

**FÁBIO CARVALHO DE GOUVEIA**

**EFEITO DE DIFERENTES TRATAMENTOS PARA O CONTROLE DA  
CONTAMINAÇÃO SUPERFICIAL COM *Salmonella* Typhimurium EM  
CARÇAÇAS SUÍNAS**

**LAGES-SC**

**2008**

**UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGROVETERINÁRIAS  
DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINÁRIA**

**FÁBIO CARVALHO DE GOUVEIA**

**EFEITO DE DIFERENTES TRATAMENTOS PARA O CONTROLE DA  
CONTAMINAÇÃO SUPERFICIAL COM *Salmonella* Typhimurium EM  
CARÇAÇAS SUÍNAS**

Dissertação apresentada à coordenação  
do Curso de Mestrado em Ciência Animal  
como requisito para a obtenção do título  
de mestre

**Orientadora:** Dra. Sandra Maria Ferraz

**LAGES-SC**

**2008**

**FÁBIO CARVALHO DE GOUVEIA**

**EFEITO DE DIFERENTES TRATAMENTOS PARA O CONTROLE DA  
CONTAMINAÇÃO SUPERFICIAL COM *Salmonella* Typhimurium EM  
CARCAÇAS SUÍNAS**

Dissertação aprovada a coordenação do curso de Mestrado em Ciência Animal,  
como requisito para a obtenção do título de mestre.

**Banca Examinadora**

Orientador: \_\_\_\_\_  
Doutora Sandra Maria Ferraz  
UDESC

Membro: \_\_\_\_\_  
Doutora Marisa Ribeiro de Itapema Cardoso  
UFRGS

Membro: \_\_\_\_\_  
Doutora Eliana Knackfuss Vaz  
UDESC

Lages, 12 de dezembro de 2008

## AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Horácio Joaquim de Gouveia e Lair Carvalho de Gouveia por apoio e amor incondicional.

Ao meu irmão, Fabrício Carvalho de Gouveia.

À professora Doutora Sandra Maria Ferraz pelo estímulo ao desenvolvimento pessoal e profissional, por toda a sua ajuda, dedicação e amizade.

Às professoras Eliana Knackfuss Vaz e Lídia Almeida Picinin, por seus constantes apoios.

À amiga e mestrandia Andréa Rosa Machado, por dividir dúvidas, esforços e conquistas na mesma linha de pesquisa.

Aos bolsistas Heloíse Peterle, Misael Espíndola e Caroline Pissetti. Parceiros de trabalho e de alegrias.

À estagiária Camila L. A. Plieski, por sua fiel dedicação e esforço.

À pesquisadora Doutora Jalusa Deon Kick por proporcionar a viabilidade dessa pesquisa.

Aos demais amigos e colaboradores do Laboratório de Microbiologia Veterinária da Universidade do Estado de Santa Catarina.

## RESUMO

As contaminações por *Salmonella* sp. em carnes e produtos cárneos suínos são um problema de saúde pública e trazem riscos ao consumidor. Suínos portadores assintomáticos são os principais veículos de contaminação de plantas industriais frigoríficas. Com o objetivo de controlar as contaminações superficiais de carcaças suínas por *Salmonella* Typhimurium foi proposto o uso de solução de ácidos orgânicos e aplicação de vapor sob pressão, em tratamentos isolados ou em associação. Pernis suínos refrigerados foram utilizados como modelos experimentais, e foram artificialmente contaminados por imersão em solução salina fisiológica contendo  $10^3$  UFC/mL de *Salmonella* Typhimurium – fagotipo DT177. Áreas de  $100\text{cm}^2$  da superfície dos pernis suínos foram amostradas, e estimados os NMP de *Salmonella* sp. antes e após cada tratamento, tanto na musculatura como na pele. As frequências de redução dos NMP foram avaliadas pelo teste exato de Fisher. Observou-se que o tratamento em associação de solução ácida (solução de ácidos orgânicos contendo o ácido cítrico como principal constituinte) a 1000ppm e vapor a  $140^\circ\text{C}$  sob pressão de 4bar apresentou melhor resultado em comparação aos mesmos tratamentos isolados, e ao controle com solução fisiológica. Nas avaliações na pele, as frequências de redução variaram de 50% (tratamento com solução ácida) a 100% (associação de tratamentos com solução ácida mais vapor sob pressão). Já na musculatura, as frequências variaram de 44% (tratamento com solução fisiológica e tratamento com aplicação de vapor) a 100% (tratamento com solução ácida e tratamento com solução ácida seguido por tratamento pela aplicação de vapor).

**PALAVRAS-CHAVE:** *Salmonella* sp., ácido orgânico, vapor, carcaça suína.

## ABSTRACT

The contamination in pork meat and other pork products by *Salmonella* sp. is a health public problem, and is a risk factor for the consumer. Pork without symptom is the principal way to carrier *Salmonella* sp. into slaughterhouses. To control the superficial contamination of pork carcass by *Salmonella* Typhimurium, the use of organic acid solution and pressure of steam, in isolated or associated treatments, were verified in muscle and skin of the carcasses. Four treatments were applied: immersion in physiologic solution; immersion in acid solution at 1000 ppm (which is made by organic acids; citric acid is the principal ingredient); sprinkling of steam at 140°C at 4 bar of pressure; and sprinkling of steam after immersion in acid solution. Superficial areas of 100cm<sup>2</sup> were available at skin and muscle of the carcasses. The Most Probable Number (MPN) of *Salmonella* sp. was obtained in each sample by sterile swabs. The frequencies of reduction of the MPN were available by Fisher exactly test. At skin, the better frequency of reduction was observed by use of steam after immersion in acid solution, achieving reduction in 100% of the samples. At muscle, reduction of MPN was observed in 100% of the samples treated by acid solution or sprinkling of steam after immersion in acid solution.

