular 668/CGPE/DIPOA/SDA/2006 (BRASIL, 2006). Embora em cada processo produtivo existam particularidades que precisam ser atendidas, o abate de aves no Brasil apresenta uma regularidade tecnológica entre as unidades. Dessa maneira, o plano HACCP genérico traz perigos que possivelmente serão aplicáveis a qualquer unidade de abate de aves. Entretanto o processo devia ser avaliado e outros perigos, se existentes no processo, deviam ser incluídos no estudo. Os PCC's já determinados no plano genérico são: atendimento do período de carência estipulado para drogas veterinárias e presença de drogas ou metabólitos nas aves vivas em níveis inaceitáveis, avaliações quanto à presença de contaminação gastrointestinal e biliar visível, internamente e externamente nas carcaças, antes de sua entrada no sistema de pré-resfriamento (Figura 1), sendo

tolerância zero para presença destas contaminações e controle de temperatura e tempo de processo, onde os produtos devem atingir 4 °C, no tempo de 4 horas, contados a partir do túnel de sangria até o túnel de congelamento rápido (BRASIL, 2005; BRASIL, 2006). Algumas indústrias ainda têm como PCC, o controle de metais em produtos por detectores de metais.



**Figura 1.** Fluxo de produção e posicionamento dos colaboradores na etapa de revisão de carcaças após evisceração e inspeção *post mortem*.

- o) **Programa 15 - testes microbiológicos:** descrição de todas as exigências do mercado interno e países importadores, quanto a exames e padrões microbiológicos em produtos e processos do abate de aves. Os resultados destes exames laboratoriais servem para o monitoramento de produtos e processos e também como liberação de produtos a serem consumidos internamente ou a serem exportados.

Uma das avaliações de grande importância nas indústrias são as avaliações quadrimestrais para *Salmonella* spp. em fezes das aves e ou na cama aviária antes das aves serem abatidas (BRASIL, 2010). Geralmente, as indústrias também incluem neste programa as exigências com testes físicos químicos.

Para o mercado brasileiro e “lista geral” (países que não possuem legislações próprias e que aceitam as legislações do país exportador), como exemplo o Japão, Geórgia, China, as exigências e padrões microbiológicos estão

contidas no RIISPOA (Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal, de 19 de Dezembro de 1950), na RDC 12 (Resolução que aprova o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos, de 02 de Janeiro de 2001) e na Circular 12 (Padronização de procedimentos de controle da fiscalização de estabelecimentos produtores de carne de aves e ovos e das auditorias da DICA/O/CGI/DIPOA nos estados, de 13 de Abril de 2007).

As demais exigências estão contidas nas legislações dos países que fazem parte da “Lista especial” (países que possuem legislações próprias), que são Rússia, África do Sul, Itália, Irã, Kosovo, Suécia, Finlândia, Namíbia, Belarus, Ilhas Maurício, Marrocos, Noruega, Ucrânia, República Tcheca, Venezuela, Vietnã, Cingapura, Coreia do Sul, Argentina e Tadjiquistão e nas legislações da Comunidade Europeia,.

Dentre as legislações, os microrganismos exigidos como garantia de qualidade do alimento, são *Salmonella* (enteritidis, typhimurium, typhi), *Escherichia coli*, coliformes totais, coliformes termotolerantes, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens* e seus esporos, aeróbios mesófilos, anaeróbios mesófilos, enterobacteriaceae, *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, *Enterococcus*, *Aspergillus fumigatus* e bolores e leveduras.

Os laboratórios utilizados pelas indústrias para as análises devem fazer parte da lista de laboratórios credenciados e ou reconhecidos pelo BRASIL. O serviço de inspeção federal utiliza os laboratórios oficiais do MAPA (LANAGRO) distribuídos no país e laboratórios credenciados.

- p) **Programa 16 – certificação dos produtos destinados à exportação / embasamento para certificações:** devem estar descritas todas as exigências contidas em legislações (Brasil, “Lista Geral”, “Lista Especial” e Comunidade Europeia).

É no momento da certificação sanitária internacional (CSI) dos produtos, que o serviço de inspeção federal, avalia se produto a ser expedido, atende as exigências legais pertinentes (BRASIL, 2005). Dentre as exigências contidas em legislações nacionais e internacionais, estão às análises de resíduos químicos e biológicos em produtos, os testes microbiológicos e físico

químicos em produtos e processos, exigência de um programa de APPCC/HACCP implantado, que o abate seja Halal e ou humanitário, que a alimentação das aves tenha sido livre de organismos geneticamente modificados – GMO e livre de qualquer utilização de proteína animal, que a indústria tenha cumprido com os requisitos de Bem Estar Animal, que não tenha sido utilizado produtos alergênicos na fabricação de seus produtos, que temperaturas específicas em produtos e processos sejam atendidas, etiquetas de marcações específicas, rotulagem específica e selo lacre específico, animais livres de doenças virais, não utilização ou a proibição de produtos químicos específicos para higienização dos processos, que não tenha sido feito o uso de determinados medicamentos, hormônios, conservantes e pesticidas e ao atendimento a legislações específicas dos países importadores.

- q) **Programa 17 - programa de proteção e controle de adição de água nos produtos (PPCAAP):** desenvolvido para controlar o percentual de água nos produtos (carcaças, cortes e miúdos de frango). Os processos do abate de aves exigem uma grande quantidade de água, a qual é absorvida durante o processo de abate e demais operações tecnológicas (BRASIL, 1998). A absorção ocorre principalmente no sistema de pré-resfriamento por imersão, uma vez que, pequeno percentual de água absorvida (em média até 3%) ocorre durante a escaldagem, depenagem e diversas lavagens na linha de evisceração (BRASIL, 1998). Sendo assim, as indústrias devem avaliar e ajustar seus processos para que os produtos não ultrapassem o limite de água. Absorção de linha: água adquirida pela carcaça até o processo de pré-resfriamento, limite até 8% por carcaça. “Dripping test”: quantidade de água resultante do descongelamento de carcaças, limite até 6% (BRASIL, 1998).
- r) **Programa 18 - Bem Estar Animal:** tem início no campo e se estende até o abate dos animais. Apesar de existirem muitos conceitos sobre BEA, atualmente, a definição proposta pelo comitê Brambell é a mais utilizada. Esse conceito foi elaborado na Inglaterra pelo professor John Webster e adotado pelo Farm Animal Welfare Council (FAWC). Ele se fundamenta nas “Cinco liberdades do bem estar animal”: (1) animais livres de fome e sede, (2)

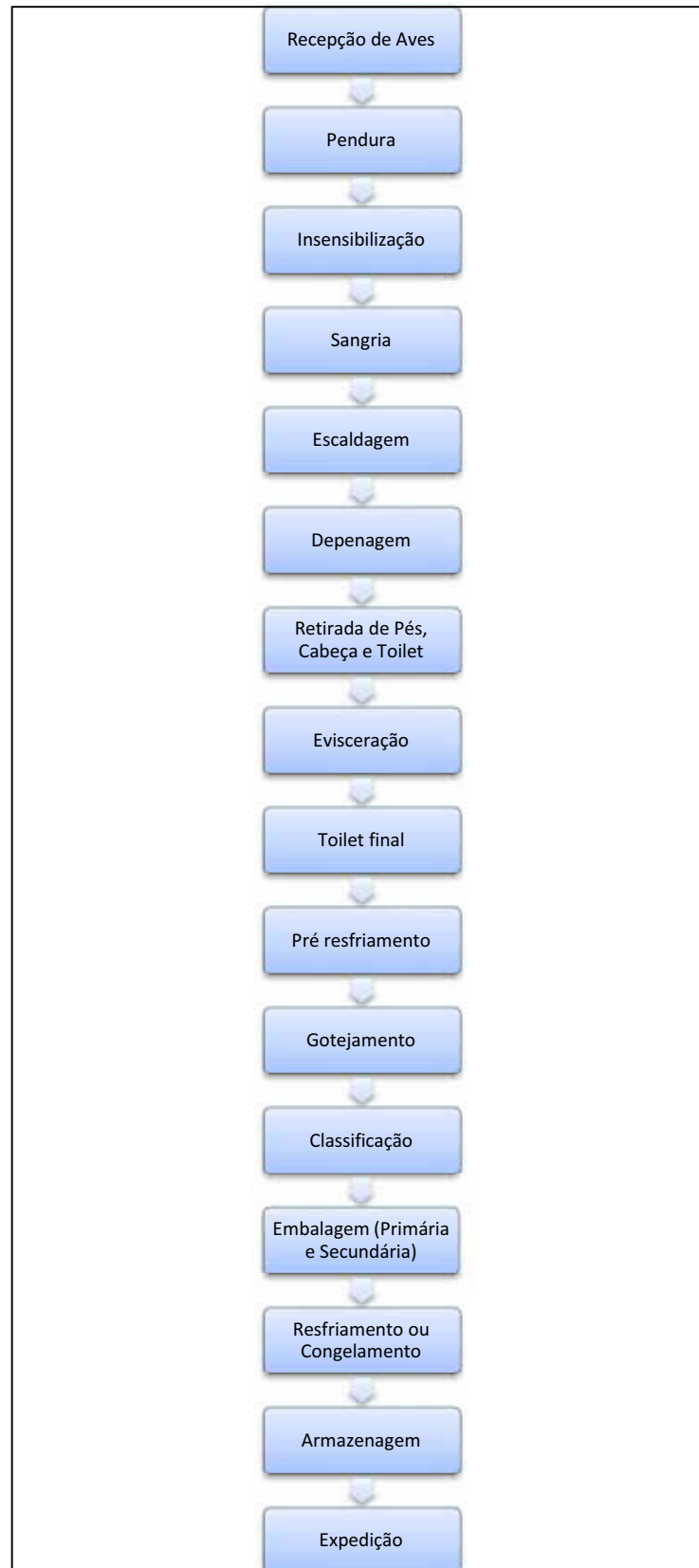
livres de desconforto, (3) livres de dor, injúrias, lesões e doenças, (4) livres de stress, medo e aflição (5) devem expressar um comportamento normal (GRANDIN & JOHNSON, 2010).

Os principais procedimentos de bem estar animal devem ser durante a criação das aves, no momento da apanha/captura, no acondicionamento das aves em gaiolas integras, no número de aves por gaiola em acordo com seu peso, em caminhões apropriados para o transporte, em condições de conforto (ventilação e temperatura), no tempo de espera para o abate, na correta movimentação das gaiolas no momento de descarregá-las, na forma adequada de pegar a aves de dentro da gaiola e pendurá-las na nórea, em apoiar seu peito em parapeito desde a pendura até o insensibilizador para que as aves se sintam amparadas, utilizar luz azul ou negra e produzir o menor ruído possível para que as aves não fiquem agitadas, na insensibilização evitando o pré-choque e que este tenha intensidade correta para que no momento da sangria as aves estejam atordoadas e não sintam dor ao serem sangradas.

### **2.3 Processos do abate de aves**

Todos os processos para o abate das aves estão compreendidos no Regulamento Técnico da Inspeção Tecnológica e Sanitária de Carnes de Aves – Portaria nº 210, de 10 de novembro de 1998 e pelo Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal – RIISPOA.

O fluxo no processo é de grande importância para que não ocorra a contaminação cruzada em carcaças e seus derivados. Os regulamentos visam à inocuidade dos alimentos produzidos, preservando sempre a saúde do consumidor (Figura 2).



**Figura 2 .** Etapas do processo simplificado de abate de aves.



### **2.3.1 Recepção das aves**

Área em que as aves chegam dos aviários e aguardam para serem abatidas. Geralmente são galpões fechados nas laterais e abertos na frente e no fundo para entrada e saída dos caminhões. Devem possuir ventiladores e pulverizadores de água, para que em dias quentes amenize o calor das aves (BRASIL, 1998).

### **2.3.2 Área de pendura das aves em linha de abate**

Do galpão de espera, os caminhões são direcionados para a área de descarregamento das gaiolas que acomodam as aves. Com o uso de guinchos (correntes que arrastam as pilhas de gaiolas) as gaiolas são colocadas em esteiras que as conduzirão para área de pendura. No momento de movimentação das gaiolas com as aves, devem ser evitados movimentos bruscos. As aves devem ser retiradas das gaiolas e penduradas pelos pés em ganchos de inox que correm em trilhos aéreos (nórea). Conforme determinado no RIISPOA (BRASIL, 1950), é recomendável que a pendura seja realizada em ambiente calmo com luz azul e temperatura de conforto, estes procedimentos evitam o estresse das aves, fazendo com que não se debatam e se machuquem.

As gaiolas e caminhões vazios devem ser direcionados para lavação e sanitização, antes de voltarem para as fazendas de criação de frangos.

