

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL  
CURSO DE MESTRADO

INFLUÊNCIA DO RETARDO NA EVISCERAÇÃO SOBRE A  
CONTAGEM MICROBIANA EM CARCAÇAS BOVINAS

Alexandre Lopes Junqueira

CAMPO GRANDE - MS

ABRIL – 2020

2020 INFLUÊNCIA DO RETARDO NA EVISCERAÇÃO SOBRE A CONTAGEM MICROBIANA EM CARCAÇAS BOVINAS JUNQUEIRA

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL  
CURSO DE MESTRADO**

**INFLUÊNCIA DO RETARDO NA EVISCERAÇÃO SOBRE A  
CONTAGEM MICROBIANA EM CARCAÇAS BOVINAS**

Influence of delay on evisceration on microbial count in cattle carcasses

**Alexandre Lopes Junqueira**

**Orientadora: Profa. Dra. Marina de Nadai Bonin**

**Co-Orientadora: Profa. Dra. Luciana Miyagusku**

**Co-Orientadora: Profa. Dra. Marjorie Toledo Duarte**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como requisito à obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.  
Área de concentração: Produção Animal.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, pela minha saúde e por me dar forças nos momentos de necessidade.

A meus pais, Vanildo Martins Junqueira e Cleonice Lopes Junqueira, e irmã, Fábria Lopes Junqueira, pelo suporte e apoio incondicional neste projeto.

A minha companheira Tathiana Grotta Furlan pelo incentivo a esta empreita.

A minha orientadora, Prof. Dra. Marina de Nadai Bonin, e a Prof. Dra. Marjorie Toledo Duarte por me receberem e possibilitarem a realização deste trabalho.

A minha co-orientadora, Prof. Dra. Luciana Miyagusku, pelo empenho e paciência em me ensinar e acompanhar nas atividades laboratoriais, muitas vezes a noite e aos fins de semana.

A Universidade Federal de Mato Grosso do Sul e Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia pela estrutura e aprendizado nessa longa caminhada desde a graduação.

A chefe do 7º Serviço de Inspeção de Produtos de Origem Animal do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Dra. Régia Paula Vilaca Queiroz, pela ideia e apoio para a pesquisa.

Ao abatedouro frigorífico que autorizou a coleta das amostras em suas dependências.

Aos auxiliares de inspeção e líderes do setor de abate que foram fundamentais para a coleta das amostras.

A todos vocês, minha enorme gratidão!

"Não é o crítico que importa; não é aquele que aponta como o homem forte fraqueja, ou onde aqueles que realizaram algo poderiam tê-lo feito melhor. O crédito pertence ao homem que encontra-se na arena, cuja face está manchada de poeira, suor e sangue; aquele que esforça-se bravamente; que erra, que se depara com um revés após o outro, pois não há esforço sem erros e falhas; aquele que esforça-se para lograr suas ações, que conhece grande entusiasmo, grandes devoções, que se entrega a uma causa nobre; que, no melhor dos casos, conhece no fim o triunfo da realização grandiosa, e quem, que no pior dos casos, se falhar, ao menos falha ousando grandeza, para que seu lugar jamais seja com aquelas frias e tímidas almas que não conhecem vitória ou fracasso."

Cidadão em uma República, discurso - também conhecido como "O Homem na Arena" - de Theodore Roosevelt, em 23 de abril de 1910 na Universidade de Sorbonne em Paris.

*Epígrafe*

## Resumo

JUNQUEIRA, A.L. Influência do Retardo na Evisceração sobre a Contagem Microbiana em Carcaças Bovinas. 2020. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2020.

Avaliou-se a influência da evisceração retardada na contagem microbiana de carcaças bovinas e a capacidade de carreamento de bactérias de sua superfície externa para a interna via serragem e evisceração. Foram amostradas 90 carcaças, evisceradas com 30 (tempo controle), 60, 90, 120, 150 e 180 min. após a sangria. Foram coletadas amostras da superfície externa antes da evisceração e serragem da carcaça e da superfície interna após esses procedimentos para a contagem de mesófilos, coliformes totais e *Escherichia coli*. A contagem de mesófilos da superfície interna e externa foram maiores em relação ao tempo controle somente com 180 min. de atraso na evisceração. A frequência de UFC quantificáveis de *E. coli* foi maior na superfície interna do que na externa, indicando importância da amostragem dessa superfície nos controles de processo. Sob média de 26,8 °C, durante 180 min. de retardo na evisceração houve aumento nas contagens microbianas não acima dos limites estabelecidos para o consumo humano in natura.