**KEYWORDS:** *Salmonella* sp., organic acid, steam, superficial contamination.

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>7</b>
<b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>9</b>
<b>3. REFERÊNCIAS.....</b>	<b>15</b>
<b>4. ARTIGO.....</b>	<b>19</b>
<b>Efeito de Diferentes Tratamentos para o Controle da Contaminação</b> <b>Superficial com Salmonella Typhimurium em Carcaças</b> <b>Suínas.....</b>	<b>18</b>
<b>5. CONCLUSÃO .....</b>	<b>31</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A carne suína tem destaque no consumo pelo seu paladar e qualidade nutricional. Se há alguns anos a produção de suínos ainda tinha caráter de baixa tecnologia, hoje o agronegócio induz a suinocultura a métodos de produção competitivos e com qualidade da carne cada vez melhor adaptada às exigências dos consumidores. As disputas por nichos de mercado segmentam cada vez mais os produtos para promover bem-estar e segurança alimentar ao consumidor.

O objetivo no abate de animais domésticos para o consumo humano é a obtenção de carne com a menor contaminação possível (SILVA, J.A., 2001). Para isso, há necessidade de estarem adequados aos padrões microbiológicos determinados pela legislação nacional que determina a ausência de *Salmonella* sp. em 25g de diversos produtos (ANVISA, 2001). Apesar disso, os sistemas de produção industriais ainda enfrentam problemas de contaminação, tanto em frigorífico como na produção a campo.

Segundo levantamento epidemiológico realizado por Schwarz, P. (2006), observa-se prevalência sorológica de *Salmonella* sp. em suínos abatidos em agroindústrias da região sul do Brasil próxima a 77%. A presença de *Salmonella* sp. nos suínos abatidos é um fator de risco para a contaminação do produto final. Castagna, S.M.F. (2004), constatou contaminação por *Salmonella* sp. em produtos frescos derivados de matéria-prima suína. Apesar das medidas de controle da matéria-prima recebida, das medidas de manejo e de diferentes sistemas de gestão para segurança alimentar (GMP, HACCP, ISO 22.000) implantados pelas agroindústrias, ainda assim podemos encontrar *Salmonella* sp. nos produtos de



origem suína destinados ao consumo humano (; CASTAGNA, S.M.F., 2004; SPRICIGO, D.A., 2007).

Diferentes formas de controle têm sido testadas, e o uso de ácidos orgânicos pode ser uma medida de baixo custo com alta eficácia. Nenhuma pesquisa traz informações conclusivas para o controle de contaminações superficiais de *Salmonella* sp. em carcaças suínas. Existem fatores sinérgicos, tanto físicos como químicos, atuando como inibidores de *Salmonella* sp. O objetivo deste trabalho foi contribuir com uma nova proposta de controle de *Salmonella* sp em contaminações superficiais de pernis suínos, através do tratamento com ácidos orgânicos (solução comercial contendo o ácido cítrico como principal constituinte) e um método físico através de vapor a 140°C sob pressão, em tratamentos isolados e em associação, em condições que simulam o processamento industrial em abatedouros frigoríficos.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O gênero *Salmonella* foi descrito por D.E.Salmon, sendo um dos membros da família Enterobacteriaceae. A partir da composição de antígenos somáticos polissacarídicos e flagelares protéicos, mais de 2400 sorovares já foram descritos. As salmonelas são primariamente patógenos de animais, sendo eles a maior fonte transmissora de salmonelose não tifóide aos humanos (KONEMAN, E.W. et al, 2001). A espécie *Salmonella enterica* é dividida em sete subespécies baseado nas suas características bioquímicas e homologia do DNA (LE MINOR, L. et al, 1993). Os sorovares Typhimurium e Enteritidis tem sido mais frequentemente relatados em isolamentos em seres humanos (KONEMAN, E.W. et al, 2001). O gênero *Salmonella* sp. é capaz de crescer em temperaturas entre 7 e 45°C e em pH entre 4,5 e 9 (TORTORA, G.J. et al, 1993). In vivo, é capaz de induzir fagocitose em células não fagocíticas através do estímulo à polimerização de actina pela célula hospedeira. Após o processo de invasão, previne a fusão do fagossomo com o lisossomo, desenvolvendo assim uma estratégia de fuga da defesa celular (ALBERTS. B. et al, 2006). *Salmonella* Typhimurium possui um plasmídeo que porta os principais genes de virulência (OLSEN, J.E. et al, 2004). Os suínos podem desenvolver o estado de portador assintomático, sendo agentes transmissores de *Salmonella* sp. à população humana (ZEBRAL, A.A. et al, 1974). Quatro formas clínicas podem ser observadas em seres humanos infectados por *Salmonella* sp.: gastroenterite, bacteremia, febre entérica e estado de portador (GUERRANT, R.L, 1985; SILVERBLATT, F.J. et al, 1985).

Tendo em vista o risco de transmissão de *Salmonella* sp. dos produtos de origem animal aos seres humanos, Alban, L. et al (2002) estimaram taxas de contaminação em porções de 25g de linguiça curada a seco na Dinamarca: 245 unidades por milhão quando utilizada carne suína dinamarquesa, e 19.629 unidades por milhão quando foi utilizada carne importada. No Brasil, Bessa, M.C. et al (2004), encontraram 55,66% de suínos portadores de *Salmonella* sp. em frigoríficos no estado do Rio Grande do Sul. Schwarz, P. (2006), apontaram altos índices de prevalência por sorologia em suínos ao abate no sul do Brasil. Spricigo, D.A. (2007), cita que são poucos os estudos epidemiológicos que levam em consideração o nível de contaminação. Além disso, a contaminação bacteriana da carne é atualmente um dos maiores problemas sanitários, principalmente pela falta de padronização de medidas de higiene desde o abate até a chegada do produto ao consumidor final (SOARES, L.F., 1997).