### **2.3.3 Insensibilização**

Todo animal antes do abate deve passar pela insensibilização, que pode ser por gás (processo pouco usual devido ao alto custo) e por eletronarcese (BRASIL, 1950; BRASIL,1998). A insensibilização por eletronarcese ocorre pela imersão da cabeça da ave (até região do peito) em cuba contendo água com corrente elétrica. É importante que a cuba e o nível de água contido na cuba estejam ajustados conforme o peso das aves, evitando assim, que ocorra pré-insensibilização (vários choques). Atualmente existem diferenças no processo aplicado para insensibilização das aves de acordo com o mercado atendido. As unidades produtoras que exportam para países participantes do bloco da União Européia devem atender parâmetros específicos, definidos em legislação própria (CE, 2009). Os demais mercados aos

quais o governo brasileiro possui acordo econômico para exportação não possuem atualmente legislação específica quanto aos parâmetros de insensibilização.

#### **2.3.4 Sangria**

O processo de sangria do animal geralmente é realizado por disco sangrador automático, exceto para as indústrias que realizam o abate halal.

Após o corte dos três principais vasos do pescoço do animal, é necessário que ocorra o repasse manual das aves que por ventura não tenham sido sangradas pelo disco automático ou faca. Este procedimento evita que as aves adentrem vivas na área de escaldagem.

Por nória, as aves percorrem o túnel de sangria por no mínimo 3 minutos (BRASIL, 1998). Este tempo é necessário para que todo o sangue das aves tenha saído da carcaça. Este processo, ajuda na redução de hematomas na carne, principalmente nas pontas das asas e sendo também exigência dos consumidores mulçumanos.

#### **2.3.5 Escaldagem**

Realizada por jatos ou imersão em tanques com água com temperatura mínima de 56°C por aproximadamente 2 minutos (BRASIL, 1998). Esta temperatura é utilizada para a dilatação dos poros das aves e possível retirada das penas. Temperaturas e tempos superiores podem provocar o cozimento da carcaça.

A abertura dos poros também pode servir como porta de entrada para diversos microrganismos, os quais podem contaminar as demais etapas do processo de abate das aves. Obrigatoriamente é realizada renovação da água dos tanques e em alguns casos, faz-se o uso de coadjuvantes tecnológicos (sanitizantes) na água.

#### **2.3.6 Depenagem**

É o processo de retirada das penas por equipamento com vários discos giratórios, contendo dedos de borracha que se ajustam ao corpo das aves. O equipamento deve ser regulado em acordo com o peso médio do lote de aves para que a depenagem seja eficiente.

### **2.3.7 Retirada dos pés cabeças e toilette**

Na saída das depenadeiras, os ganchos que conduzem as carcaças passam pelo ponto de inspeção sanitária (BRASIL, 1998) e seguem para o cortador de pés e arrancador e ou cortador de cabeças. Os pés são cortados por discos de cortes. Após o corte, os pés passam por escaldadores para retirada da queratina. Na sequência, seguem para área de pré-resfriamento de pés. As cabeças podem ser retiradas por disco de corte ou gancho em formato de forquilha que prendem a cabeça e com o movimento da nórea a cabeça é arrancada. Algumas indústrias fazem o descarte das cabeças e outras, as direcionam para área de pré-resfriamento para posteriormente serem introduzidas nas carcaças juntos aos pés e miúdos (coração, fígado e moela).

Na sequência, as aves são desenganchadas sobre mesa de inox e penduradas em outra nórea. Isto se faz necessário, devido a passagem das carcaças das áreas de alto risco para as áreas de médio risco.

Após pendura, as aves devem passar pelo toilette (chuveiro com água sobre pressão direcionada em pontos estratégico da carcaça). Este procedimento ajuda na remoção de sujidades, antes das carcaças adentrarem na seção de evisceração (BRASIL, 1998).

### **2.3.8 Evisceração**

O processo pode ser manual ou automático (BRASIL, 1998). No processo automático, as carcaças passam primeiramente pela extratora de cloaca, que realiza o corte, extração e exposição da cloaca da carcaça. Em seguida é feito por um conjunto de instrumentos (navalha e pinça) o corte do abdômen e a retirada das vísceras. A pinça prende a víscera e a conduz para nórea paralela à nórea das carcaças. Em algumas indústrias as vísceras são depositadas em pequenas bandejas plásticas que correm paralelas as carcaças. As vísceras e as carcaças devem obrigatoriamente seguir paralelas para que sejam examinadas pelo serviço de inspeção federal (BRASIL, 1998). Isto se faz necessário para que se possa saber pelo exame das vísceras, se a carcaça esta apta para consumo ou se há necessidade do descarte devido alguma anomalia na víscera ou na carcaça.

Após os exames, acontece a separação das vísceras comestíveis (coração, moela e fígado) das não comestíveis. As vísceras comestíveis são separadas e direcionadas para o sistema de pré-resfriamento de miúdos e as vísceras não comestíveis são descartadas em tubulações com água corrente e ou vácuo até a fábrica de farinhas e óleos ou local específico.

Na sequência as carcaças passam pela máquina de extração de traquéia, que são pistões rotativos em forma de parafuso que adentram pela região da cloaca da carcaça saindo na região do pescoço da ave em movimentos giratórios fixando e retirando a traquéia.

A retirada dos pulmões é realizada por pistolas de compressão de ar que são inseridas dentro da carcaça para sucção dos pulmões.

Após estes processos as carcaças são obrigatoriamente inspecionadas visualmente quanto à presença de contaminações de fezes e bile. Esta inspeção é realizada pela empresa e faz parte do programa de APPCC/HACCP (BRASIL, 2006). Após inspeção as carcaças passam pelo toilette final ou também conhecido como chuveiro final.

### **2.3.9 Toilette Final**

É o momento onde as carcaças recebem jatos de água por bicos estrategicamente direcionados em várias regiões da carcaça antes de sua entrada no sistema de pré-resfriamento (BRASIL, 1998). A lavagem das carcaças com jatos de água ajudam na redução da contaminação das águas do sistema de pré-resfriamento.

### **2.3.10 Pré-resfriamento por imersão em água**

Atualmente são conhecidos e aprovados três tipos de sistemas: (1) por aspersão de água gelada, (2) resfriamento por ar (câmaras frigoríficas) e (3) imersão em água por resfriadores contínuos, tipo rosca sem fim, o qual é o mais utilizado pelas indústrias (BRASIL, 1998).

Este último sistema é composto por tanques de aço inoxidável, que movimentam as carcaças por uma rosca tipo sem fim / helicóides. Os tanques devem ser dotados de dispositivos de medição constante de temperatura e em

alguns casos sistemas de injeção de ar filtrado (borbulho), para melhor movimentação das águas e carcaças.

O sistema é composto por no mínimo dois estágios ou tanques, porém há empresas que fazem uso de mais que dois estágios. O primeiro estágio tem a função de remover o sangue e resíduos provenientes da etapa de evisceração, iniciar o resfriamento das carcaças e repor as perdas de água sofridas pelas aves durante a etapa de escaldagem (SCHADE et al., 1990). Nos demais estágios, acontecem à remoção de resíduos e a redução da temperatura das carcaças (BRASIL, 1998).

A capacidade de cada tanque esta relacionada com o volume de cabeças a serem abatidas. A velocidade que as roscas se movimentam dentro dos tanques, tem relação com a temperatura que as carcaças precisam atingir na saída do sistema e ao percentual de absorção de água que as carcaças podem absorver (BRASIL, 2005; BRASIL, 2006).

Somente para o primeiro estágio, é determinado o tempo máximo de permanência das carcaças em trinta minutos (BRASIL, 1998). Existem várias determinações para o funcionamento do sistema, tais como, a renovação de água ou água gelada dos resfriadores contínuos, que durante os trabalhos, deverá ser constante e em sentido contrário à movimentação das carcaças (contracorrente).

O sistema de pré-resfriamento com renovação de água com contracorrente, apresenta menor número de microrganismos quando comparado com o sistema de renovação de água de fluxo paralela (KAROLYI et al., 2003 e SMITH et al., 2005).

A proporção mínima de renovação de água é de 1,5 litros por carcaça no primeiro estágio. Para os demais estágios é de no mínimo 1 litro por carcaça, para carcaças com peso não superior a dois quilos e meio. Para carcaças com peso entre dois quilos e meio a cinco quilos, a renovação deve ser de no mínimo 1,5 litros por carcaça. Para carcaças com peso superior a cinco quilos, a renovação deve ser de no mínimo 2 litros de água por carcaça (BRASIL, 1998).

As águas utilizadas para abastecimento e ou renovação dos tanques devem atender os padrões de potabilidade, inclusive a adição de hipoclorito de sódio. É obrigatório a manutenção de, no mínimo, 0,2 mg/L e máximo, 2,0 mg/L de cloro residual livre em toda a extensão do sistema de distribuição (BRASIL, 2012).

Para o mercado brasileiro, a água de renovação do sistema de pré-resfriamento por imersão pode ser hiperclorada, permitindo-se no máximo 5 ppm de cloro livre (BRASIL, 1998). Para as indústrias que exportam seus produtos para o mercado comum europeu, não é permitido o uso qualquer coadjuvante tecnológico (sanitizante) nas águas de renovação do sistema de pré-resfriamento.

A temperatura da água do sistema de pré-resfriamento, não deve ser superior a 16°C no primeiro estágio e 4°C nos demais estágios (BRASIL, 1998). As maiorias das indústrias, para atingir a temperatura exigida, adicionam gelo na água dos tanques, o qual deve ser considerado juntamente com a água e água gelada nos cálculos das quantidades definidas para renovação constante de água no sistema. Estes volumes são calculados por hidrômetros ou equipamentos similares (BRASIL, 1998).

A temperatura das carcaças no final do processo de pré-resfriamento deverá ser igual ou inferior a 7°C, tolerando-se a temperatura de até 10°C para as carcaças destinadas ao congelamento imediato (BRASIL, 1998).

Também é exigência contida na Portaria 210 de 1998 (Regulamento Técnico da Inspeção Tecnológica e Higiênico-Sanitária de Carnes de Aves), que cada tanque do sistema de pré-resfriadores contínuos por imersão deve ser completamente esvaziado, limpo e desinfetado, no final de cada período de trabalho (oito horas).

### **2.3.11 Avaliação da eficiência do sistema de pré-resfriamento por imersão.**

Para atendimento as legislações da União Européia (CE, 1992) e do Brasil (BRASIL, 2007), as indústrias devem realizar avaliações quanto à eficiência do sistema de pré-resfriamento por imersão, por análises microbiológicas para aeróbios mesófilos e enterobacteriaceae em carcaças antes e após o sistema de pré-resfriamento.

A avaliação consiste em verificar, se ocorreu à redução de até dois log na população de microrganismos nas carcaças após a passagem pelo sistema, quando comparadas com as carcaças antes de adentrarem no sistema. Quando ocorrem inversões nas contagens das carcaças, as indústrias devem prover ações corretivas em seus processos.

Para execução das análises microbiológicas para aeróbios mesófilos e enterobacteriaceae em carcaças antes e após o sistema, deve-se colher cinco carcaças antes de sua entrada no sistema, cronometrar o tempo que as carcaças levam para chegar à saída do sistema e realizar a colheita das cinco carcaças após sistema. É recomendável que seja realizado um pool entre as cinco carcaças antes e um pool entre as cinco carcaças após sistema e pelos resultados, avaliar se houve a redução de até dois log para aeróbios mesófilos e enterobacteriaceae.

Em avaliações onde não é realizado pool entre as carcaças, pode ocorrer a comparação intencional dos resultados. Também é recomendável que as carcaças coletadas antes do sistema sejam analisadas em até quinze minutos devido à alta proliferação de microrganismos na carcaça fresca. Atualmente, não é determinado em legislação realizar o pool entre as cinco carcaças e qual o momento ou tempo para que sejam realizadas as análises nas carcaças antes do sistema. Desta forma, as indústrias realizam análises em carcaças antes do sistema, na forma congelada, resfriada e fresca com tempo de análise variado. Estes procedimentos geram grandes variações entre os resultados. Desta forma, sugere-se maiores estudos quanto ao tempo de análises das carcaças antes do sistema de pré-resfriamento por imersão.

A população de bactérias na superfície das carcaças varia constantemente e existe uma série de etapas e procedimentos de produção que podem provocar contaminação direta ou cruzada (BARBALHO et al., 2005; THOMAS & McMEEKIN, 1980; PATTERSON, 1971).

### **2.3.12 Gotejamento**

Necessário para o escoamento da água da carcaça, decorrente da operação de pré-resfriamento. Dever ser realizado imediatamente após a saída das carcaças do último estágio do sistema de pré-resfriamento. Ao final desta fase, são exigidos testes para avaliar a absorção de água nas carcaças, a qual não poderá ultrapassar 8% do seu peso (BRASIL, 1998).

### **2.3.13 Classificação**

As carcaças após gotejamento podem ser classificadas como frango inteiro ou frangos para cortes. O frango inteiro é classificado por peso e segue para ser embalado junto ou separado dos miúdos e as carcaças que serão transformadas em cortes, seguem para sala específica. Depois da retirada dos cortes, o que restou da carcaça geralmente é direcionado para fabricação de carne mecanicamente separada (moagem da carcaça após cortes). O ambiente no momento da manipulação tanto para frango inteiro ou cortes, deve possuir temperatura máxima de até 12°C (BRASIL, 1998).