Palavras-chave: coliformes, *E. coli*, mesófilos, translocação bacteriana.

## Abstract

JUNQUEIRA, A.L. Influence of Delay on Evisceration on Microbial Count in Cattle Carcasses. 2020. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2020.

The influence of delayed evisceration on the microbial count of bovine carcasses and the ability to carry bacteria from its external surface to the internal one through sawing and evisceration were evaluated. 90 carcasses were sampled, eviscerated with 30 (control time), 60, 90, 120, 150 and 180 min. after bleeding. Swabs were collected from the external surface of the carcass before evisceration and sawing and from the internal surface after these procedures for counting mesophiles, total coliforms and *Escherichia coli*. The mesophilic count of the internal and external surface were higher in relation to the control time with only 180 min. delay in evisceration. The frequency of quantifiable CFU of *E. coli* was higher on the internal surface than on the external, indicating the importance of sampling this surface in process controls. Under average of 26.8 °C, for 180 min. of delayed evisceration, there was an increase in microbial counts not above the limits established for human consumption *in natura*.

Keywords: bacterial translocation, *E. coli*, coliforms, mesophiles.

## Lista de ilustrações

Figura 01 - Pontos de esfregaços das superfícies interna (A), superfície externa, vista dorsal (B) e ventral (C) .....	47
Figura 02 - Média das contagens de mesófilos em função do tempo .....	49

## Lista de tabelas

Tabela 01 - Médias das contagens de mesófilos aeróbios nas superfícies interna e externa da carcaça de bovinos .....	48
--	----

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	9
1.1. Revisão de Literatura .....	10
1.1.1. Gestão da segurança dos alimentos: princípio da precaução e análise de risco .....	10
1.1.2. Levantamento do amparo legal relativo ao tempo para remoção das vísceras .....	12
1.1.3. Micro-organismos contaminantes e indicadores .....	13
1.1.3.1. Mesófilos aeróbios .....	14
1.1.3.2. Coliformes totais .....	14
1.1.3.3. <i>Escherichia coli</i> .....	15
1.1.4. Método de amostragem .....	16
REFERÊNCIAS .....	18

### **Influência do Retardo na Evisceração sobre a Contagem Microbiana**

<b>em Carcaças Bovinas .....</b>	<b>23</b>
Resumo .....	23
1. Introdução .....	24
2. Material e Métodos .....	26
3. Resultados e Discussão .....	30
4. Conclusões .....	41
5. Referências .....	42
Apêndices .....	46
Apêndice 01 .....	47
Apêndice 02 .....	48
Apêndice 03 .....	49

## 1. INTRODUÇÃO

A demanda por alimentos tem acompanhado o crescimento da população mundial (FAO, 2009; Saath & Fachinello, 2018; San & Combris, 2015). Dentre as fontes de proteína, a carne bovina oferece também com alta biodisponibilidade outros importantes elementos de uma dieta equilibrada, como retinol, vitamina B12, ferro, selênio e zinco (McAfee, *et al.*, 2010; Niyonzima *et al.*, 2016).

O Brasil destaca-se como grande produtor de carne bovina para abastecimento de seu mercado interno e também externo, figurando como um dos líderes na produção e comercialização dessa comóide. No ano de 2018 o Brasil exportou mais de 1,6 milhões de toneladas (ABIEC, 2019).

A carne bovina e seus derivados tem potencial para veicular diversas doenças (Fanalli, 2018), dentre elas as de origem bacteriana (Samulak *et al.*, 2011). No Brasil entre 2009 e 2018 foram responsáveis por 5,4% destas doenças de acordo com dados oficiais do Ministério da Saúde (Brasil, 2019), sabendo-se, contudo que estes dados são subestimados em virtude da baixa notificação (Tondo *et al.*, 2015).

A carne pode ser facilmente contaminada por micro-organismos durante as operações na linha de abate, a manipulação durante o processamento e a estocagem inapropriada (Forsythe, 2013), sendo os próprios animais carreadores de muitos contaminantes, dentre eles os patogênicos (Bier *et al.*, 2018; Zweifel *et al.*, 2014).