Várias alternativas têm sido buscadas na tentativa de controle de *Salmonella* sp. em carcaças, desde o uso de Bacteriófagos (PAO, S. et al, 2004) até a radiação gama (OUATTARA, B. et al, 2004). Entretanto, ácidos orgânicos mostram-se promissores. Uma observação feita por Makras, L. et al (2006), demonstrou que *Bifidobacterium* sp. produz ácidos orgânicos (acético e láctico) que associados à queda de pH, inibem a proliferação de *Salmonella* Typhimurium SL 1344.

Outros estudos apontam o uso de ácidos orgânicos no controle microbiológico da carne, com resultados que impactam no aumento de vida de prateleira dos produtos (GOETZ, H., 1995; SOARES, L.F., 1997; SILVA, J. A., 1995; XAVIER, C.V.A., 1997). Esse efeito inibidor microbiológico foi estudado com o uso dos ácidos láctico e acético, pois resultam em uma ação bioquímica lipofílica que permite a passagem de íons hidrogênio através da membrana do microrganismo, acidificando

o citoplasma da célula e inibindo o transporte de nutrientes (CORLETT-Jr, D.A. et al, 1980). Outros autores também compartilham esta informação e afirmam que os ácidos orgânicos de cadeia média apresentam efeito inibitório maior de *Salmonella* sp. que ácidos orgânicos de cadeia curta, e sabe-se que cada tipo de ácido tem efeito espécie-específico. O mecanismo baseia-se nas bactérias que não conseguem reduzir o pH intracelular, e acabam acumulando ânions de ácidos orgânicos no citoplasma (VAN-IMMERSEEL, F. et al, 2006).

Além disso, Van-Immerseel, F. et al (2006), acrescentaram que o butirato em baixas concentrações resulta na inibição da expressão de genes de invasão em *Salmonella* sp. Martin, H. et al (2005), observaram além do efeito de especificidade dos ácidos orgânicos e relacionaram os efeitos antimicrobianos às moléculas com constantes de dissociação entre 3,74 e 3,85 – como os ácidos mandélico, fórmico e láctico.

Outra alternativa para o controle microbiológico em carnes se faz com o uso ácido cítrico, principal ácido orgânico utilizado nas indústrias farmacêuticas e de alimentos, com grande variedade de aplicações (CONTE, A.P.F, 1999). Os ácidos acético e láctico produzidos em processos fermentativos de alimentos e rações, associados ao baixo pH obtido durante o processo de fermentação, foram responsáveis pela diminuição de contaminações por *Salmonella* sp. (VAN-WINSEN, R.L. et al, 2001). Mbandi, E. et al (2002), observaram efeito sinérgico entre uso de ácidos orgânicos e baixas temperaturas de armazenamento.

Atualmente conhece-se a efetividade no controle de *Salmonella* sp. em carcaças de frango através do uso de ácido acético seguido pelo uso de ácido láctico (SOARES, L.F., 1997). Dorsa, W. J. et al (1998), testaram o uso de soluções de ácido láctico a 2% e ácido acético a 2%. Outros ácidos têm sido estudados para o

controle microbiológico de carnes. Dentre eles descreve-se o ácido peroxiacético em soluções a 200, 400, 600 e 1000ppm, sob temperatura de 43°C - aplicados por aspersão para o controle microbiológico de *E. coli* O157:H7 e *Salmonella* Typhimurium em carcaças bovinas experimentalmente contaminadas com fezes (KING, D.A. et al, 2005).

Tratamentos com lavações por aspersão com ácido láctico a 2% e associação de ácido acético a 1,5% com ácido propiônico a 1,5% em cortes de carne de carneiro contaminados experimentalmente com *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* e *Salmonella* Typhimurium foram testados por Dubal, Z.B. et al (2004). A contagens diminuíram de 0,52 a 1,16 log<sub>10</sub> UFC/área, com aumento da vida de prateleira de 3 dias para 8 a 11 dias.

Na Índia, 266 amostras de carcaças animais coletadas de diversos abatedouros foram avaliadas para a presença de *Salmonella* sp., com resultados positivos em 174 amostras. A incidência foi de 78% na carne suína, 69% na carne de frango, 57% na carne ovina e 65% na carne bovina. Nesse estudo, propôs-se a inibição do crescimento de *Salmonella* Enteritidis através da aplicação de ácidos orgânicos, onde o melhor efeito inibitório foi obtido pela aplicação do ácido cítrico, seguido por ácido acético, ácido láctico e com menor efeito inibitório, ácido propiônico (BAJAJ, B.K. et al, 2003).

Arvisu-Medrano, S.M. et al (2005), submeteram *Salmonella* Typhimurium ao efeito de choque ácido em soluções de ácido hidrocloreídrico, cítrico ou láctico a pH de 5,5. Após o choque, inocularam essas cepas em caldos contendo ácido hidrocloreídrico (pH 3,0), ácido cítrico (pH 3,0) e ácido láctico (pH 3,8). O choque ácido conferiu proteção de *Salmonella* sp. aos efeitos letais do baixo pH e presença de ácidos orgânicos, além da resposta não ser específica ao ânion usado para

adaptação. Nesse mesmo estudo, *S. Typhi* apresentou maior resistência ao ácido cítrico do que *Salmonella* Typhimurium, porém esta apresentou melhor adaptação ao choque ácido do que *Salmonella* Typhi.

Em outro estudo, soluções de ácido cítrico apresentaram maior efeito inibitório para *Salmonella* Typhimurium frente a soluções de ácido láctico e acético, por aspersão, em cortes de carcaças suínas armazenadas sob refrigeração por 14 dias (KANG, S. et al, 2003).

Ha, D.D. et al (2004), apontam que o ácido propiônico pode ser uma boa alternativa ao controle de *Salmonella* Typhimurium em alimentos ou rações por apresentar bom efeito inibitório em concentração de 2%, e impactar na ausência de crescimento quando usado a 3% em meios de cultivo.