### **2.3.14 Embalagem**

A maioria dos produtos possui embalagem primária e secundária. As carcaças e seus cortes geralmente são embalados primeiramente a vácuo (CO<sub>2</sub>) na presença de atmosfera modificada ou em sacos de polietileno ou em bandejas de isopor envolvida em plástico filme e na sequência, recebem a embalagem final ou secundária (caixa de papelão).

### **2.3.15 Resfriamento e Congelamento**

As indústrias direcionam seus produtos para câmaras de resfriamento (venda de produtos resfriados) ou para o túnel de congelamento (venda de produtos congelados). A média da temperatura praticada em túnel de congelamento rápido é de - 30°C na entrada do túnel e de -20°C na saída e o tempo médio de permanência destes produtos dentro do túnel de congelamento é de 8 a 12 horas.

No final do processo de resfriamento e congelamento, os produtos devem ter temperatura entre - 1°C a 4°C e - 18°C (BRASIL, 1998).

### **2.3.16 Armazenagem**

Os produtos resfriados devem ser armazenados em ambientes com temperaturas entre - 1 a 1°C, o que geralmente permite durabilidade entre 6 a 8 dias. Os produtos congelados, depois de saírem do túnel de congelamento, devem ser armazenados em câmaras com temperaturas entre - 35 a - 40°C, que permite durabilidade entre 8 a 18 meses.



### 2.3.17 Expedição

A expedição dos produtos é realizada em área própria para o carregamento dos produtos. A área deve estar com temperatura ambiente inferior a 10°C e possuir docas de expedição providas de boa vedação, evitando assim, a entrada de pragas (BRASIL, 1998). No momento de expedição, os produtos deverão apresentar na intimidade muscular, temperaturas não superiores a - 12°C para o mercado interno (BRASIL, 1998) e - 18°C para determinados países do mercado externo.

Estes produtos são transportados por caminhões e ou contáines para pontos de vendas, armazéns e portos marítimos para serem destinados aos diversos países importadores.

## 2.4 Processos adicionais no abate de aves

### 2.4.1 Maturação

É fato já cientificamente conhecido que o processo de maturação confere maior maciez à carne de várias espécies animais utilizadas para fins comestíveis (LEHMANN, 1907). Entretanto, os mecanismos que atuam no fenômeno da maturação não foram ainda totalmente elucidados. Várias hipóteses foram postuladas, porém a contribuição efetiva de cada fator não foi ainda definida (PRATES, 2002).

De fato, a maturação da carne é um complexo processo multifatorial, dependente de vários fatores *ante mortem* e *post mortem*, o que pode explicar em parte a dificuldade em esclarecer definitivamente os mecanismos que agem na transformação do músculo em carne maturada (VALIN, 1992).

De acordo com Takahashi (1996), a maturação ocorre na carne devido a processos físicos e químicos, regidos por íons de cálcio. Esses processos não enzimáticos são regulados pelo aumento da concentração de íons de cálcio no retículo sarcoplasmático a 0,1 mM. Teoricamente, a concentração de íons de cálcio enfraquece as estruturas das miofibrilas, desamina os filamentos intermediários e provavelmente o endomesium e o perimesium, tornando assim a carne mais tenra.

Outro fator físico participante do processo de maturação da carne é a pressão osmótica. Conforme o estado de *rigor mortis* se prolonga, a acidificação do músculo

ocorre em paralelo ao aumento da pressão osmótica de 300 a 500 – 600 mOsmol. Wu & Smith (1987) e Ouali (1992) propuseram que essa força era suficiente para enfraquecer as estruturas das miofibrilas e, portanto, mais susceptível a proteólise.

Processos oxidativos também fazem parte da maturação da carne. Muitas proteínas miofibrilares podem ser oxidadas durante a maturação por radicais livres reativos a oxigênio (HAYCOCK, 1995). Proteínas oxidadas podem sofrer fragmentação muito mais facilmente (BLANCHARD & MANTLE, 1996).

A ação das endopeptidases é o fator mais estudado no processo de maturação, seja agindo individualmente ou em conjunto, especialmente a catepsina B, catepsina L, catepsina H, catepsina D,  $\mu$ -calpaína, m-calpaína, 20 S proteasoma, collagenase e demais endopeptidases desconhecidas (PRATES, 2002).

Pode ser empregada também a estimulação elétrica logo após o abate do animal, com efeito semelhante a maturação convencional, entretanto com menor emprego de recursos (OWENS, 1998).

A respeito da microbiologia de carne maturada, sabe-se do comportamento e a presença de *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium* sulfito redutor, *Pseudomonas sp* e *Salmonella spp*, porém após exaustiva pesquisa bibliográfica não foi encontrado trabalho científico sobre o estudo de *Campylobacter sp* em carne maturada, de qualquer espécie (MOREIRA, 2008).

#### **2.4.2 Regenerador de temperatura da água no sistema de pré-resfriamento**

O processo de abate de aves é grande consumidor de água, principalmente na etapa de pré resfriamento, onde as carcaças são imergidas em água gelada e gelo e mantidas até alcançarem temperatura de 4°C (HUEZO, 2007) ou 7°C (BRASIL, 1998).

Na busca pela diminuição do volume de água consumido naquela etapa outras tecnologias foram empregadas, como resfriamento a ar com nebulização de água gelada (ZHUANG, 2013) ou sem (BERRANG, 2008), aumento do tempo de uso da água do sistema (CAVANI, 2010), varias taxas de renovação da água dos tanques (NORTHCUTT, 2006), recirculação e reuso da mesma (NORTHCUTT, 2008)

Nos Estados Unidos o reuso da água do sistema de pré resfriamento das carcaças de aves é estimulado, porém medidas preventivas devem ser aplicadas para diminuir a carga orgânica da água que retorna ao tanque, e assim impedir a contaminação cruzada por patógenos (USDA-FSIS, 2008). A legislação não estipula padrão para a redução da carga microbiológica, mas o sistema deve ser levado em consideração quando é feito o estudo da análise de perigos do processo. Para o órgão sanitário americano, a recirculação da água dos tanques é tratada como água de reuso (USDA-FSIS, 2008).

No Brasil o reuso da água do sistema de pré resfriamento não é aceito, assim como a recirculação (BRASIL, 1998). Os casos relatados de reuso da água dos resfriadores demonstram o uso para fins menos nobres (limpeza de pátio, galpões, irrigação de jardins) e não diretamente no processo (MATSUMURA, 2007). O reaproveitamento seria aceito desde que a água empregada atendesse aos parâmetros oficiais estabelecidos (BRASIL, 1950).

## **2.5 Risco para a saúde humana por *Campylobacter sp***

*Campylobacter sp* é a maior causa mundial de diarreia por bactéria de origem alimentar. De acordo com o Centro de Controle e Prevenção de Doenças dos Estados Unidos (2010) mais de 2,4 milhões de pessoas são afetadas anualmente. Estima-se que em 2011, os casos de campylobacteriose foi responsável por 9% de todas as doenças de origem alimentar, 15% das internações e 5% das mortes. O custo associado a doença nos Estados Unidos foi de \$1,56 milhões (SHARFF, 2011).

Na Europa, estima-se que 9 milhões de pessoas são acometidas por campylobacteriose anualmente, representando um custo de 2,4 bilhões de Euros. Dos casos relatados no mesmo período na Europa, estima-se que 20% a 30% dos casos estavam relacionados ao consumo de carne de frango (EFSA, 2011).

Os casos geralmente relatam desde um quadro de gastroenterite leve a doenças secundárias mais severas, como as síndromes de Guillain-Barré e Miller Fisher (NACHAMKIN et al., 1998).

Estima-se que de 500 a 800 UFC g<sup>-1</sup> são necessárias para causar a doença, de acordo com estudos envolvendo casos humanos em adultos (ROBINSON, 1981; BLACK et al., 1988).

As espécies do gênero *Campylobacter* são caracterizadas como Gram-negativas, não formadoras de esporos, com formato espiral e dotadas de flagelo de locomoção. Não fermentam carboidratos e requerem microaerofilia para se desenvolverem (5% O<sub>2</sub>, 10% CO<sub>2</sub>, and 85% N<sub>2</sub>). *Campylobacter* spp são susceptíveis ao estresse, como ressecamento, baixo pH, calor, congelamento e longo tempo de estocagem, entretanto, podem persistir em carne de frango. Os meios de cultura típicos possuem, além dos nutrientes, antibióticos para inibir bactérias competidoras, inibidores de bolores e leveduras para reduzir efeito de contaminação ambiental e melhorar a recuperação de *Campylobacter sp* de uma amostra. As placas devem ser encubadas em jarras de anaerobiose, com reatores geradores de microaerofilia. O meio de cultura tradicionalmente utilizado é o Bolton e o meio seletivo são o Campy-Cefex e o meio modificado CCDA. O enriquecimento geralmente leva de 24 a 48 horas a 42 °C, seguido por plaqueamento em meio seletivo, por mais 48 horas. Uma vez que a detecção pode levar até 96 horas, muitos métodos foram desenvolvidos para rápida detecção de bactérias patogênicas, incluindo PCR (RODRÍGUEZ-LÁZARO, 2005), ELISA (BROOKS, 2004), biossensores piezelétricos (WONG, 2002) e amperométricos (SUSMEL, 2003). Outra dificuldade para a detecção de *Campylobacter sp* é a possibilidade do microrganismo estar na forma viável mas não cultivável. Essas mudanças ocorrem quando o microrganismo é exposto a condições desfavoráveis à multiplicação e sobrevivência da espécie. A morfologia da célula, especificamente, muda do formato espiralado para arredondado. No formato de cocos, a bactéria não pode ser cultivada no meio seletivo tradicional. Alternativamente, métodos moleculares podem ser empregados.

## **2.6 Parâmetros de Desempenho de processo para *Campylobacter sp* em abatedouros de aves**

Até o ano de 2011, não existiam parâmetros para medir o desempenho dos processos de abate de aves, embora a carne de frango fosse reconhecida como o

maior meio de transmissão de *Campylobacter sp.* A partir daquele ano, os Estados Unidos passou a medir as unidades produtoras de carne de fango por uma metodologia estabelecida cientificamente. Por muitos motivos os parâmetros de desempenho para *Campylobacter sp.* demoraram a ser estabelecidos, como a falta de informação sobre a prevalência do patógeno nos abatedouros da federação, consenso sobre como classificar os resultados iniciais de prevalência e a necessidade de adotar e implementar metodologia de monitoramento. O órgão oficial para comidas e bebidas nos Estados Unidos, o USDA, realizou durante os anos de 2007 e 2008 amostragem e análise do material de todo o país para *Campylobacter sp.* A partir daqueles resultados estimou-se a prevalência de *Campylobacter sp.* em carne de frango e validou-se a metodologia para amostragem e análise.

Os resultados de base indicaram que a prevalência em carcaças de frango eviscerada pos resfriamento foi de 40,23% e 1,46% para carcaças de perus. Adicionalmente, o melhor resultado da serie histórica dos casos da doença até 2010 foi tomado como parâmetro de excelência. Até aquele ano, o melhor resultado foi de 6,8 casos a cada 100.000 habitantes (Food Safety Net Data, 2011).

Dessa maneira, adotou-se como parâmetro de medição de eficiência para a produção de carne frago um conjunto de 51 amostras coletadas após o pré-resfriamento, analisadas pela enxaguadura em água peptonada pelo método tradicional ou por PCR tempo real, sem pré-enriquecimento e com pré-enriquecimento (USDA-FSIS, 2010). Do total de 51 amostras analisadas, não mais do que 27 podiam ser positivas, sendo que entre as positivas até oito podiam ser resultados a partir das unidades amostrais pré-enriquecidas.

Frangos de corte representam um reservatório natural para *Campylobacter sp.*, encontrado no ambiente gastrointestinal das aves e considerado um microrganismo comensal. Adicionalmente, o patógeno pode ser detectado em todos os níveis da cadeia de produção da avicultura industrial: matrizes para incubatório, granjas de corte, unidade de abate e finalmente consumo. A transmissão pode ser horizontal, pela água, insetos, fezes de animais e aves silvestres (STERN et al., 2002) ou vertical das matrizes para os pintos de 1 dia (HIETT et al., 2002 e COX et al., 2005). *Campylobacter spp* já foi isolado do trato reprodutivo (COX et al., 2005), em amostras de caixas de transporte de pintos de 1 dia, casca de ovos e penas

(BYRD et al., 2007; BOYLE, 1984; COX et al., 2002; STERN et al., 2002). Uma vez que o microrganismo é introduzido em um lote, se dispersa rapidamente pelo aviário. Estima-se que 6 dias após a introdução, 95% do lote se torna contaminado (VAN GERWE et al., 2005). A colonização por *Campylobacter sp* em frangos de corte não ocorre até que as aves tenham 3 semanas de idade. A hipótese é que a demora de *Campylobacter sp* em se instalar no organismos dos jovens frangos de corte seja explicada pela presença de anticorpos maternos, entretanto, isso ainda não foi provado.