O trato gastrintestinal (TGI) de bovinos é colonizado por vasta microbiota (Maki & Picard, 1965), fazendo parte dela micro-organismos patogênicos e com potencial de letalidade (Gansheroff & O'Brien, 2000).

Por esse motivo, a etapa da evisceração é considerada importante dentre os procedimentos sanitários das operações para evitar que o conteúdo do TGI venha a contaminar a carcaça (EUA, 2018). Além da busca por evitar um rompimento acidental e/ou extravasamento de seu conteúdo, preconiza-se que as vísceras sejam removidas o mais rápido possível do interior da carcaça (Regulation (EC) N° 853/2004), pois considera-se que 03 h. após a morte poderia ocorrer disseminação de bactérias a partir do TGI (Paulsen *et al.*, 2011).

Na rotina industrial de um abatedouro diversos fatores podem levar a paralisação da matança, por exemplo, defeitos mecânicos em algum equipamento (Canadá, 2019), falta de abastecimento de energia elétrica e acidentes de trabalho.

34 A translocação bacteriana *in vivo* está bem caracterizada através de estudos  
35 voltados à medicina humana em modelos animais, sabendo-se que ocorre em virtude  
36 de processos patológicos e/ou iatrogênicos (Balzan *et al.*, 2007). A ocorrência deste  
37 fenômeno após a morte é de interesse da medicina forense humana (Palmiere *et al.*,  
38 2016), inclusive com vistas à doação de órgãos (Saegeman *et al.*, 2009).

39 Estudos conduzidos com animais de caça esportiva buscaram estudar os efeitos  
40 na contagem microbiana em função do atraso na remoção das vísceras devido às  
41 condições próprias do ambiente em que ocorre, que faz com que esse procedimento  
42 demore algumas horas, não perceberam relação entre tais variáveis (Avagnina *et al.*,  
43 2012; Soriano *et al.*, 2016; Van der Merwe *et al.*, 2014).

44 Com animais de açougue a literatura científica é pobre. Não está claro o tempo  
45 que se pode tolerar para a retirada das vísceras antes que ocorra disseminação  
46 microbiana nessa espécie e também não há objetiva definição legal quanto ao assunto  
47 no Brasil (Brasil, 2017) e em outros países (Regulation (EC) Nº 853/2004).

48 Além da primordial questão sanitária, o impacto financeiro relativo às  
49 destinações das carcaças que, eventualmente, sofram um retardo na evisceração  
50 deve ser considerado.

51 Sendo assim, esta dissertação tem o objetivo de investigar a influência do retardo  
52 na evisceração sobre a contagem microbiana em carcaças bovinas e o potencial de  
53 carregamento de micro-organismos da superfície externa para a interna pelas  
54 operações de serragem e evisceração. Os resultados obtidos estão expostos na forma  
55 de artigo científico com o título: "Influência do Retardo na Evisceração sobre a  
56 Contagem Microbiológica em Carcaças Bovinas". As normas para confecção do artigo  
57 foram as da revista "Meat Science".

58

## 59 **1.1 Revisão de Literatura**

60

### 61 **1.1.1 Gestão da segurança dos alimentos: princípio da precaução e análise de** 62 **risco**

63

64 A visão mais moderna de gestão da segurança dos alimentos preconiza a  
65 abordagem da análise de risco (Regulation (EC) Nº 178/2002; Todd, 2004).

66 Segundo o Regulamento (CE) Nº 178/2002, a análise de risco define-se como:  
67 um processo constituído por três componentes interligados: avaliação, gestão e

68 comunicação dos riscos. O conceito da etapa de avaliação é: um processo de base  
69 científica constituído por quatro etapas: identificação do perigo, caracterização do  
70 perigo, avaliação da exposição e caracterização do risco. Havendo incertezas em  
71 nível científico, é recomendável a aplicação do “Princípio da Precaução”, que são  
72 medidas provisórias de gestão dos riscos, necessárias ao elevado nível de proteção  
73 da saúde, enquanto se aguardam outras informações científicas que permitam uma  
74 avaliação mais exaustiva dos riscos. Tais medidas devem ser reexaminadas dentro  
75 de um prazo razoável, consoante a natureza do risco para a vida ou a saúde e o tipo  
76 de informação científica necessária para clarificar a incerteza científica e proceder a  
77 uma avaliação mais exaustiva do risco.