Cutter, C.N. (1999), em estudo sobre contaminações experimentais superficiais por *Salmonella* Typhimurium em carcaças bovinas, observou que não havia diferença estatística na diminuição da contaminação por lavagem com água em relação a tratamentos com soluções de saponina a 1% ou ácido acético a 2%. Nas condições do seu estudo, a diminuição da contaminação foi atribuída à remoção mecânica da água

Castillo, A. et al (2001), testaram o uso de ácido láctico a 2 e 4% em carne bovina, por asperção antes e após o resfriamento. O método diminuiu 1,9 log<sub>10</sub>/área na contaminação superficial de *Salmonella* Typhimurium.

De todos os trabalhos apontados, a seguinte citação expõe o principal pensamento a ser considerado:

O uso de muitos compostos microbianos em combinação pode garantir uma boa segurança alimentar, além de diminuir a dose de cada componente no produto. Isso é interessante frente à demanda de consumo. (...) Muitas combinações de compostos ácidos e aromáticos são promissoras. Muitos antimicrobianos,

como o ácido cítrico ou o timol apresentam melhor efeito inibitório do que outros, entretanto nenhum efeito sinérgico foi demonstrado entre eles. Portanto, (...) é importante levar em conta o efeito cumulativo de cada componente quando eles são misturados (NAZER, A.I. et al, 2005).

### 3 REFERÊNCIAS

ALBAN, L. et al. Qualitative and quantitative risk assessment for human salmonellosis due to multi-resistant Salmonella Typhimurium DT104 from consumption of Danish dry-cured pork sausages. **Preventive Veterinary Medicine** 52 (2002) 251–265.

ALBERTS, B. et al. **Biologia Molecular da Célula**. 4 ed. Artmed. São Paulo-SP. p. 1441, 1447. 2006.

ANVISA. **Ministério da Saúde**. Resolução RDC nº12 de 02 de janeiro de 2001.

ARVISU-MEDRANO, S.M. et al. Effect of acid shock with hydrochloric, citric, and lactic acids on the survival and growth of Salmonella Typhi and Salmonella Typhimurium in acidified media. **Journal of Food Protection**. 2005; 68(10): 2047-2053.

BAJAJ, B.K. et al. Incidence of Salmonella in poultry and meats and growth inhibition of Salmonella Enteritidis by organic acids. **Journal of Food Science and Technology – Mysore**. 2003; 40(5):556-558.

BESSA, M.C. et al. Prevalência de Salmonella sp em suínos abatidos em frigoríficos do Rio Grande do Sul. **Pesq. Vet. Brás**. 2004; 24(2):80-84.

CASTAGNA, S.M.F. **Associação da prevalência de suínos portadores de Salmonella sp ao abate e a contaminação de embutidos tipo frescal**. Doutorado. UFRGS. 2004. 110p.

CASTILLO, A.; et al. Lactic acid sprays reduce bacterial pathogens on cold beef carcass surfaces and in subsequently produced ground beef. **Journal of Food Protection**. 2001; 64 (1):58-62.

CONTE, A.P.F. **Seleção de Mutantes de Aspergillus niger Produtores de ácido Cítrico Sensíveis e Resistentes à Cicloheximida e Flucitosina: Análise Metabólica**. Mestrado. Universidade de São Paulo/Ribeirão Preto – Ciências Farmacêuticas. 1999; 1v. 123p.

CORLETT-Jr, D.A. et al. pH and Acidity. In: SILLIKER, J.H. et al. **Microbiol Ecology of Foods**, New York. 1980; 1v : 92-110.



CUTTER, C.N.. Combination spray washes of saponin with water or acetic acid to reduce aerobic and pathogenic bacteria on lean beef surfaces. **Journal of Food Protection.** 1999; 62(3): 280-283.

DORSA, W.J. et al. Long-term bacterial profile of refrigerated ground beef made from carcass tissue, experimentally contaminated with pathogens and spoilage bacteria after hot water, alkaline, or organic acid washes. **Journal of Food Protection.** 1998; 61(12):1615-1622.

DUBAL, Z.B. et al. Effect of food grade organic acids on inoculated *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *E. coli*, and *S. Typhimurium* in sheep/goat meat stored at refrigeration temperature. **Meat Science.** 2004; 66(4): 817-821.

GUERRANT, R.L.. Inflammatory enteritidis. 1985. In: KONEMAN, E.W. et al. **Diagnóstico Microbiológico. Texto e Atlas Colorido.** 5ed. Medsi. p. 210. 2001.  
GOETZ, H. **Aumento de vida útil de carcaças de Frango Resfriadas.** Mestrado. Universidade Federal de Santa Maria – Ciência e Tecnologia de Alimentos. 1995: 1v. 121p..

HA, S.D. et al. The inhibitory effect of propionic acid on the growth response of *Salmonella* Typhimurium. **Food Science and Biotechnology.** 2004; 13(4):504-507.

KANG, S.; et al. Effect of organic acids on microbial populations and *Salmonella* Typhimurium in pork loins. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences.** 2003; 16(1): 96-99.

KING, D.E.; et al. Evaluation of peroxyacetic acid as a post-chilling intervention for control of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* Typhimurium on beef carcass surfaces. **Meat Science.** 2005; 69(3): 401-407.

KONEMAN, E.W. et al. **Diagnóstico Microbiológico. Texto e Atlas Colorido.** 5ed. Medsi. p. 209-211. 2001.

LE MINOR, L.; et al. Individualisation d'une septième sous-espèce de *Salmonella*: *S. choleraesuis* sub indica sub nov. **Annales de institut Pasteur/Microbiologie.** 137B, 211-217. In: AABO, S.; et al. *Salmonella* identifications by polymerase chain reaction. Molecular and cellular probes. 1993; 7: 171-178.

MAKRAS, L; et al. The in vitro inhibition of Gram-negative pathogenic bacteria by *Bifidobacteria* is caused by the production of organic acids. **International Dairy Journal.** 2006; 16(9): 1049-1057.