Diferente de *Salmonella sp*, não há vacina comercial para controle de *Campylobacter sp* no campo, tanto para a criação de matrizes ou frangos de corte. Dessa maneira, fica evidente que as questões de biossegurança e boas práticas agropecuárias são críticas no controle do patógeno. Em recente estudo, com 10.317 granjas, estritos controles de biossegurança, cuidados com as camas dos aviários e uso de ácidos orgânicos na água de dessedentação foram identificados como algumas das boas praticas para controle de *Campylobacter sp* no campo (MCKEE, 2012).

O cuidado com a cama do aviário pode ser um fator chave no controle de *Campylobacter sp*, uma vez que o microrganismo é sensível a dessecação. Em experimento anterior, o numero de amostras com detecção de *Campylobacter sp* recuperadas de cama seca de aviário foi menor quando as amostras foram coletadas de cama úmida ou em dias chuvosos. *Campylobacter sp* não é muito resiliente e não é um bom competidor quando na presença de outros microrganismos, embora estudos tenham demonstrado que ate 87,5% dos lotes podem chegar positivos para *Campylobacter sp* ao abate (STERN et al., 2001). Outros estudos demonstram que de 4 a 5 logs UFC/mL foram recuperadas de amostras coletadas de carcaças logo no inicio do processo (BERRANG e DICKENS, 2000).

O processo de abate é altamente automatizado e em varias etapas pode acontecer contaminação cruzada das carcaças. Após a depenagem, as contagens nas populações de *Campylobacter sp* podem aumentar 1 a 2 logs (BERRANG e DICKENS, 2000). Outros estudos demonstram que o número de células de *Campylobacter sp* recuperadas das amostras decaem ao longo do processo, porem

o microrganismos ainda pode ser detectado após o pre-resfriamento ou congelamento (HINTON et al., 2004).

### **3 OBJETIVO**

#### **3.1 Objetivos gerais**

- Identificar se *Campylobacter sp* é um perigo biológico a ser considerado nos Planos APPCCs para produção de peito de frango maturado.

#### **3.2 Objetivos específicos**

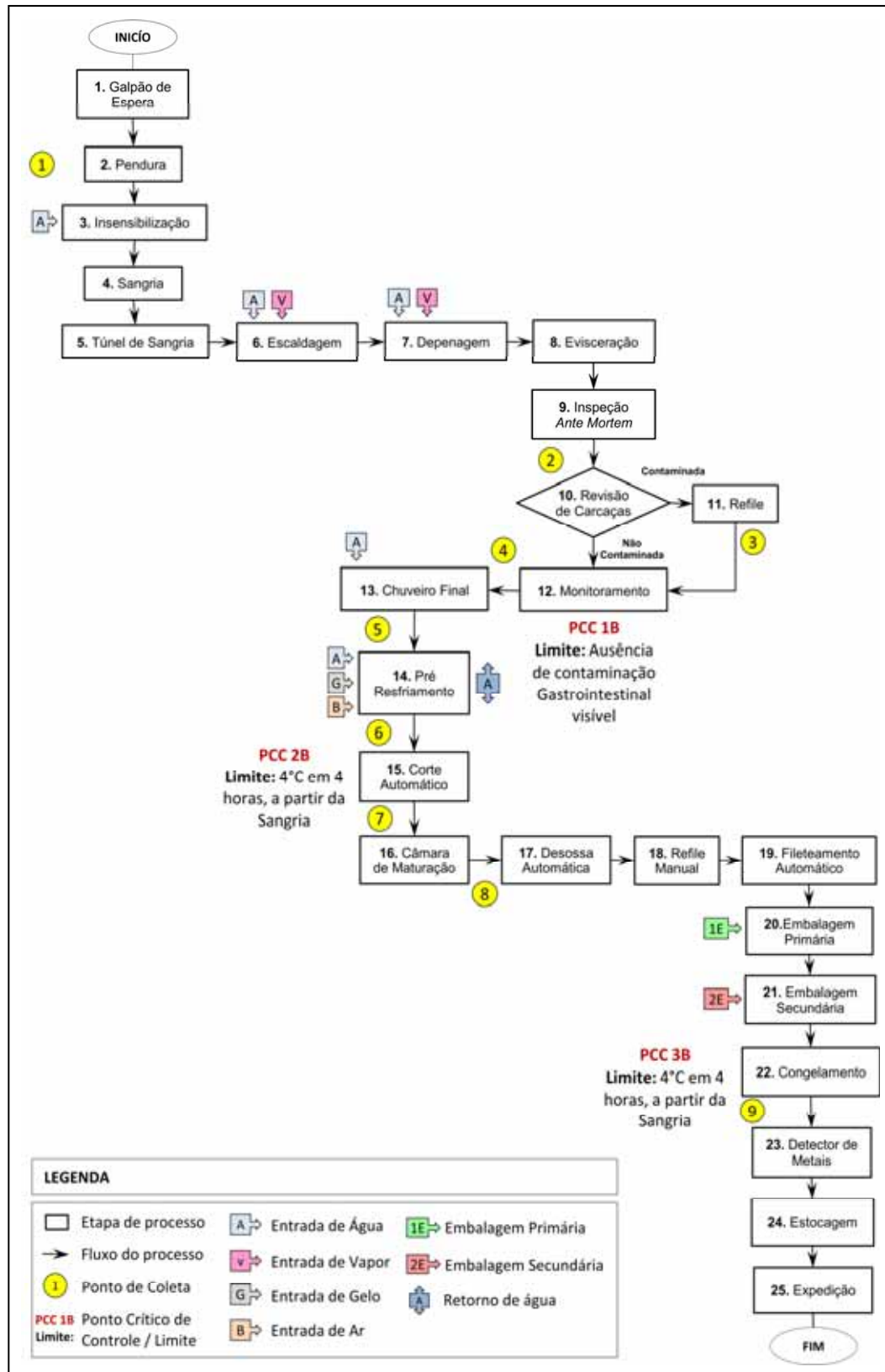
- Mapear o processo de abate de aves e produção de peito de frango maturado para identificar o perfil microbiológico ao longo do processo, avaliando os parâmetros coliformes totais, *E. coli*, *Campylobacter coli*, *Campylobacter lari* e *Campylobacter jejuni*.
- Determinar se *Campylobacter sp* pode ser recuperado da superfície de equipamentos usados na produção de carne de frango maturada.

### **4 MATERIAL E MÉTODOS**

#### **4.1 Delineamento experimental**

As amostras foram coletadas em um abatedouro de aves localizado no Estado de São Paulo, com uma produção média de 240.000 aves por dia, em dois turnos de trabalho de 8 horas cada, cinco dias na semana. Cada lote de aves representa um integrado diferente, que trabalha em esquema de integração, dessa maneira todos os pintos eram provenientes da mesma matriz e do mesmo incubatório. A ração fornecida também era proveniente da mesma fábrica.

Os pontos de coleta no processo foram determinados de forma a identificar diferenças na detecção e nas populações dos microrganismos alvos antes e depois do processo de maturação e a contribuição de etapas anteriores na continuidade dos mesmos no processo de produção de peito de frango maturado congelado (Figura 3).



**Figura 3 .** Fluxograma do processo de abate de frango para produção de peito de frango maturado e identificação dos pontos de coleta.



Diariamente, um lote de aves foi selecionado aleatoriamente para ser analisado para *Campylobacter coli*, *Campylobacter lari* e *Campylobacter jejuni*, antes do abate. Para a avaliação de cada lote, 250 aves foram amostradas por suabe de cloaca, reunidos em uma única unidade amostral representante do referido lote. As hastes estéreis eram previamente umedecidas em solução salina 0,9%, gentilmente inseridas na cloaca das aves e giradas para a coleta do fluido da mucosa da ampola retal. Os suabes referentes ao lote foram reunidos em uma bolsa estéril com solução salina 0,9%, que foi mantida em refrigeração entre 0° a 4°C, até serem transportado em gelo para o laboratório.

Na sequência, carcaças do mesmo lote amostrado antes do abate foram coletadas para análise quantitativa das populações de *Campylobacter coli*, *Campylobacter lari* e *Campylobacter jejuni*, além de contagem de coliformes totais e *E. coli*. Cinco carcaças foram assepticamente coletadas em cada uma das seguintes etapas: antes do PCC 1B (Ponto 2), após o refile das partes contaminadas (Ponto 3), após o PCC 1B (Ponto 4), antes do pré-resfriamento (Ponto 5) e após o pré-resfriamento (Ponto 6).

Após o pré-resfriamento, as carcaças foram cortadas automaticamente, para separar os membros superiores (asas), membros inferiores (pernas) e região dorsal e peito. As peças de peito com osso e porção dorsal foram destinadas para o processo de maturação. Cinco peças de peito com osso e porção dorsal do mesmo lote amostrado no início do processo foram assepticamente coletadas antes da maturação (Ponto 7) e 24 horas após início da maturação (Ponto 8). As peças de peito com osso e porção dorsal foram desossadas automaticamente, refileadas para terem as aparas de gordura e pele retiradas e filetiadas automaticamente em porções de 100g. O produto final foi embalado em saco de polietileno e destinado para congelamento. Após o congelamento (Ponto 9), cinco pacotes do produto final proveniente do mesmo lote amostrado no início do processo foram coletados para análise dos microrganismos alvo do estudo.

As amostras foram embaladas em sacos plásticos estéreis, refrigeradas e mantidas em gelo até serem transportadas ao laboratório para análise de *Campylobacter coli*, *Campylobacter lari* e *Campylobacter jejuni*.

Além das amostras de carcaças e produto, dois equipamentos foram avaliados por suabe de superfície para identificar os microrganismos alvo do estudo, devido ao seu contato direto com o processo de maturação: a tubulação que distribuía as peças de peito de frango com osso em caixas plásticas brancas que eram alocadas dentro da câmara frigorífica de maturação; e os carrinhos que seguravam as peças de peito de frango com osso para serem desossadas automaticamente. Gazes esterilizadas umedecidas em solução salina 0,9% foram esfregadas em cinco pontos da superfície dos equipamentos, de 10 cm<sup>2</sup> cada, totalizando uma área de 50 cm<sup>2</sup>, em cada um dos dois equipamentos. As amostras foram colocadas em bolsas estéreis e mantidas em gelo até serem transportadas ao laboratório para análise de *Campylobacter coli*, *Campylobacter lari* e *Campylobacter jejuni*.

O experimento durou seis dias, até que um total de 1500 aves fossem amostradas e 30 amostras fossem coletadas em cada etapa (n=240). Todas as análises se iniciaram em no máximo 4 horas após a colheita das amostras.

#### **4.2 Análises microbiológicas**

No laboratório, álcool 70% foi borrifado sobre as bolsas plásticas com as amostras antes de serem abertas. De cada carcaça amostrada nos Pontos de Coleta 2 a 6, 25 gramas ( $\pm 2$  g) de pele e músculo foram assepticamente removidas da região da cloaca, asas e pescoço. Das peças de peito de frango com porção dorsal coletadas nos Pontos 7 e 8, 25 gramas ( $\pm 2$  g) de pele e músculo foram assepticamente retiradas da região do pescoço, da região da junção da asa e peito e da região superior do músculo peitoral. Das amostras de produto final coletadas no Ponto 9, também 25 gramas ( $\pm 2$  g) foram retiradas de cada pacote para as análises microbiológicas (Brasil, 2003).

As unidades amostrais foram transferidas para uma bolsa estéril junto com 225 mL de caldo Bolton estéril suplementado com antibióticos (Merck ®). As amostras foram homogenizadas em "Stomacher" durante 2 minutos a 260 rpm e incubada a 42°C por 24 horas em condições de microaerofilia, usando o gerador de microaerofilia *Campylobacter* Gas Generating Kit BR0056 (DIFCO ®).

Após o pré-enriquecimento, o kit comercial *Bax System Dupont* para análise de *Campylobacter coli*, *Campylobacter lari* e *Campylobacter jejuni* por Reação em Cadeia de Polimerase Multiplex em tempo real foi preparado. O reagente protease foi misturado ao tampão lise em um *ependorf*. Em seguida 200  $\mu\text{L}$  da solução final foram transferidos para outro *ependorf*, onde foram adicionados 5  $\mu\text{L}$  do caldo pré enriquecido de cada amostra. Os tubos foram tampados e vortexados para iniciar a etapa de extração do DNA do material amostrado. Os mesmos foram carregados em um bloco de aquecimento e mantidos por 20 minutos a 37°C e em seguida a 95°C por 10 minutos. Os tubos foram resfriados por 10 minutos em bloco de refrigeração (WILLIANS, 2013).