78 De acordo com Zweifel *et al.* (2014), para estimar os riscos envolvidos e tomar  
79 as medidas apropriadas, a análise do processo de abate também deve incluir dados  
80 microbiológicos sobre carcaça específicos do matadouro.

81 Portanto, estudar se, de fato, o atraso na remoção das vísceras de uma carcaça  
82 traz consigo um perigo biológico inaceitável devido à contaminação microbiana, vem  
83 atender a primeira etapa da análise de risco, a avaliação do risco, identificando e  
84 caracterizando os perigos envolvidos no retardo da evisceração.

85 Esse estudo pode fornecer dados para a reexaminação da adoção do princípio  
86 da precaução que tem sido utilizado no Brasil nessa matéria, onde tradicionalmente o  
87 Serviço de Inspeção Federal utiliza o tempo de 1 hora como parâmetro de segurança,  
88 a partir do qual as carcaças podem receber uma destinação condicional, como o  
89 tratamento pelo calor, ou até serem condenadas, em casos de atrasos muito  
90 prolongados. Isso em não se tratando de produtos a serem remetidos para países que  
91 possuam definições objetivas sobre a questão, como os membros da União  
92 Econômica Eurasiática (UEE). Em havendo tal definição, se resguarda o atendimento  
93 da legislação do país importador.

94 Destinações alternativas e/ou condenações trazem impacto financeiro e, para  
95 evitar tais destinos, os operadores realizam a evisceração das carcaças nos locais  
96 onde estão na linha de abate, procedimento de grande dificuldade operacional, por  
97 ser realizado em plataformas de alturas inadequadas. A retirada das volumosas e  
98 pesadas vísceras dos bovinos e sua deposição em recipientes móveis especiais,  
99 também predispõe ao rompimento do TGI e contaminações cruzadas.

101 **1.1.2 Levantamento do amparo legal relativo ao tempo para remoção das**  
102 **vísceras**

103

104 A seguir elencamos alguns países e blocos que mencionam este caso em seus  
105 regulamentos sanitários:

106 Brasil: o atualizado Regulamento de Inspeção Sanitária e Industrial de Produtos  
107 de Origem Animal estabelece no inciso 1, do Artigo 118: “Caso ocorra retardamento  
108 da evisceração, as carcaças e vísceras serão julgadas de acordo com o disposto em  
109 normas complementares”. Para bovinos e suínos tais normas complementares,  
110 todavia não foram publicadas (Brasil, 2017).

111 Canadá: a subseção 17.6.8, do capítulo 17 do manual de procedimentos *ante e*  
112 *post mortem*, reconhece que podem ocorrer retardados na evisceração durante as  
113 operações de abate devido a defeitos mecânicos, por exemplo, e nestes casos  
114 preconiza: “se a evisceração ocorrer mais de 120 min após a sangria, uma avaliação  
115 de risco microbiológico na carcaça e suas partes será requerido para que o fabricante  
116 verifique se os níveis são aceitáveis e demonstre que a qualidade dos produtos foi  
117 mantida antes de serem liberados para o comércio” (Canadá, 2019).

118 União Econômica Eurasiática (Armênia, Bielorrússia, Cazaquistão, Quirguistão  
119 e Rússia): a seção “A Respeito do Regulamento Técnico da União Aduaneira sobre a  
120 Segurança da Carne e Produtos Cárneos” da Resolução 68 do Conselho da Comissão  
121 Econômica da Eurásia, estipula: “a evisceração de carcaças deverá ser realizada em  
122 45 min. no máximo para bovinos e suínos, e no máximo em 30 min. para pequenos  
123 ruminantes após a conclusão do processo de sangria de um animal de produção”  
124 (Resolução (UEE) nº 68, 2013);

125 União Europeia: o Regulamento (CE) n.º 853/2004 menciona no item 7, do  
126 capítulo IV da seção I, relativa aos ungulados domésticos: “o atordoamento, a sangria,  
127 a esfolagem, a evisceração e outras preparações devem ser realizadas sem demoras  
128 desnecessárias e de forma a evitar a contaminação da carne”. O mesmo regulamento  
129 admite ainda que se abatam aves de capoeira no local de exploração ou criação e que  
130 as mesmas sejam mantidas por até 15 dias sem evisceração desde que mantidas a  
131 temperaturas não superiores a 4°C.