MARTIN, H. et al. An assessment of the bactericidal and fungicidal efficacy of seventeen mineral and organic acids on bacterial and fungal food industry contaminants. **Sciences des Aliments**. 2005; 25(2): 105-127.

MBANDI, E, et al. Enhanced antimicrobial effects of combination of lactate and diacetate on *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp in beef bologna. **International Journal of Food Microbiology**. 2002; 76(3): 191-198.

NAZER, A.I. et al. Combinations of food antimicrobials at low levels to inhibit the growth of *Salmonella* Typhimurium: a synergistic effect? **Food Microbiology**. 2005; 22(5): 391-398.

OLSEN, J.E. et al. Differences in the carriage and ability to utilize the serotype associated virulence plasmid in strains of *Salmonella* enteric serotype Typhimurium investigated by use of a self-transferable virulence plasmid, pOG669. **Microbial Pathogenesis** 36 (2004) 337–347.

OUATTARA, B. et al. Combined effect of gamma irradiation, ascorbic acid, and edible coating on the improvement of microbial and biochemical characteristics of ground beef. **Journal of Food Protection**. 2004; 65(6):981-987.

PAO, S. et al. Use of bacteriophages to control *Salmonella* in experimentally contaminated sprout seeds. **Journal of Food Science**. 2004; 69(5): M127-M130.

SCHWARZ, P. **Prevalência sorológica e de isolamento de *Salmonella enterica* em suínos abatidos no sul do Brasil.** Mestrado. UFRGS. 2006. 65p.

SPRICIGO, D.A. **Isolamento, quantificação e perfil de resistência de sorovares de *Salmonella* Isolados de lingüiça frescal suína em Lages-SC.** Mestrado. UDESC. 2007. 57p.

SILVA, J.A. et al. Sanitização de Carcaças de Frango com Ácidos Orgânicos Comerciais e Suco de Limão. **Revista TeC Carnes**. 2001; 3(1): 19-26.

SILVERBLATT, F.J. et al. Enterobacteriaceae. 1985. In: KONEMAN, E.W. et al. **Diagnóstico Microbiológico. Texto e Atlas Colorido.** 5ed. Medsi. p. 210. 2001.

SOARES, L. F.. **Utilização de Ácidos Orgânicos na Redução da Carga Microbiana de Carcaças de Frango.** Mestrado. Universidade Federal do Paraíba/João Pessoa – Ciência e Tecnologia de Alimentos. 1997; 1v. 61p.

VAN-WINSEN, R.L.; et al. Mechanisms of *Salmonella* reduction in fermented pig feed. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. 2001; 81(3):342-346.

VAN-IMMERSEEL, J. et al. The use of organic acids to combat *Salmonella* in poultry: a mechanistic explanation of the efficacy. **Avian Pathology**. 2006; 35(3):182-188.

XAVIER, V.A.C.. **Métodos Químicos e Físicos para Prolongamento da Vida Útil de Prateleira da Carne de Frango Refrigerada.** Doutorado. Universidade Estadual de Campinas – Tecnologia de Alimentos. 1997; 1v. 100p.

ZEBRAL, A.A. et al. Ocorrência de *Salmonella* em gânglios linfáticos de suínos aparentemente normais, abatidos no abatedouro de Santa Cruz, Cidade do Rio de Janeiro. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. 1974; n.3/4 (72): 223-235.

#### 4 ARTIGO

### **EFEITO DE DIFERENTES TRATAMENTOS PARA O CONTROLE DA CONTAMINAÇÃO SUPERFICIAL COM *Salmonella* Typhimurium EM CARÇAÇAS SUÍNAS**

Artigo a ser submetido para publicação

**EFEITO DE DIFERENTES TRATAMENTOS PARA O CONTROLE DA  
CONTAMINACAO SUPERFICIAL COM *Salmonella* Typhimurium EM  
CARCAÇAS SUINAS.**

**EFFECT OF DIVERSAL TREATMENTS TO CONTROL *Salmonella* Typhimurium  
SURFACE CONTAMINATION IN PORK CARCASSES.**

GOUVEIA, F.C.<sup>1</sup>; MACHADO, A.R.<sup>1</sup>; PETERLE, H.<sup>1</sup>; ESPÍNDOLA, M.L.<sup>1</sup>; PLIÉSKI,  
C.L.A.<sup>1</sup>; PISSETTI, C.<sup>1</sup>; KICH, J.D.<sup>2</sup>; PICININ, L.<sup>1</sup>; VAZ, E.K.<sup>1</sup>; CARDOSO, M.<sup>3</sup>;  
FERRAZ, S.M.<sup>1</sup>.

**RESUMO**

Suínos portadores assintomáticos são o principal fator de risco para a contaminação de carcaças durante o processamento industrial. Entre as alternativas propostas para serem implementadas no pós-abate, o tratamento térmico e químico das carcaças tem sido proposto. No presente estudo, testou-se o uso de solução de ácidos orgânicos e aplicação de vapor sob pressão, usados isoladamente ou em associação. Porções de pernil foram contaminadas artificialmente com *Salmonella* Typhimurium DT 177 e posteriormente divididas em quatro tratamentos: imersão em solução fisiológica por 5 segundos (controle, T1); imersão em solução fisiológica acrescida de ácidos orgânicos 1000 ppm por 5 segundos(T2); aspersão de vapor sob pressão de 4 bar a temperatura de 140°C (T3); e T3 seguido por T2 (T4). Após o tratamento, uma área de 100cm<sup>2</sup> foi amostrada por meio de suabe para

---

<sup>1</sup> Universidade do Estado de Santa Catarina - UDESC. Lages - SC.

<sup>2</sup> Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA – Suínos e Aves. Concórdia - SC.

<sup>3</sup> Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS. Porto Alegre - RS.

quantificação da *Salmonella* residual pela técnica do número mais provável (NMP). Observou-se que o T4 apresentou melhor resultado entre os tratamentos testados.