Finalizada a etapa de extração do DNA, 30  $\mu\text{L}$  foram transferidos para os poços na placa de reação PCR, junto com o tablete padrão que continha os *primers*, a polimerase e DNTP. Em cada placa, em um dos poços foi adicionada água destilada estéril para o branco e uma amostra controle positiva (Dupont Qualicon, 2005). Os poços foram selados e carregados no termociclador. Ao final da reação, o software fez a leitura dos resultados e gerou os relatórios (BAX System ®). Os resultados foram expressos em UFC  $\text{g}^{-1}$ .

Os suabes de cloaca e superfície de equipamentos também foram analisados pela técnica da Reação em Cadeia de Polimerase Multiplex em Tempo Real, entretanto, as amostras foram homogeneizadas por 1 minuto e transferidas para 9 mL de caldo Bolton, para a etapa de pré-enriquecimento e análise, conforme descrito anteriormente.

As contagem de coliformes totais e *E. coli* foram realizadas por contagem em placa Petrifilm 3M™. As unidades analíticas de 25 gramas das amostras foram adicionadas em 225 mL de água peptonada esterilizada 1% (Merck ®) e homogeneizadas em *stomacher* (BRASIL, 2003). A solução foi levada para ser incubada a 36°C ( $\pm 1^\circ\text{C}$ ) por 24 horas. Ao final da etapa de pre-enriquecimento, 1 mL foi transferido e diluído em solução salina 0,1%. As amostras de carcaças coletadas entre os Pontos 2 e 5 foram diluídas até  $10^{-4}$ . As demais foram diluídas a  $10^{-2}$ .

As placas eram constituídas de um filme impregnado pelo meio de cultura e um filme protetor. O filme que cobria as placas foi levantado e 1 mL da solução foi dispensado no centro do filme inferior. Vagarosamente o filme superior foi deitado

sobre a amostra, evitando o aprisionamento de bolhas de ar. Usando um disco plástico, posicionado sobre o filme superior com uma leve pressão no centro, a amostra foi espalhada sobre a placa. A placa foi deixada imóvel por aproximadamente 1 minuto até os nutrientes do agar nutriente se solidificassem, para que fosse incubada por 24 horas ( $\pm 2$  horas) por  $35^{\circ}\text{C}$  ( $\pm 1^{\circ}\text{C}$ ). Ao final do período de incubação, as colônias típicas de *E. coli* e coliformes totais foram contadas. As colônias azuis ou vermelho-azuladas associadas a bolhas de gás foram consideradas como *E. coli*. As colônias vermelhas foram somadas às demais para a contagem de coliformes totais. (FDA, 1998). Os resultados foram expressos em UFC  $\text{g}^{-1}$ .

#### 4.3 Tratamento estatístico

Os resultados expressos em UFC  $\text{g}^{-1}$  foram transformados em  $\text{Log}_{10}$ , para serem tratados estatisticamente. Os resultados das contagens das populações de *Campylobacter coli*, *Campylobacter lari*, *Campylobacter jejuni*, coliformes totais e *E. coli* foram agrupadas para serem comparados usando o teste de Scott-Knott (1974). O nível de significância utilizado na decisão dos testes estatísticos foi de 5%. Para a análise de variância foi utilizado o software estatístico SISVAR versão 5.3.

Os resultados de detecção de *Campylobacter coli*, *Campylobacter lari*, *Campylobacter jejuni*, coliformes totais e *E. coli* foram avaliados pelo teste de dispersão de frequência - não paramétrico – Teste Exato de Fisher. O nível de significância utilizado na decisão dos testes estatísticos foi de 5%. O software estatístico utilizado foi o BioEstat 5.0.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos três sorovares pesquisados, que caracterizariam perigo para a produção de peito de frango maturado, apenas *Campylobacter jejuni* e *Campylobacter coli* foram detectados nesse estudo. Embora *Campylobacter lari* não tenha sido isolado em nenhuma das coletas dos lotes amostrados, outros autores já detectaram esse microrganismo a partir de suabe de cloaca de frangos de corte, como já descrito por RASSCHAERT, 2006. Entretanto, para WAGENAAR et al., 2006, *Campylobacter lari* é mais recorrente em amostras coletadas de frutos do mar.

Nos suabes de cloaca coletados dos seis diferentes lotes avaliados, em apenas uma das unidades amostrais formada por pool composto de 250 hastes foi identificado *Campylobacter jejuni*, o que representou uma incidência de 16,67%. Entretanto, *Campylobacter coli* foi a espécie mais encontrada nas amostras analisadas das diversas etapas do processo de produção de peito de frango maturado, tanto carcaça quanto produto, com uma incidência de 11,25% contra 1,66% para *Campylobacter jejuni* (Tabela 2).

**Tabela 2-** Incidência de isolamento e valores médios das populações de *Campylobacter coli* e *Campylobacter jejuni* em Carcaças de Frango evisceradas e Peito de Frango Maturado congelado.

	Parâmetros Microbiológicos <sup>(1)</sup>				
	n	<i>Campylobacter coli</i>		<i>Campylobacter jejuni</i>	
		% isolados	Média (UFC g <sup>-1</sup> )	% isolados	Média (UFC g <sup>-1</sup> )
<b>Antes do PCC 1B</b>	30	13,33% (a)	4,4 x 10 <sup>3</sup> (c)	10,00% (a)	1,6x10 <sup>3</sup> (c)
<b>Após PCC 1B Refile</b>	30	13,33% (a)	4,4 x 10 <sup>3</sup> (c)	0% (b)	<1,0 x 10 <sup>1</sup> (d)
<b>Após PCC 1B</b>	30	3,33% (b)	6,3 x 10 <sup>7</sup> (d)	0% (b)	<1,0 x 10 <sup>1</sup> (d)
<b>Antes do Pré-resfriamento</b>	30	6,67% (a)	2,2 x 10 <sup>3</sup> (c)	0% (a)	<1,0 x 10 <sup>1</sup> (c)
<b>Após Pré-resfriamento</b>	30	10,00% (a)	1,7 x 10 <sup>5</sup> (d)	0% (a)	<1,0 x 10 <sup>1</sup> (c)
<b>Antes da Maturação</b>	30	16,67% (a)	5,5 x 10 <sup>3</sup> (c)	3,33% (a)	2,6 x 10 <sup>4</sup> (c)
<b>Após Maturação</b>	30	16,67% (a)	4,3 x 10 <sup>4</sup> (d)	0% (b)	<1,0 x 10 <sup>1</sup> (d)
<b>Após Congelamento</b>	30	10,00% (a)	6,6 x 10 <sup>3</sup> (c)	0% (b)	<1,0 x 10 <sup>1</sup> (d)

<sup>(1)</sup> Valores indicados pelas letras a e b referem-se aos dados tratados pelo Teste Exato de Fischer. Os indicados pelas letras c e d referem-se aos dados tratados pelo Teste de Scott-Knott. Os valores identificados pela mesma letra não apresentam diferença significativa (p> 0,05).

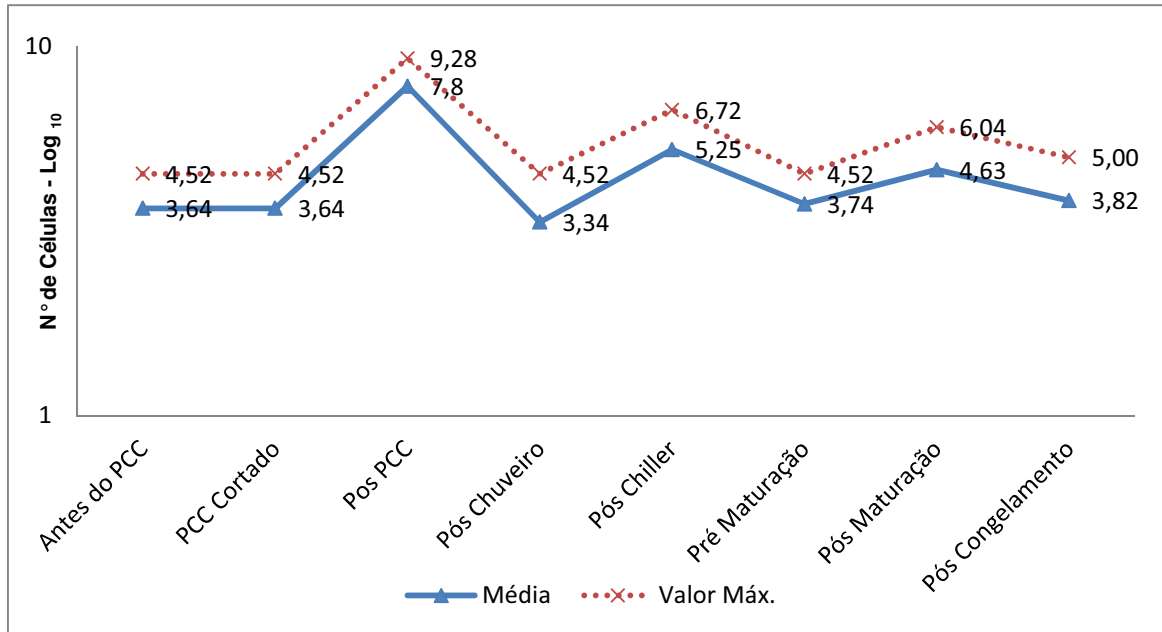
Predominância de *Campylobacter coli* em produtos de carne de aves e carcaças coletadas em varias etapas do processo de abate também foi relatada por MACHADO et al, 1994, quando estudou o assunto em abatedouros avícolas no estado de Santa Catarina, Brasil.

A presença de *Campylobacter coli* em lotes onde não foi identificada essa espécie por suabe de cloaca das aves evidencia que embora os lotes não fossem previamente colonizados por *Campylobacter coli*, as carcaças tornaram-se contaminadas pela microbiota já residente no processo. Uma vez que o *status* dos aviários quanto a colonização de *Campylobacter sp* não era conhecido com antecedência, a programação do abate não pode ser feita de forma a segregar os lotes positivos dos negativos. Dessa maneira, lotes positivos podiam ser sucedidos por lotes negativos. As carcaças podem sofrer contaminação cruzada devido a uma série de etapas e procedimentos de produção que podem provocar contaminação direta ou cruzada (BARBALHO et al., 2005; THOMAS & McMEEKIN, 1980; PATTERSON, 1971). De acordo com LINDMARK, 2006, a transferência de diferentes genótipos de *Campylobacter sp* pode ocorrer entre os lotes, pelo compartilhamento de utensílios contaminados (gaiolas, caminhão, esteiras transportadoras) ou dos próprios equipamentos de produção, mesmo por lotes positivos abatidos em dias anteriores.

*Campylobacter jejuni* foi isolado em amostras de carcaças evisceradas antes do PCC 1B para contaminação gastrointestinal visível ( $1,6 \times 10^3$  UFC g<sup>-1</sup>) e em Peito de Frango com osso antes do processo de maturação ( $2,6 \times 10^4$  UFC g<sup>-1</sup>), onde foi estabelecido também um Ponto Crítico de Controle para multiplicação de microrganismos por abuso de temperatura x tempo. Das 30 amostras analisadas antes do PCC 1B na evisceração, em 10% foi detectada a presença de *Campylobacter jejuni*. Nas amostras analisadas antes da maturação (n=30), a detecção de *Campylobacter jejuni* foi de 3,33%. Salienta-se que houve aumento significativo no número de células comparando-se as duas etapas onde *Campylobacter jejuni* foi detectada, entretanto com uma menor incidência.

*Campylobacter coli* foi isolada em amostras de todas as etapas do processo de produção de peito de frango maturado congelado. As populações decresceram ao longo do processo, entretanto não significativamente (Figura 4). Embora o risco

tenha demonstrado tendência de queda, a presença do microrganismo não, uma vez que não houve diminuição significativa na incidência de *Campylobacter coli* ao longo do processo (Tabela 2).



**Figura 4** - Valores médios e máximos para contagens de *Campylobacter coli* em carcaças de frango evisceradas e peito de frango maturado congelado, por qPCR Tempo Real.

Inesperadamente, foi observado aumento significativo nas populações de *Campylobacter coli* recuperadas de amostras de peito de frango com osso após o processo de maturação. Estudos anteriores sobre a influência da maturação na qualidade microbiológica da carne de frango não considerou análises de *Campylobacter sp*, portanto, o comportamento desse microrganismo durante esse procedimento não é totalmente conhecido.

Entretanto, alguns mecanismos usados por *Campylobacter jejuni* para sobreviver em condições de tensão atmosférica, com exposição a oxigênio, pode elucidar esse fato. *Campylobacter jejuni* recuperado de várias outras matrizes, incluindo carne de frango, sobreviveram à exposição a oxigênio quando associado à *Pseudomonas sp* (HILBERT et al, 2010). Outro fato conhecido é que *Pseudomonas sp*, um organismos psicrófilo, é favorecido significativamente durante o processo de maturação de carne de frango, segundo MOREIRA et al, (2008). Esses fatos podem

levar a uma investigação dos mecanismos de sobrevivência de *Campylobacter coli* em carne de frango maturada quando exposto ao resfriamento nas câmaras de maturação.