132 Como se pode perceber não há um consenso universal sobre a questão em  
133 termos legais, muito provavelmente devido ao pobre amparo científico para subsidiar  
134 os órgãos reguladores oficiais. Um estudo que tenha como objetivo fornecer tais

135 subsídios para a tomada de decisão quando das situações que imponham demora no  
136 tempo habitual para a remoção das vísceras, pode colaborar na ausência de  
137 parâmetros legais e, ainda mais, ajudar a estabelecê-los.

138

### 139 **1.1.3 Micro-organismos contaminantes e indicadores**

140

141 Riscos microbianos e os problemas associados a eles são e continuarão a ser  
142 um grande desafio para a segurança da carne no século XXI (Sofos, 2008).

143 A microbiota de um alimento é constituída por micro-organismos associados à  
144 matéria-prima e por contaminantes, que foram adquiridos durante os processos de  
145 manuseio e processamento e que tiveram condições de sobreviver aos processos  
146 aplicados para sua conservação. A maior parte dos alimentos está sujeita a várias  
147 fontes potenciais de micro-organismos, porém pode-se controlar os níveis de  
148 contaminação e manter a microbiota em um número aceitável pela legislação vigente,  
149 com manuseio adequado, conhecimento e emprego de fatores que influenciam o  
150 crescimento de micro-organismos em alimentos, dentre outras ações (Sousa, 2006).

151 Pode-se definir como um alimento seguro aquele cujos constituintes ou  
152 contaminantes que podem causar perigo à saúde estão ausentes ou em  
153 concentrações abaixo do limite de risco (Souza *et al.*, 2005).

154 Os micro-organismos indicadores são comumente utilizados para avaliar as  
155 condições higiênicas de alimentos e sua presença evidencia relação com o histórico  
156 da amostra (Sousa, 2006).

157 Segundo Forsythe (2013), um micro-organismo indicador deve apresentar as  
158 seguintes características:

- 159 • ser de fácil e rápida detecção na amostra;
- 160 • ser facilmente distinguível de outros membros da microbiota presente;
- 161 • estar sempre presente quando o patógeno de interesse estiver presente, com  
162 exceção de números mínimos;
- 163 • possuir características e taxas de crescimento equivalentes às do patógeno.

164 Miliós *et al.* (2014) sugerem que as contagens totais de mesófilos aeróbios, *E.*  
165 *coli* e *Enterobacteriaceae* sejam utilizadas como indicadores de contaminação por  
166 patógenos em carcaças. Dentre as enterobactérias estão os coliformes totais (Franco  
167 & Landgraf, 1996). Cernicchiaro *et al.* (2019) utilizaram *E. coli* e coliformes totais para

168 quantificação de bactérias indicativas de contaminação fecal em abatedouros de  
169 bovinos, além de *Enterobacteriaceae*. Estes autores também utilizaram a contagem  
170 total de mesófilos aeróbios para indicação de contaminação ambiental.

171

### 172 **1.1.3.1 Mesófilos aeróbios**

173

174 Contagens de mesófilos aeróbios em placas frequentemente são usadas como  
175 indicadores para monitorar a higiene de toda a produção da carne (Ghafir *et al.*, 2008).

176 Essas bactérias são indicadores gerais da qualidade higiênico-sanitária dos  
177 alimentos e seu número elevado, mesmo que ainda não exista alterações perceptíveis  
178 sensorialmente no alimento, evidencia a contaminação potencial por diversos tipos de  
179 micro-organismos, inclusive patogênicos (Pinheiro *et al.*, 2016), uma vez que a maior  
180 parte destes estão nesta categoria (Jay, 2005).

181 Além da faixa de temperatura (mesófilos) e potencial de oxirredução (aeróbios)  
182 outros fatores intrínsecos

183 Intestinos de bovinos podem ter entre 5,9 e 9,8 Log UFC de bactérias mesófilas  
184 por grama de seu conteúdo (Maki & Picard, 1965).

185 Segundo Zweifel *et al.* (2014), no caso de abate de bovinos uma fonte importante  
186 de contaminação por estes micro-organismos é a pele e durante a esfolagem importantes  
187 patógenos promotores de doenças alimentares podem ser transferidos para a  
188 carcaça. Este autor encontrou contagens entre 5.0 e 6.1 LogUFC/cm<sup>2</sup> de mesófilos  
189 aeróbios na pele de bovinos abatidos.