**Palavras-chave:** *Salmonella* sp., ácido orgânico, vapor, contaminação superficial.

### ABSTRACT

The contamination in pork meat and other pork products by *Salmonella* sp. is a health public problem, and is a risk factor for the final consumer. Pork without symptom is the principal way to carrier *Salmonella* sp. into slaughterhouses. To control the superficial contamination of pork carcass by *Salmonella* Typhimurium, the use of organic acid solution and pressure of steam, in isolated or associated treatments, were verified in muscle and skin of the carcasses. Was availed the reduction of frequencies of the MPN (Most Probable Number) of *Salmonella* sp. before and after each treatment in the surface of 100cm<sup>2</sup>. The treatment in association of acid solution and pressure of steam showed better result than the same treatment isolated, and in comparing to physiologic solution.

**Keywords:** *Salmonella* sp., organic acid, steam, superficial contamination.

## INTRODUÇÃO

No crescente mercado de produção suína, as agroindústrias procuram garantir aumento de produção aliado à lucratividade e à segurança alimentar do consumidor. Muitas ferramentas de gestão estão disponíveis para o controle de patógenos nos sistemas produtivos, como GMP, HACCP e ISO 22.000. Apesar disso, patógenos que causam toxinfecções alimentares, como *Salmonella enterica*, ainda podem ser isolados em produtos cárneos no Brasil (CASTAGNA, S.M.F. 2004; SPRICIGO, D.A. 2007). A legislação brasileira determina a ausência de *Salmonella* sp. (ANVISA, 2001), porém os sistemas de produção de carnes suínas e derivados ainda enfrentam problemas de contaminação, tanto das carcaças em frigoríficos como ainda dos suínos produzidos a campo. Essas informações vêm ao encontro dos resultados epidemiológicos encontrados por Schwarz, P. (2006), no qual foi observada uma alta prevalência de suínos soropositivos para *Salmonella* sp. ao abate e as conclusões de Castagna, S.M.F. (2004) sobre a importância de suínos portadores de *Salmonella* ao abate e a contaminação de seu produto final. Várias equipes de pesquisa têm avaliado métodos de controle microbiológico em carnes (GOETZ, H., 1995; SILVA, J. A., 1995; SOARES, L.F., 1997; XAVIER, C.V.A., 1997; CONTE, A.P.F, 1999; KANG, S. et al, 2003; ARVISU-MEDRANO, S.M. et al, 2005; VAN-IMMERSEEL, F. et al, 2006) porém, com metodologias diferenciadas e resultados divergentes. Nesse contexto os ácidos orgânicos mostram-se promissores no controle de patógenos por serem uma alternativa de baixo custo e que necessita de ambientes relativamente simples para manipulação. Portanto, com o objetivo de buscar uma alternativa para o controle superficial de *Salmonella* Typhimurium em carcaças suínas artificialmente contaminadas, foram avaliados o

uso de ácidos orgânicos e vapor sob pressão, em tratamentos isolados e em associação.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Delineamento

O estudo foi conduzido no Laboratório de Microbiologia do Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina, no período de junho a agosto de 2008.

Para a realização deste trabalho foram utilizados pernis suínos com pele e artificialmente contaminados por imersão em solução fisiológica estéril contendo  $10^3$  UFC/mL de *Salmonella* Typhimurium – fagotipo DT177. Os pernis foram agrupados em quatro blocos para os devidos tratamentos e para cada tratamento foram realizadas 10 repetições. Após a contaminação em solução com *Salmonella* Typhimurium, aguardou-se 15 minutos e foram colhidas amostras da superfície de  $100\text{cm}^2$  de pele e de musculatura de cada pernil, com uso de suabes estéreis. Os pernis foram submetidos aos tratamentos específicos, e novas amostras foram colhidas após 15 minutos do fim de cada tratamento, com o objetivo de avaliar a variação da quantidade de bactérias por superfície de área.

### Tratamentos

Os pernis previamente contaminados foram submetidos a quatro tratamentos. No tratamento 1 (T1) foi utilizada a imersão em solução fisiológica por 5 segundos,



para o tratamento 2 (T2) foi utilizada a imersão em solução fisiológica ácida a 1000ppm (solução de ácidos orgânicos sendo o principal constituinte o ácido cítrico) por 5 segundos; tratamento 3 (T3) utilizou-se aspersão de vapor sob pressão - 4 bar a 140°C - por 15 segundos; tratamento 4 (T4) foi realizada a associação dos tratamentos T3 seguido do tratamento T2.

### Quantificação de *Salmonella*

Os suabes foram inoculados em 100mL de água peptonada tamponada estéril (APTE). Cada solução foi homogeneizada e a fase líquida repassada para tubos de APTE, segundo a técnica do Número Mais Provável (NMP) por 100mL para série de três tubos, com inóculos de 10, 1 e 0,1mL (BRASIL, 2003). As amostras diluídas foram incubadas por 20 horas a 37°C e após realizado o isolamento da *Salmonella* sp. através do caldo Rappaport-Vassiliadis (42°C por 24 horas) e ágar XLD (37°C por 24 horas), técnica adaptada de *Borowski, L.M.* (2005). Os resultados foram expressos em NMP/100cm<sup>2</sup> de superfície amostrada.

### Análise Estatística

Foram calculadas as freqüências de amostras que reduziram a contagem do NMP de *Salmonella* sp. após o tratamento quando comparadas à contagem inicial. Essas freqüências foram comparadas ao teste exato de Fisher para comparar os tratamentos.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao analisar os resultados obtidos nas contagens na pele, nos quatro casos houve efeito significativo ( $p < 0,05$ ) de tratamento, sendo que o tratamento com ácido (T2) foi o que teve menor eficácia, e o uso simultâneo de vapor mais ácido (T4) foi o mais eficaz (TABELA 1). A TABELA 2 e a FIGURA 1 apresentam as médias das contagens e seus respectivos erros-padrão antes e após cada tratamento. É importante observar que os tratamentos com solução fisiológica (T1) e vapor (T3), apresentaram resultados intermediários e não diferiram significativamente ( $p > 0,05$ ) dos outros dois tratamentos.