Etapas anteriores ao processo de maturação contribuíram para a introdução do microrganismo à carne de frango. Após o PCC na evisceração, o maior resultado médio para *Campylobacter coli* foi observada ( $6,3 \times 10^7$  UFC g<sup>-1</sup>). O procedimento de refilar as partes visivelmente contaminadas por conteúdo gastrointestinal na linha de revisão de carcaças teve impacto nas populações de *Campylobacter coli*, entretanto, não significativo. Uma das críticas ao procedimento de refilar das partes visivelmente contaminadas é a dificuldade de tratamento sistemático a todas as carcaças, uma vez que o procedimento é extremamente sujeito a falhas operacionais, por ser dependente da atenção e ação dos funcionários na linha. Por outro lado, lavadores automáticos, já aplicados em outros processos, podem ter a pressão da água, direcionamento dos bicos e tempo de retenção das carcaças no sistema controlados, sendo possível um melhor controle das variáveis do processo (BASHOR et al, 2004, HINTON et al, 2007).

Antes de entrarem no sistema de pré-resfriamento, as carcaças passaram por um lavador, com vazão de 1,5 L / unidade, o que causou diminuição significativa nas populações de *Campylobacter coli* ( $2,2 \times 10^3$  UFC g<sup>-1</sup>). Entretanto, após o pré-resfriamento, a média das populações de *Campylobacter coli* aumentaram significativamente ( $1,8 \times 10^5$  UFC g<sup>-1</sup>). A concentração de cloro livre, o volume de renovação de água nos tanques e temperatura da água do sistema não foram registrados durante o estudo, entretanto são fatores que influenciam nos resultados microbiológicos das carcaças resfriadas por imersão em água e gelo (CAVANI et al, 2010).

Um dos diferenciais observados no sistema de pré-resfriamento estudado foi o uso de um regenerador de temperatura, que consiste de um sistema de captação da água do tanque do primeiro estágio, que atravessava um conjunto de serpentinas para resfriar esse volume de água, que era devolvido no mesmo tanque. Esse sistema não pode ser caracterizado como reuso de água, nem o volume de água devolvido foi contabilizado na taxa de renovação de água dos tanques. Entretanto, após exaustiva revisão bibliográfica não foram encontrados referências científicas



sobre a influencia de sistema similiar na qualidade microbiológica de carcaças de frango após o resfriamento, particularmente sobre a incidência e contagem de *Campylobacter sp.*

Sabe-se, porém, que em sistemas aquáticos, a associação de *Campylobacter jejuni* a *Pseudomonas sp* torna-se vantajosa, pela formação de biofilme pelos dois microrganismos e o consumo do oxigênio dissolvido pelo microrganismo facultativo, o que favoreceu o desenvolvimento de *Campylobacter jejuni* (ICA et al, 2011).

Outro importante ponto de introdução de microrganismos ao processo produtivo de carne de frango é a contaminação cruzada que pode ocorrer pelo contato das carcaças com os equipamentos, por onde passaram previamente lotes colonizados por patógenos. Dois equipamentos foram selecionados para serem amostrados, ambos por terem intimo contato com as peças de peito de frango com osso no processo de maturação e produção do produto final. Foi selecionada a superfície interna de uma tubulação de inox que distribuiu as peças de peito de frango com osso em caixas plásticas brancas que eram depois alocadas dentro da câmara de maturação. Além desse ponto, foi amostrada também a superfície de contato dos carrinhos de polímero que seguram as peças de peito com osso maturado para serem desossados por um equipamento automático de desossa de carcaça de frango.

Dos suabes coletados da superfície interna da tubulação de distribuição de carcaças, *Campylobacter coli* ou *Campylobacter jejuni* não foram recuperadas. Porém, dos suabes coletados dos carrinhos que seguraram as carcaças maturadas para serem desossadas, 8,33% foram positivas para *Campylobacter coli*, com um resultado médio de  $5,5 \times 10^3$  UFC g<sup>-1</sup>. Diferentes materiais usados na constituição dos equipamentos usados no processamento de carcaças de frango podem oferecer condições diferentes de aderência de microrganismos (ARNOLD e SILVERS, 2000).

No presente estudo, observou-se que os carrinhos de polímero da desossadora automática possuíam ranhuras, feitas pelo contato do material com as pinças e navalhas características do equipamento empregado para a desossa das peças de peito de frango com osso maturado. Diferente da superfície interna da tubulação de inox que distribuía as carcaças a serem maturadas nas caixas plásticas.

A baixa eficiência do processo produtivo de peito de frango maturado congelado no controle de *Campylobacter coli* e *Campylobacter jejuni* poderia ser explicado por desvios nos pontos críticos de controle, principalmente da contaminação de origem fecal, uma vez que as duas espécies podem viver de forma comensal no intestino das aves, segundo WAGENAAR et al., 2006. De acordo com NORTH CUTT et al. (2003), as aves de corte trazidas para o abate carregam naturalmente bactérias oriundas do período de criação e do processo de transporte.

**Tabela 3** - Valores médios das populações de *E. coli* e coliformes totais recuperadas de carcaças de frango evisceradas coletadas em várias etapas do processo e Peito de Frango Maturado Congelado.

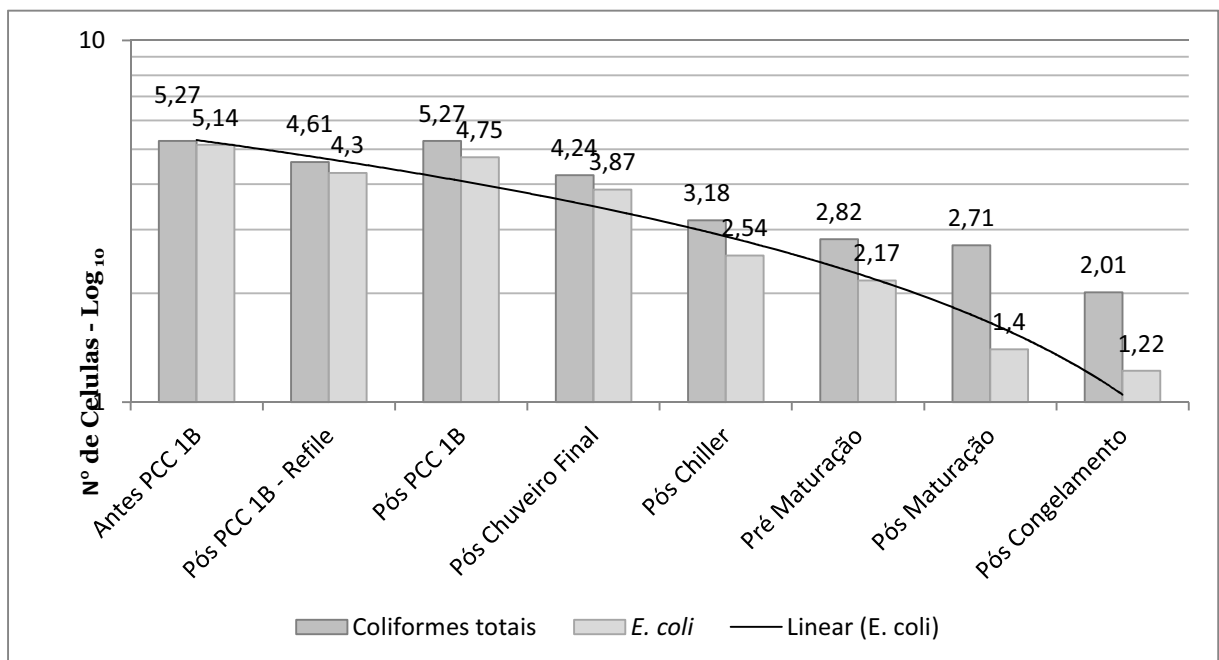
	Parâmetros Microbiológicos <sup>(1)</sup>				
	n	% Isolados	<i>E. coli</i>	coliformes totais	
			(UFC g <sup>-1</sup> )	(UFC g <sup>-1</sup> )	Média
<b>Antes do PCC 1B</b>	30	100% (a)	1,39 x 10 <sup>5</sup> (c)	100% (a)	1,88 x 10 <sup>5</sup> (c)
<b>Após Refile</b>	30	100% (a)	2,03 x 10 <sup>4</sup> (d)	100% (a)	4,15 x 10 <sup>4</sup> (d)
<b>Após PCC 1B</b>	30	100% (a)	5,70 x 10 <sup>4</sup> (d)	100% (a)	1,87 x 10 <sup>5</sup> (c)
<b>Antes do Pré-Resfriamento</b>	30	97% (a)	7,48 x 10 <sup>3</sup> (c)	100% (a)	1,77 x 10 <sup>4</sup> (c)
<b>Após Pré-Resfriamento</b>	30	80% (a)	3,54 x 10 <sup>2</sup> (d)	87% (a)	1,52 x 10 <sup>3</sup> (d)
<b>Antes da Maturação</b>	30	77% (a)	1,51 x 10 <sup>2</sup> (c)	90% (a)	6,7 x 10 <sup>2</sup> (c)
<b>Após Maturação</b>	30	87% (a)	2,53 x 10 <sup>1</sup> (d)	97% (a)	5,14 x 10 <sup>2</sup> (d)
<b>Após Congelamento</b>	30	30% (b)	1,69 x 10 <sup>1</sup> (d)	93% (a)	1,04 x 10 <sup>2</sup> (d)

<sup>(2)</sup> Valores indicados pelas letras a e b referem-se aos dados tratados pelo Teste Exato de Fischer. Os indicados pelas letras c e d referem-se aos dados tratados pelo Teste de Scott-Knott. Os valores identificados pela mesma letra não apresentam diferença significativa (p > 0,05).

Para avaliação do perfil microbiológico de origem fecal na produção de peito de frango maturado congelado, as populações de coliformes totais e *E. coli* foram

analisadas nas mesmas amostras analisadas para detecção dos três sorotipos de *Campylobacter sp.* Os valores médios das populações de coliformes totais e *E. coli* foram agrupados para serem comparados entre si e estão apresentados na Tabela 3.

As populações de coliformes totais e *E. coli* decaíram significativamente ao longo do processo, desde a etapa de Evisceração, passando pelo Pré-Resfriamento, Maturação e finalmente Congelamento. Em qualquer uma das etapas, o valor médio das populações sempre foi menor que da etapa anterior (Figura 5).



**Figura 5-** Valores médios das contagens de *E. coli* e coliformes totais de amostras de carcaças de frango evisceradas em varias etapas do processo e de Peito de Frango Maturado Congelado

Isso demonstra que o refile das partes visivelmente contaminadas por conteúdo gastrointestinal na etapa de evisceração, a lavagem da carcaça no chuveiro final com volume controlado de 1,5 L por carcaça, pré-resfriamento por imersão em água gelada a contracorrente com controle da temperatura da água, do volume de renovação da água, e tempo de retenção das carcaças nos tanques foram significativos na redução da carga bacteriana inicial. O mesmo comportamento microbiológico foi observado também por GÖKSOY et al., (2004) em outro estudo que avaliou duas plantas de abate de aves na Turquia.

Porém, as diferenças na frequência de detecção de *E. coli* e coliformes totais nas amostras de carcaças de frango não foram significativas em todas as etapas do processo. Todas as carcaças de frango evisceradas, coletadas antes do PCC 1B, após o refile das partes contaminadas e após o PCC 1B apresentaram contagens tanto de coliformes totais quanto de *E. coli* (100% de detecção). Antes do pré-resfriamento, onde as carcaças são submetidas a uma lavagem com o volume de água de 1,5 L / unidade, houve uma queda de 3% na detecção de *E. coli*, mas sem relevância estatística ( $p > 0,05$ ). A diminuição na detecção de coliformes totais e *E. coli* após o pré-resfriamento também não foi significativa. Comparando-se o número de amostras em todas as etapas anteriores ao pré-resfriamento com detecção de *E. coli* e coliformes totais ( $n = 120$ ) com o total de amostras após o pré-resfriamento, antes e após a maturação e após o congelamento ( $n = 120$ ), também não houve diferença significativa).

O processo de maturação teve impacto significativo na populações de coliformes totais e *E. coli*. Após a maturação foram recuperadas  $5,14 \times 10^2$  UFC  $g^{-1}$  para coliformes totais e  $2,53 \times 10$  UFC  $g^{-1}$  para *E. coli*, em contraste a  $6,7 \times 10^2$  UFC  $g^{-1}$  e  $1,51 \times 10^2$  UFC  $g^{-1}$  antes da maturação, respectivamente. A redução nas populações de coliformes totais e *E. coli* após o processo de maturação de carne de frango já foi relatado por outros autores. MOREIRA et al (2008), recuperou de peito de frango maturado  $2,45 \times 10$  UFC  $g^{-1}$  e  $8,67$  UFC  $g^{-1}$  para as populações de coliformes totais e *E. coli*, respectivamente, quando avaliou carne de frango após oito horas de maturação, mantida em temperatura de  $1,0$  °C a  $5,7$  °C. Diminuição nas populações de coliformes termotolerantes e *E. coli* pode ser esperado após o processo de maturação, devido ao favorecimento dos microrganismos psicrófilos pelo regime de temperatura imposto durante o processo, como descrito por KUHNE et al, (2005).