190 O ar também é fonte desses contaminantes, Jericho *et al.* (2000) encontraram  
191 11,5 UFC/l de ar na área de esfolagem de um abatedouro. Já Sofos *et al.* (1999)  
192 encontraram médias de 2 UFC após 5 min. de exposição do meio de cultura no setor  
193 de esfolagem em 7 frigoríficos. Nas carcaças estes autores encontraram a grande maioria  
194 das contagens na ordem de 4 LogUFC/cm<sup>2</sup> em amostras coletadas de carcaças em 3  
195 pontos diferentes nas plantas industriais pesquisadas.

196

### 197 **1.1.3.2 Coliformes totais**

198

199 Entre 2009 e 2018, os coliformes totais foram responsáveis por 6,5% das DTAs  
200 no Brasil, segundo dados oficiais do Ministério da Saúde (Brasil, 2019)

201 O grupo dos coliformes constitui o indicador de contaminação fecal mais  
202 frequentemente utilizado, sendo empregado, há mais de cem anos, como parâmetro  
203 bacteriano, na definição de padrões para a caracterização e avaliação da qualidade  
204 de águas e alimentos. Esse grupo inclui bactérias de origem unicamente fecal e outras  
205 que, além de habitarem o trato intestinal de animais de sangue quente, habitam  
206 também outros ambientes, como vegetais e solo. Sendo assim, a presença de  
207 coliformes totais pode estar relacionada a práticas inadequadas de sanitização e  
208 processamento desses produtos ou mesmo à sua recontaminação, após esses  
209 procedimentos (Franco & Landgraf, 1996).

210 Sofos *et al.* (1999) encontraram em média de 0,3 UFC de coliformes totais, após  
211 5 min. de exposição do meio de cultura ao ar da área de esfola em salas de abate de  
212 7 frigoríficos. Nas carcaças a grande maioria de suas contagens foram de 2  
213 LogUFC/cm<sup>2</sup> em três locais diferentes dentro das indústrias pesquisadas.

214

### 215 **1.1.3.3 *Escherichia coli***

216

217 A *Escherichia coli* (*E. coli*) é responsável por 24% das DTAs no Brasil, segundo  
218 dados do Ministério da Saúde entre 2009 e 2018 (Brasil, 2019).

219 É o micro-organismo de escolha como melhor indicador de contaminação fecal,  
220 uma vez que é de fácil isolamento nos meios de cultura convencional (Sousa, 2006).

221 Ghafir *et al.* (2008) concluíram que a *E. coli* pode ser considerada um bom  
222 indicador para agentes zoonóticos entéricos para amostras de carne bovina, suína e  
223 de aves, tanto quanto a *Salmonella*.

224 Essa bactéria pode estar limitada à colonização de superfícies mucosas ou se  
225 disseminar pelo organismo, tendo sido implicada em processos de infecção, meningite  
226 e infecções gastro-intestinais. Seus patótipos incluem: i) *E. coli* enteropatogênica  
227 (EPEC); ii) *E. coli* enteropatogênica atípica (A-EPEC); iii) *E. coli* enterotoxigênica  
228 (ETEC); iv) *E. coli* enterohemorrágica (EHEC); v) *E. coli* enteroinvasiva (EIEC); vi) *E.*  
229 *coli* de adesão difusa (DAEC); vii) *E. coli* enteroagregativa (EAEC). Vários sorotipos  
230 têm sido implicados em doenças diarreicas, se constituindo num grave problema de  
231 saúde pública no mundo, causando quantidade expressivas de mortes a cada ano  
232 (Nataro e Kaper, 1998).

233 Dentre as enterohemorrágicas produtoras de Shiga toxina, encontra-se a mais  
234 perigosa cepa de *E. coli* para os seres humanos, a O157:H7, que pode causar a

235 síndrome urêmica hemolítica, muitas vezes de curso letal (Gansheroff & O'Brien,  
236 2000)

237 Em amostras de esfregaço de superfície de carcaças, colhidas em 3 pontos  
238 diferentes na linha de abate de bovinos, Sofos *et al.* (1999) encontraram mais de 74%  
239 das contagens de *E. coli* na ordem de 1 LogUFC/cm<sup>2</sup>.

240

#### 241 **1.1.4 Método de amostragem**

242

243 Segundo Milios *et al.* (2014), para implementar um sistema de monitoramento  
244 adequado, podem ser utilizadas técnicas não destrutivas de amostragem de carcaça  
245 em vez da excisão (retirada de partes da carcaça). A recuperação microbiana pode  
246 ser menor, mas é proporcional à recuperação por excisão e, portanto, técnicas não  
247 destrutivas, como a do esfregaço de superfície, são um método prático e  
248 recomendável de amostragem para estimativa de indicadores microbianos durante o  
249 procedimento de abate e avaliação da higiene.