A redução das contagens no tratamento com solução fisiológica (T1) pode ser atribuído ao fato da água exercer efeito físico na retirada das células bacterianas de *Salmonella* Typhimurium presentes na superfície de carcaças suínas. Isso reitera o efeito da ação mecânica do líquido na retirada de células bacterianas superficialmente depositadas nos tecidos. Essa observação também foi notada por Cutter, C.N. (1999), em estudo sobre contaminações experimentais superficiais por *Salmonella* Typhimurium em carcaças bovinas. Dessa forma, a ação mecânica dos líquidos durante a lavagem de carcaças antes do resfriamento e armazenagem, pode ser uma medida auxiliar no controle de *Salmonella* sp. Depositada na superficialmente de carcaças durante a atividade de abate.

Na musculatura, os tratamentos com solução fisiológica (T1) e vapor (T3) apenas reduziram a contagem a contagem em aproximadamente 40% das amostras, ao passo que os outros dois tratamentos (T2 e T4) foram mais efetivos, reduzindo a contagem em 100% das repetições (TABELA 1).

**Tabela 1.** Porcentagens de amostras que apresentaram redução na contagem do NMP de *Salmonella* após cada tratamento, tanto na pele como na musculatura das carcaças, retirando-se as amostras com contagens abaixo de 3 NMP.

Tratamento	Pele	Músculo
Solução fisiológica (T1)	87,5% (7/8) <sup>ab</sup>	44,4% (4/9) <sup>b</sup>
Ácido (T2)	50,0% (4/8) <sup>b</sup>	100,0% (10/10) <sup>a</sup>
Vapor (T3)	75,0% (6/8) <sup>ab</sup>	44,4% (4/9) <sup>b</sup>
Vapor+Ácido (T4)	100,0% (10/10) <sup>a</sup>	100,0% (9/9) <sup>a</sup>
Teste Exato de Fisher (P)	0,0486	0,0018

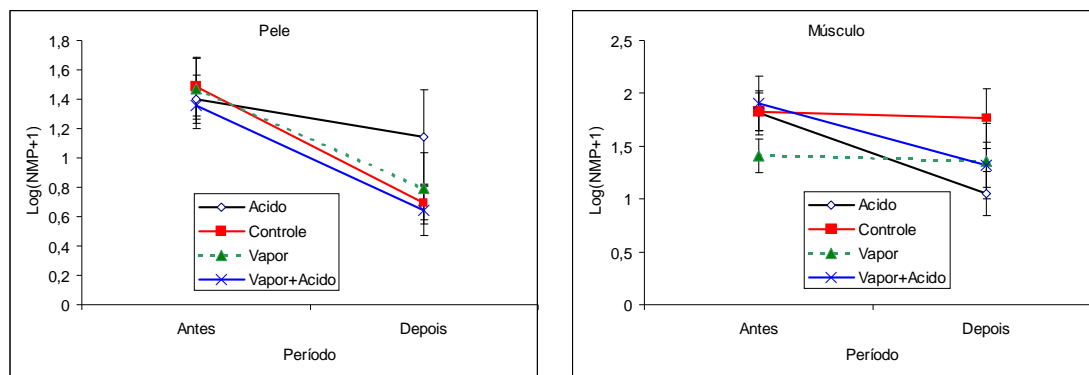
Porcentagens seguidas por letras diferentes nas colunas diferem significativamente pelo teste exato de Fisher ( $p < 0,05$ ).

Ao analisar os resultados do tratamento T1, a frequência de redução da contagem foi maior na pele do que na musculatura. Isso pode ser atribuído ao fato da superfície da pele ser mais uniforme e com menor quantidade de irregularidades para depósito de contaminantes. Esse argumento pode justificar também a menor influência do tratamento T3 na musculatura do que na pele. Aqui também cabe salientar que a irregularidade da superfície pode induzir maior retenção de líquidos, e conseqüente menor homogeneização da distribuição de calor veiculado pelo vapor.

**Tabela 2.** Médias e erros padrões do NMP de *Samonella* antes e após cada tratamento, na pele e na musculatura dos pernis. NMP transformado na escala logarítmica, retirando-se as amostras com contagens abaixo de 3 NMP.

Tratamentos	Nº de repetições	Período	
		Antes	<u>Depois</u>

		<u>Pele</u>	<u>Pele</u>
Ácido	8	1,40±0,17	1,14±0,32
Solução fisiológica	8	1,49±0,20	0,69±0,12
Vapor	8	1,47±0,21	0,79±0,25
Vapor+Ácido	10	1,36±0,16	0,64±0,17
		<u>Músculo</u>	<u>Músculo</u>
Ácido	10	1,82±0,21	1,05±0,20
Solução fisiológica	9	1,83±0,18	1,76±0,28
Vapor	9	1,41±0,16	1,36±0,36
Vapor+Ácido	9	1,90±0,26	1,32±0,22



**Figura 1.** Médias e erros padrões do NMP de *Salmonella* sp. antes e após cada tratamento, na pele e na musculatura dos pernis. NMP transformado na escala logarítmica, retirando-se as amostras com contagens abaixo de 3 NMP.

Apesar de permitir-se inferir que o tratamento com solução ácida (T2) pode induzir a remoção mecânica das salmonelas da mesma forma que a solução fisiológica (T1), o resultado na musculatura apresentou freqüência de redução da média de log de NMP de *Salmonella* Typhimurium maior do que na pele. Portanto,

pode-se sugerir que a solução ácida utilizada em T2 possui ação mais eficaz na musculatura do que na pele. A razão dessa afirmação necessita de mais estudos para comprovação.