Embora tenha havido diminuição na carga microbiana, expressa pelo decréscimo nas populações de coliformes totais e *E. coli* ao longo do processo, isso pode não significar menos patógenos. Não foram identificadas correlações por CASON et al.(2002), VORSTER et al.(1994) e NORBERG (1981) entre as populações de coliformes totais, *E. coli* e *Campylobacter sp* recuperadas de amostras de carcaças de frango.

## 6 CONCLUSÕES

São de grande significância para este trabalho, as detecções de *Campylobacter jejuni*, na etapa de evisceração e antes da maturação, assim como *Campylobacter coli*, incluindo as detecções em amostras de produto após maturação e congelamento, pois pode-se supor que o patógeno seja capaz de sobreviver às condições do processo de maturação e congelamento. Sugere-se assim, sua inclusão como um perigo nos planos HACCP para a produção de peito maturado congelado. Os resultados obtidos podem ser aplicados em estudos de gerenciamento de risco para *Campylobacter sp* na produção de peito de frango maturado.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABULREESH, H. H.; PAGET, T. A.; GOULDER, R. *Campylobacter* in waterfowl and aquatic environments: incidence and methods of detection. **Environmental Science & Technology**. v. 40, p. 7122–7131, 2006.

ARNOLD, J. W.; SILVERS, S. Comparison of Poultry processing equipment surfaces for susceptibility to bacterial attachment and biofilm formation. **Poult. Sci.** v.79, p. 1215-1221, 2000.

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

BASHOR, M. P.; CURTIS, P. A.; KEENER, K. M.; SHELDON, B. W.; KAHTARIUOU, S.; OSBORNE, J. A. Effects of Carcass Washers on *Campylobacter* contamination in large broiler processing plants. **Poult. Sci.** v.83, p.1232-1239, 2004.

BERRANG, M. E.; DICKENS, J. A. Presence and level of *Campylobacter* spp. on broiler carcasses throughout the processing plant. **J. Appl. Poult. Res.** n.9, p. 43-47, 2000.

BERRANGA, M. E.; MEINERSMANN, R. J.; SMITH, D. P.; ZHUANG, H. The effect of chilling on the microbiological quality of broiler carcasses and the population of *Campylobacter*. **Poultry Science**. v. 8, p. 992-998, 2008. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3382/ps.2007-00406>>.

BLACK, R. E.; LEVINE, M. M.; CLEMENTS, M. L.; HUGHES, T. P; BLASER, M. Experimental *Campylobacter jejuni* infection in humans. **J. Infect. Dis.** n.157, p.472-479, 1988.

BLANCHARD, P. J.; MANTLE, D. Comparison of proteolytic enzyme levels in chicken, pig, Lamb and rabbit muscle at point of slaughter: role in meat tenderisation post-mortem. **Journal of Science Food and Agriculture**. n. 71, p.83-91. 1996.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento - MAPA. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal - DIPOA. **Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal - RIISPOA**. Diário Oficial da União, Brasília, 19 de Dezembro de 1950. Seção 1.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento - MAPA. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal - DIPOA. **Regulamento Técnico da Inspeção Tecnológica e Sanitária de Carnes de Aves**. Portaria nº 210, de 10 de novembro de 1998. Diário Oficial da União, Brasília, 26 de Novembro de 1998. Seção 1.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento - MAPA. Secretaria de Defesa Agropecuária - SDA. **Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água**. Instrução Normativa nº 62, de 26 de Agosto de 2003. Diário Oficial da União, Brasília, 18 de Setembro de 2003. Seção 1, p. 14.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento - MAPA. Secretaria de Defesa Agropecuária - SDA. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal - DIPOA. Coordenação Geral de Programas Especiais - CGPE. **Procedimentos de Verificação dos Programas de Autocontrole**. Circular 175/2005/CGPE/DIPOA. Diário Oficial da União, Brasília, 16 de Maio de 2005a.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento - MAPA. Secretaria de Defesa Agropecuária - SDA. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal - DIPOA. Coordenação Geral de Programas Especiais - CGPE. **Modificação das instruções para a verificação do PPHO, encaminhados pela Circular Nº 201/97 DCI/DIPOA e aplicação dos procedimentos de verificação dos Elementos de Inspeção previstos na Circular Nº 175/2005 CGPE/DIPOA**. Circular 176/2005/CGPE/DIPOA. Diário Oficial da União, Brasília, 16 de Maio de 2005b.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento - MAPA. Secretaria de Defesa Agropecuária - SDA. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal - DIPOA. Coordenação Geral de Programas Especiais - CGPE. **Diretrizes para preparação de Plano de APPCC (HACCP) para o processo de abate de aves**. Circular 668/2006/CGPE/DIPOA. Diário Oficial da União, Brasília, 19 de Setembro de 2006. Seção 1.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento - MAPA. Secretaria de Defesa Agropecuária - SDA. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal - DIPOA. Coordenação Geral de Programas Especiais - CGPE. **Diretrizes para Aplicação das Circulares Nº 175/2005/CGPE/DIPOA e 176/2005/CGPE/DIPOA nos Estabelecimentos de Abate de Aves**. Circular 294/2006/CGPE/DIPOA. Diário Oficial da União, Brasília, 05 de Maio de 2006. Seção 1.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento - MAPA. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal - DIPOA. **Padronização de procedimentos de controle da fiscalização de estabelecimentos produtores de carne de aves e ovos e das auditorias da DICA/CGI/DIPOA nos estados – Aditamento da Circular 004/2007/DICA/CGI/DIPOA**. Circular 012, de 13 de Abril de 2007. Diário Oficial da União, Brasília, 13 de Abril de 2007. Seção 1.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento - MAPA. Secretaria de Defesa Agropecuária - SDA. Departamento de Saúde Animal - DSA. **Aditamento do Ofício Circular Conjunto DSA/DIPOA nº 01/2009, que estabelece os procedimentos para monitoramento de estabelecimentos de frangos de corte e perus para Salmoneloses aviárias**. Ofício Circular Conjunto DSA/DIPOA nº 01 / 2010. Diário Oficial da União, Brasília, 26 de Fevereiro de 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde - MS. Secretaria de Vigilância em Saúde - SVS. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. **Portaria Nº 2.914 de 12 de Dezembro de 2011**. Diário Oficial da União, Brasília, 04 de Janeiro de 2012.

BRASIL. *Codex Alimentarius*. Negociações Sanitárias e Fitossanitárias. Brasília, 2014. Disponível em: < <http://www.agricultura.gov.br/internacional/negociacoes/multilaterais/codex-alimentarius>>. Acesso em 18 de Maio de 2014.

BROOKS, B. W.; DEVENISH, J.; LUTZE-WALLACE, C. L.; MILNES, D.; et al. Evaluation of a monoclonal antibody-based enzyme-linked immunosorbent assay for detection of *Campylobacter fetus* in bovine preputial washing and vaginalmucus samples. **Veterinary Microbiology**, v. 103, n 1, p. 77 – 84, 2004.

BYRD, J. A.; BAILEY, R. H.; WILLS, R. W.; NISBET, D. J. Presence of *Campylobacter* in day-of-hatch broiler chicks. **Poultry Sci.** n. 86, p. 26-29, 2007.

CASON, J. A.; BERRANG, M. E.; Variation in Numbers of Bacteria on Paired Chicken Carcass Halves. **Poult. Sci.** v.81, p.126 – 133, 2002.

CAVANI, R.; SCHOCKEN-ITURRINO, R. P.; GARCIA, T. C. F. L.; OLIVEIRA, A. C., Comparison of microbial load in immersion chilling water and poultry carcasses after 8, 16 and 24 working hours. **Rev. Ciência Rural.** n. 40, p.1603-1609, 2010.

CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases. **Campylobacter**. 2010. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/nczved/divisions/dfmd/diseases/campylobacter>>. Acessado em Nov. 2011.



CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Trends in Foodborn illness in United States. **Morbidity and Mortality Weekly Report**, 2014. Disponível em <<http://www.cdc.gov/Features/dsFoodNet2012/index.html>>. Acesso em 18 de Abril, 2014.

CE - CONSELHO DA COMUNIDADE EUROPÉIA, **Relativa aos problemas de comércio comunitário de carnes frescas de aves de capoeira**. Diretiva 116, de 17 de Dezembro de 1992. Jornal oficial das Comunidades Europeias, 19 de Dezembro de 1992.

CE - CONSELHO DA COMUNIDADE EUROPÉIA. **Relativa à proteção dos animais no momento da occisão**. Diretiva 1099, de 24 de Setembro de 2009, Jornal oficial das Comunidades Europeias, 18 de Novembro de 2009.

*Codex Alimentarius*. CAC/RCP 1-1969. **General Principles of Food Hygiene**. v.4, p.21-28, 2003

CORDEIRO, C. F. **Elementos de Inspeção: Nova visão sobre os Programas de Autocontrole nas indústrias de produtos de origem animal – Revisão Bibliográfica**. 2009. 70 f. Monografia. Universidade Castelo Branco. Florianópolis, 2009.

COX, N. A.; STERN, N. J.; WILSON, J. L.; MUSGROVE, M. T.; BUHR, R. J.; HIETT, K. L. Isolation of *Campylobacter* spp. from semen samples of commercial roosters. **Avian Dis**. n. 46, p. 717–720. 2002

COX, N. A.; BAILEY, J. S.; RICHARDSON, L. J.; BUHR, R. J.; COSBY, D. E.; WILSON, J. L.; HIETT, K. L.; SIRAGUSA, G. R.; BOURASSA, D. V. Presence of naturally occurring *Campylobacter* and *Salmonella* in the mature and immature ovarian follicles of late-life broiler breeder hens. **Avian Dis**. n.49, p. 285-287, 2005.

DELIBERALI, E.A.; VIANA, G; STADUTO, J. R; RINALDI, R. N. Exportações e habilitações de carne de frango ao mercado internacional: um estudo da mesorregião oeste do Estado do Paraná. **Informações Econômicas**. v. 40, p.19-30, 2010

FDA, Food And Drug Administration. **Bacteriological analytical manual**. 8th ed., Revision A, Appendix 3.64, 1998.

FERNÁNDEZ, H. *Campylobacter* y Campylobacteriosis: una mirada desde América del sur. **Revista Peru Med. Exp. Salud Publica.** v. 28, p.121 – 127, 2011.

GARCIA, R. G.; SANTOS, V. M. O. ; CALDARA, F. R.; PAZ, I. C. L. A.; NÄÄS, I. A.; SIMM, S.; BORILLE, R. ; ROYER, A. F. B. Qualidade de files de peito de frango de corte marinados e maturados. **Revista Agrarian.** v.16, p.166-173. 2012.

GÖKSOY, E. Ö.; KIRKAN, S.; KÖK, F. Microbiological Quality of Broiler Carcasses During Processing in Two Slaughterhouses in Turkey. **Poult. Sci.** v.88, p.1427 – 1432, 2004.

GRANDIN, T.; JOHNSON, C. **O bem-estar dos animais - Proposta de uma vida melhor para todos os bichos.** São Paulo: Rocco, p. 334, 2010.

GREGORY, E.; BARNHART, H.; DREESEN, D. W.; STERN, N. J.; CORN, J. L. Epidemiological study of *Campylobacter* spp. in broilers: source, time of colonization, and prevalence. **Avian Diseases.** v. 41, p.890–898, 1997.

HAYCOCK, J. **Degradation of human muscle protein by free radicals and proteolytics enzymes.** Tese (Doutorado). Universidade de Newcastle. Reino Unido. 1995.

HIETT, K. L.; COX, N. A.; BUHR, R. J.; STERN, N. J. Genotype analysis of *Campylobacter* isolated from distinct segments of the reproductive tracts of broiler breeder hens. **Current Microbiol.** n. 45, p.400-404, 2002.

HILBERT, F., SCHERWITZEL, M.; PAULSEN, P.; SZOSTAK, M. P. Survival of *Campylobacter jejuni* under Conditions of Atmospheric Oxygen Tension with the Support of *Pseudomonas* spp. **Applied and Environmental Microbiology.** v.76, p.5911-5917, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1128/AEM.01532-10>>

HINTON, A. J; CASON, J. A.; HUME, M. E.; INGRAM, K. D. Spread of *Campylobacter* spp. during poultry processing in different seasons. **Int . J. Poult . Sci.**n. 3; p.432-437, 2004.

HINTON, A. Jr.; NORTHCUTT, J. K.; SMITH, D. P.; MUSGROVE, M. T.; INGRAM, K. D. Spoilage microflora of broiler carcasses whased with electrolyzed oxidizing or chlorinated water using an inside-outside bird washer. **Poult. Sci.** v. 86, p.123-127, 2007.

HUEZO, R. I., **Chilling of broiler carcasses: microbiological and quality implications**. 2007. 149 f. Dissertação (Mestrado em Ciências). Faculdade da Georgia. Athens, Georgia, 2007.