250 Para a técnica de esfregaço de superfície podem ser utilizados bastões com  
251 algodão estéril fixado na ponta como material absorvente, esponjas absorventes, gaze  
252 e outros materiais (Gill & Jones, 2000).

253 Gill & Jones (2000) não encontraram diferença estatística entre as quantidades  
254 de bactérias recuperadas em laboratório após esfregaço com swab de algodão e as  
255 recuperadas por esfregaço com esponja e gaze, ainda que reporte que os números  
256 recuperados com o primeiro método estejam na extremidade inferior ou abaixo da  
257 faixa dos recuperados com os demais.

258 Ghafir *et al.* (2008) utilizaram swabs de algodão comuns em seus experimentos  
259 e foram capazes de recuperar de maneira satisfatória bactérias mesófilas,  
260 *Enterobacteriaceae* e *E. coli*. Santos *et al.* (2017) também utilizaram a técnica de  
261 esfregaço com swabs estéreis de algodão em seus estudos e detectaram com  
262 sucesso bactérias mesófilas aeróbias estritas e facultativas, coliformes  
263 termotolerantes e *Staphylococcus aureus*.

264 Miraglia *et al.* (2005) avaliando se a redução na área amostrada usando o  
265 método não destrutivo de esfregaço com swab de algodão pode influenciar o número  
266 de bactérias recuperadas na superfície de carcaças em comparação com o método  
267 de excisão, verificou que amostragens de sítios de 25 cm<sup>2</sup> apresentaram contagens

268 maiores que aqueles com 100 cm<sup>2</sup>. Já a ISO 17604:2015 padroniza 400 cm<sup>2</sup> totais  
269 para amostragem de meias-carcaças.

270

## REFERÊNCIAS

271  
272  
273  
274  
275  
276  
277  
278  
279  
280  
281  
282  
283  
284  
285  
286  
287  
288  
289  
290  
291  
292  
293  
294  
295  
296  
297  
298  
299  
300  
301  
302  
303  
304  
305  
306  
307  
308  
309  
310  
311  
312  
313  
314  
315

- Associação Brasileira das Industrias Exportadoras (ABIEC). Exportações brasileiras de carne bovina fecham 2018 com recorde histórico, 2019. Disponível em: <<http://www.abiec.com.br/download/exportacoes%20fecham%20com%20recorde.pdf>>. Acesso em: 11 dez. 2019.
- Avagnina, A., et al. The microbiological conditions of carcasses from large game animals in Italy. *Meat Science*, v. 91, p. 266–271, 2012 Disponível em <<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.01.025>> Acesso em 08 mar. 2020.
- Balzan, S et al. Bacterial translocation: Overview of mechanisms and clinical impact. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, v. 22, p. 464-471, 2007. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/j.1440-1746.2007.04933.x>>. Acesso em 08 mar. 2020.
- Behrens, J. H. et al. Consumer purchase habits and views on food safety: A Brazilian study. *Food Control*, v. 21, p. 963-969, 2010. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2009.07.018>>. Acesso em 08 mar. 2020.
- Bier, D. et al. (2018). Survey of *Salmonella spp.* in beef meat for export at slaughterhouses in Brazil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 38, n. 11, p. 2037-2043, 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/1678-5150-pvb-5867>>. Acesso em 08 mar. 2020.
- BRASIL. Surtos de Doenças transmitidas por alimentos no Brasil. Informe 2018. *Ministério da Saúde*. Disponível em: <<http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2019/maio/17/Apresentacao-Surtos-DTA-Maio-2019.pdf>>. Acesso em 11 dez. 2019.
- BRASIL. Decreto nº 9.013/2017. Regulamento de inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*. Poder Executivo, Brasília, DF, 30 mar. 2017.
- CANADA. Archived food guidance, Chapter 17: Ante and Post-mortem Procedures, Dispositions, Monitoring and Controls - Meat Species, Ostriches, Rheas and Emus. *Canadian Food and Inspection Agency*. Disponível em: <<https://www.inspection.gc.ca/food/archived-food-guidance/meat-and-poultry-products/manual-of-procedures/chapter-17/eng/1367723343665/1367723573062?chap=7#s26c7>>. Acesso em 11 dez. 2019.
- Cernicchiaro, N. et al. Quantification of Bacteria Indicative of Fecal and Environmental Contamination from Hides to Carcasses. *Foodborne Pathogens and Disease*, v. 16, n. 12, p. 844-855, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1089/fpd.2019.2656>>. Acesso em 08 mar. 2020.