As ações isoladas dos tratamentos com vapor sob pressão (T3) e com solução ácida (T2) não foram satisfatórias nesse estudo, sendo um dos motivos para não elucidar os efeitos isolados de cada um desses tratamentos, o baixo número de repetições. Esse estudo não permite definir os ácidos orgânicos como agentes químicos eficazes em tratamentos isolados no controle de *Salmonella Typhimurium* em contaminações superficiais de carcaças suínas. Dessa forma, um novo estudo com novo delineamento é sugerido para informações mais conclusivas.

Nazer, A.I. et al (2005), apontam melhores resultados para o controle microbiológico pela ação sinérgica química e física, fato observado também por Mbandi, E. et al. (2002), com a associação de ácidos orgânicos e baixas temperaturas. Essas informações e a observação na redução do NMP em 100% das repetições em T4 tanto na pele como na musculatura, sugerem que a alta temperatura e a pressão de aspensão do vapor associado à ação química e mecânica da solução ácida, justificam o melhor desempenho do tratamento T4 no controle microbiológico de *Salmonella Typhimurium* na superfície de carcaças suínas.

## **AGRADECIMENTOS**

À equipe do Laboratório de Microbiologia Veterinária da Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC, e à Empresa Brasileira de Pesquisa

Agropecuária - EMBRAPA - Suínos e Aves, em especial ao Dr. Arlei Coldebella pela análise estatística.

## REFERÊNCIAS

ANVISA. **Ministério da Saúde**. Resolução RDC nº12 de 02 de janeiro de 2001.

ARVISU-MEDRANO, S.M. et al. Effect of acid shock with hydrochloric, citric, and lactic acids on the survival and growth of *Salmonella* Typhi and *Salmonella* Typhimurium in acidified media. **Journal of Food Protection**. 2005; 68(10): 2047-2053.

BRASIL. **Ministério da Agricultura**. Instrução Normativa SDA nº62 de 26 de agosto de 2003.

BOROWSKI, L. M. **Comparação de dois métodos de quantificação de *Salmonella* sp. em embutidos suínos.** Mestrado. UFRGS. 2005. 56p.

CASTAGNA, S.M.F. **Associação da prevalência de suínos portadores de *Salmonella* sp ao abate e a contaminação de embutidos tipo frescal.** Doutorado. UFRGS. 2004. 110p.

CONTE, A.P.F. **Seleção de Mutantes de *Aspergillus niger* Produtores de ácido Cítrico Sensíveis e Resistentes à Cicloheximida e Flucitosina: Análise Metabólica.** Mestrado. Universidade de São Paulo/Ribeirão Preto – Ciências Farmacêuticas. 1999; 1v. 123p.

CUTTER, C.N.. Combination spray washes of saponin with water or acetic acid to reduce aerobic and pathogenic bacteria on lean beef surfaces. **Journal of Food Protection**. 1999; 62(3): 280-283.

GOETZ, H. **Aumento de vida útil de carcaças de Frango Resfriadas.** Mestrado. Universidade Federal de Santa Maria – Ciência e Tecnologia de Alimentos. 1995: 1v. 121p..

KANG, S.; et al. Effect of organic acids on microbial populations and *Salmonella* Typhimurium in pork loins. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences.** 2003; 16(1): 96-99.

MBANDI, E, et al. Enhanced antimicrobial effects of combination of lactate and diacetate on *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp in beef bologna. **International Journal of Food Microbiology.** 2002; 76(3): 191-198.

NAZER, A.I. et al. Combinations of food antimicrobials at low levels to inhibit the growth of *Salmonella* Typhimurium: a synergistic effect? **Food Microbiology.** 2005; 22(5): 391-398.

SILVA, J.A. et al. Sanitização de Carcaças de Frango com Ácidos Orgânicos Comerciais e Suco de Limão. **Revista TeC Carnes.** 2001; 3(1): 19-26.

SOARES, L. F.. **Utilização de Ácidos Orgânicos na Redução da Carga Microbiana de Carcaças de Frango.** Mestrado. Universidade Federal do Paraíba/João Pessoa – Ciência e Tecnologia de Alimentos. 1997; 1v. 61p.

VAN-WINSEN, R.L.; et al. Mechanisms of *Salmonella* reduction in fermented pig feed. **Journal of the Science of Food and Agriculture.** 2001; 81(3):342-346.

SCHWARZ, P. **Prevalência sorológica e de isolamento de *Salmonella enterica* em suínos abatidos no sul do Brasil.** Mestrado. UFRGS. 2006. 65p.

SPRICIGO, D.A. **Isolamento, quantificação e perfil de resistência de sorovares de *Salmonella* Isolados de lingüiça frescal suína em Lages-SC.** Mestrado. UDESC. 2007. 57p.

VAN-IMMERSEEL, J. et al. The use of organic acids to combat *Salmonella* in poultry: a mechanistic explanation of the efficacy. **Avian Pathology.** 2006; 35(3):182-188.

XAVIER, V.A.C.. **Métodos Químicos e Físicos para Prolongamento da Vida Útil de Prateleira da Carne de Frango Refrigerada.** Doutorado. Universidade Estadual de Campinas – Tecnologia de Alimentos. 1997; 1v. 100p.

## 5 CONCLUSÃO

1 – A solução fisiológica exerce efeito mecânico de remoção de *Salmonella* Typhimurium em contaminações superficiais de carcaças suínas, tanto na pele como na musculatura. Entretanto, a frequência de redução do NMP nessas contaminações é maior na pele.

2 – Solução ácida a 1000ppm e a aspensão de vapor como agente de controle de *Salmonella* Typhimurium em tratamentos isolados não foram satisfatórios para o controle de contaminações superficiais em carcaças suínas, nesse estudo.

3 – A imersão de carcaças suínas em solução ácida a 1000ppm logo após a aspensão de vapor a 140°C a 4 bar, reduz o Número Mais Provável de *Salmonella* Typhimurium por superfície de área de forma eficiente, tanto na pele como na musculatura.