ICA, T., CARNER, V.; ISTANBULLU, O.; NGUYEN, H. D.; AHMED, B.; CALLI, D. R.; BEYENAL, H.; Characterization of Mono- and Mixed-culture *Campylobacter jejuni* Biofilms. **Applied and Environmental Microbiology**. v.78, p.1033-1038, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1128/AEM.07364-11>>

IVNITSKI, D.; ABDEL-HAMID, I.; ATANASOV, P.; WILKINS, E. Biosensors for detection of pathogenic bacteria. **Biosensors and Bioelectronics**. v. 14, p.599 – 624, 1999

KAROLYI, L. G.; MEDÍC, H.; VIDACEK, S.; PETRAK, T.; BOTKA- PETRAK, K. Bacterial population in counter flow and parallel flow water chilling of poultry meat. **European Food Research and Technology**. n. 217, p. 412-415, 2003.

KEMP, R.; LEATHERBARROW, A. J.; WILLIAMS, N. J.; HART, C. A.; CLOUGH, H. E.; TURNER, J.; WRIGHT, E. J.; FRENCH, N. P. Prevalence and genetic diversity of *Campylobacter* spp. in environmental water samples from a 100-square-kilometer predominantly dairy farming area. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 71, p. 1876 –1882, 2005.

KUHNE, M.; THIELKE, S.; LHAFI, S. K.; The effect of aging on the tenderness and microbial status of broiler breast fillets. **Fleischwirtschaft** v.85, p.130–132, 2005.

LEBLANC-MARIDOR; M., BEAUDEAU, F.; SEEGER, H.; DENIS, M.; BELLOC, C. Rapid identification and quantification of *Campylobacter coli* and *Campylobacter jejuni* by real-time PCR in pure cultures and in complex samples. **Biomedical Central Microbiology**. v. 11, p. 113-129, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/1471-2180/11/113>>

LEE, M.D., and D. G. NEWELL. *Campylobacter* in poultry: filling an ecological niche. **Avian Diseases**. v.50, p.1–9, 2006.

LEHMANN, K. B. Arch Hyg Bakteriologie. n.3, p. 134. 1907  
LINDMARK, H.; DIETRICH, I. C.; ANDERSSON, L.; LINDGVIST, R.; ENGVALL, E. O. Distribution of *Campylobacter* genotypes on broilers during slaughter. **J. Food Prot.** v. 69, n. 12, p. 2902-2907, 2006.

MATSUMURA, E. M. **Perspectivas para a conservação e reuso de água na indústria de alimentos – estudo de uma unidade de processamento de frangos.** 2007. 250 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia). Escola Politécnica. Universidade de São Paulo. 2007.

MACHADO, R. A.; TOSIN, I.; LEITÃO, M. F. F.; Occurrence of *Salmoella sp* and *Campylobacter sp* in chickens during industrial processing. **Ver. Microbiol.** v. 25, p. 239-244. 1994.

MCKEE, S. R. Pre-harvest survey for best practices in pathogen control. **International Poultry Scientific Forum.** Atlanta, Georgia. Janeiro, 25-26, 2012.

MIN, J. S.; LEE, S. O; JANG, A.; JO, C; LEE, M. Control of microorganisms and reduction of biogenic amines in chicken breast and thigh by irradiation and organic acids. **Poultry Science.** v. 86, p.2034-204. 2007.

MOREIRA, A. P. S.; GIOMBELLI, A.; LABANCA, R. A.; NELSON, D. L.; GLÓRIA, M. B. A. Effect of Aging on Bioactive Amines, Microbial Flora, Physico-Chemical Characteristics and Tenderness of Broiler Breast Meat. **Poultry Scienc.** v. 87, p.1868-1873. 2008. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3382/ps.2007-00370>> .

NACHAMKIN, I.; ALLOS, B.M.; HO, T. *Campylobacter* species and Guillain-Barre syndrome. **Clinical Microbiology Reviews** n.11, p.555-567, 1998.

NORBERG, P.; Enteropathogenic bacteria in frozen chicken. **Appl. Environ. Microbiol.** v.42, p.32–34, 1981.

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

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

NORTHCUTT, J. K.; SMITH, D.; HUEZO, R. I.; INGRAM, K. D.; Microbiology of broiler carcasses and chemistry of water as affected by water reuse. **Poultry Science.** v. 87, p. 1458-1463, 2008.

NOTTINGHAM, P. M. Microbiology of carcass meats. In: BROWN, M.H. **Meat microbiology** London: Applied Science, p. 13-65, 1982.

OUALI, A. Proteolytic and physicochemical mechanisms involved in meat texture development. **Biochimie**. n.74, p.251-265, 1992.

OWENS, C. M.; SAMS, A. R. Meat quality of broiler breast meat following *post-mortem* electrical stimulation at the neck. **Poultry Science**. v.77, n. 9, p. 1451-1454, 1998. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1093/ps/77.9.1451>>.

OYOFO, B. A.; ROLLINS, D. M. Efficacy of filter types for detecting *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in environmental water samples by polymerase chain reaction. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 59, p.4090–4095, 1993.

PATTERSON, J. T. Microbiological aspects of poultry processing. **British Poultry Science**, v. 12, p. 197-203, 1971.

PRATES, J. A. M. Factors and mechanisms responsible for meat ageing. **Revue de Medecine Veterinaire**. n. 153, v. 7, 499-506, 2002.

RASSCHAERT, G.; HOUF, K.; VAN HENDE, J.; DE ZUTTER, L.; Campylobacter contamination during poultry slaughter in Belgium. **J. Food Prot.** v. 69, p. 27-33, 2006.

ROBINSON, D. A. Infective dose of *Campylobacter jejuni* in milk. **BMJ**, n. 282 , 1981.

RODRÍGUEZ-LÁZARO, D.; D`AGOSTINO, M.; HERREWEGH, M.; et al. Real time PCR based methods for detection of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in water and Milk. **International Journal of Food Microbiology**. v.101, n1, p. 93 – 104, 2005.

SCHADE, J. E.; TSAI, L.; TONG, L.; WILSON, R.; MacGREGOR, J. T. Extraction of mutagens from chlorinated poultry chiller water. **Journal of Food Science**, v. 55, n. 3, p. 635-639, 1990.

SCHLUNDT , J. ; TOYOFUKU, H.; JANSEN, J.; HERBST, S. A. Emerging foodborne zoonoses. **Revue Scientifique et Technique de L`Office International de Epizooties**. v.23, p.513–533, 2004.

SCOTT, A. J., KNOTT, M. A cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. **Biometrics**, v. 30, n. 3, p. 507-12, 1974.

SILVA, J. A. Microrganismos patogênicos em carne de frango. **Higiene Alimentar**, v. 12, n. 58, p. 9-14, 1998.

SMITH, D. P.; CASON, J. A.; BERRANG, M. E. Effect of fecal contamination and cross-contamination on numbers of coliform, *Escherichia coli*, *Campylobacter* and *Salmonella* on immersion-chilled broiler carcasses. **Journal of Food Protection**, v. 68, n. 7, p. 1340-1345, 2005.

SMULDERS, F. J. M.; WOOLTHUIS, C. H. J. Immediate and delayed microbiological effects of lactic acid decontamination of calf carcasses influence on conventionally boned versus hot-boned and vacuum-packaged cuts. **Journal of Food Protection**, v.48, n.10, p.838-847, 1985.

SUSMEL, S.; GUILBAULT, G. G.; O`SULLIVAN, C. K. Demonstration of labelless detection of food pathogens using electrochemical redox probe and screen printed gold electrodes. **Biosensors and Bioelectronics**. v. 18, n 7, p. 881 – 889, 2003.

TAKAHASHI, K. Structural weakening of skeletal muscle tissue during post-mortem ageing of meat: the non-enzymatic mechanism of meat tenderization. **Meat Science**. n. 46, p. 67-80. 1996.

THOMAS, C. J.; McMEEKIN, T. A. Contamination of broiler carcass skin during commercial processing procedures: an electron microscopic study. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 40, n. 1, p. 133-144, 1980.

SCHARFF, R. L. Economic burden from health losses due to foodborne illness in the United States. **J. Food Prot.** n. 75, p.123-131, 2011.

SCHMIDT, U. Cleaning and disinfection methods, effects of rinsing on surface bacterial count. **Fleischwirtsch.**, v. 69, n. 1, p. 71-74, 1989.

STERN, N. J.; FEDORKA-CRAY, P. J.; BAILEY, J. S.; COX, N. A.; CRAVEN, S. E., HIETT, K. L.; MUSGROVE, M. T.; LADELY, S; COSBY, D. E.; MEAD, G. C. Distribution of *Campylobacter* spp. in selected U.S. poultry production and processing operations. **J. Food Prot.** 64:1705–1710, 2001

STERN, N. J.; ROBACH, M. C; COX, D. F.; MUSGROVE, M. T. Effect of drinking water chlorination on *Campylobacter* spp. colonization of broilers. **Avian Dis.** n. 46, p.401–404, 2002.

UBABEF. Associação Brasileira de Avicultura. **Annual Report 2014**. Disponível em: <<http://www.ubabef.com.br/files/publicacoes/8ca705e70f0cb110ae3aed67d29c8842.pdf>>. Acesso em: 18 de maio 2014.

USDA. Federal Register Notice. v. 76, n. 54, 2011.

USDA-FSIS. New performance standards for *Salmonella* and *Campylobacter* in chilled carcasses at young chicken and turkey slaughter establishments. **FSIS Notice** n. 31, p.11. 2011.

USDA-FSIS. **Water reuse questions and answers**. Estados Unidos, 2008. Disponível em: <[http://www.fsis.usda.gov/wps/wcm/connect/0575b126-4f1d-4cf5-a21c-84c67b65146b/Water\\_Reuse\\_QA.pdf?MOD=AJPERES](http://www.fsis.usda.gov/wps/wcm/connect/0575b126-4f1d-4cf5-a21c-84c67b65146b/Water_Reuse_QA.pdf?MOD=AJPERES)>. Acessado em: 20 de Maio, 2014.

VALIN, C.; OUALI, A. Proteolytic muscle enzymes and post mortem meat tenderization. **New Technologies for Meat and Meat products**. p. 163-179, 1992.

VAN GERWE, T. J. W. M.; BOUMA, A.; JACOBS-REITSMA, W. F.; VAN DEN BROEK, J.; KLINKENBER, D; STEGEMAN, J. A.; HEESTERBEEK, J. A. P.; Quantifying transmission of *Campylobacter* spp. among broilers. **Appl. Environ. Microbiol.** n. 71, p.5765–5770, 2005.

VORSTER, S. M.; GREEBE, R. P.; NORTJE, G. L. Incidence of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* in ground beef, broilers and processed meats in Pretoria, South Africa. **J. Food Prot.** v.57, p.305–310, 1994.

ZHUANG, H.; BOWKER, B. C.; BUHR, R. J.; BOURASSA, D. V.; KIEPPER, B. H. Effect of broiler carcasses scalding and chilling methods on quality of early-debonned breast fillets. **Poultry Science**. v.92, 1393-1399, 2013.

WAGENAAR, J. A.; MEVIUS, D. J; HAVELAAR, A. H. *Campylobacter* in primary animal production and control strategies to reduce the burden of human campylobacteriosis. **Revue Scientifique et Technique de L'Office International de Epizooties**. v. 25, p.581 – 594, 2006.

WILLIAM, L. K.; MCMEECHAM A.; BAALHAM T.; WARD L.; HUMPRHEY, T. J.; JØRGENSEN, F.; Detection of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* from broiler chicken related samples using BAX PCR and International Organization for Standardization culture. **Poultry Science**. v. 71, n. 4, p. 835-838, 2008.

WHO – World Health Organization. *Understanding the Codex Alimentarius*. Roma, ed. 3, 2006.

WHO – World Health Organization. Basic Text. *Codex Alimentarius*. Rome. v. 3, 1999.

WONG, Y. Y.; NG, S. P.; NG, M. H.; et. al. Immunosensor for the differentiation and detection of *Salmonella* species based on a quartz crystal microbalance. **Biosensors and Bioelectronics**. v.17, n 8, p. 676 – 684, 2002.

WU, F. Y.; SMITH, S. B. Ionic strenght and myofibrillar protein solubilization. **Jounal of Animal Science**. v.65, p.597-608.

YOUNG, L. L., SMITH, D. P.; CASON, J. A.; WALKER, J. M. Effects of intact carcass stimulation on moisture retention characteristics of polyphosphate-treated non-aged boneless broiler breast fillets. **Poultry Science**. v. 3, p. 796-798, 2004. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3923/ljps.2004.796.798>>.

ZIMMER, M.; BARNHART, H.; IDRIS, U.; LEE, M. D. Detection of *Campylobacter jejuni* strains in the water lines of a commercial broiler house and their relationship to the strains that colonized the chickens. **Avian Diseases**. v.47, p.101–107, 2003.