- 316 ESTADOS UNIDOS DA AMÉRICA (EUA). Meat and Poultry Hazards and Controls  
317 Guide. *Food Safety and Inspection Service, United States Department of Agriculture*,  
318 mar., 2018. Disponível em: <[https://www.fsis.usda.gov/wps/wcm/connect/3cd0a6a5-  
319 fcff-4809-a298-  
320 030f3cd711a9/Meat\\_and\\_Poultry\\_Hazards\\_Controls\\_Guide\\_10042005.pdf?MOD=A  
321 JPERES](https://www.fsis.usda.gov/wps/wcm/connect/3cd0a6a5-fcff-4809-a298-030f3cd711a9/Meat_and_Poultry_Hazards_Controls_Guide_10042005.pdf?MOD=AJPERES)>. Acesso em 11 dez. 2019.
- 322 Fanalli, S. L. Perfil de consumo e percepção dos consumidores de carne:  
323 consequências sobre a saúde pública. *Revista Científica de Medicina Veterinária*, v.  
324 31, 2018. Disponível em:  
325 <[http://faef.revista.inf.br/imagens\\_arquivos/arquivos\\_destaque/7YgU5DLnagIDsvr\\_2  
326 018-9-19-8-41-24.pdf](http://faef.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/7YgU5DLnagIDsvr_2018-9-19-8-41-24.pdf)>. Acesso em 08 mar. 2020.
- 327
- 328 Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO). How to Feed  
329 the World in 2050. High-Level Expert Forum, 2009. Disponível em:  
330 <<http://www.fao.org/wsfs/forum2050/wsfs-forum/pt/>>. Acesso em 11 dez. 2019.
- 331
- 332 Forsythe, S. J. *Microbiologia da Segurança dos Alimentos*. (2ª ed.). Porto Alegre:  
333 Artmed. E-book, p. 148, 2013. Disponível em:  
334 <[https://books.google.com.br/books?hl=pt-  
335 BR&lr=&id=KKY5AgAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA3&dq=microbiologia+da+seguran%C3  
336 %A7a+dos+alimentos&ots=--  
337 MKeEyBB2&sig=NzfrFIWrd8N3LGjrn9RUnxvdTEc#v=onepage&q=microbiologia%20  
338 da%20seguran%C3%A7a%20dos%20alimentos&f=false](https://books.google.com.br/books?hl=pt-BR&lr=&id=KKY5AgAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA3&dq=microbiologia+da+seguran%C3%A7a+dos+alimentos&ots=--MKeEyBB2&sig=NzfrFIWrd8N3LGjrn9RUnxvdTEc#v=onepage&q=microbiologia%20da%20seguran%C3%A7a%20dos%20alimentos&f=false)>. Acesso em 11 dez. 2019.
- 339
- 340 Franco, B. D. G. M.; Landgraf, M. *Microbiologia dos alimentos*. (1ª ed.). São Paulo:  
341 Atheneu. 186p., 1996. Disponível em:  
342 <<https://drive.google.com/file/d/0ByedtynnbmhGQVRqRXDjcUNNS0U/view>>. Acesso  
343 em 08 mar. 2020.
- 344
- 345 Gansheroff, L. J.; O'Brien, A. D. (2000). *Escherichia coli* O157:H7 in beef cattle  
346 presented for slaughter in the U.S.: Higher prevalence rates than previously estimated.  
347 *Proceedings of the National Academy of Sciences of America (PNAS)*, v. 97, n. 7, p.  
348 959-2961, 2000. Disponível em: <<https://doi.org/10.1073/pnas.97.7.2959>>. Acesso  
349 em 08 mar. 2020.
- 350
- 351 Ghafir Y. et al. Hygiene Indicator Microorganisms for Selected Pathogens on Beef,  
352 Pork, and Poultry Meats in Belgium. *Journal of Food Protection*, v. 71, n. 1, p. 35-45,  
353 2008. Disponível em: <<https://doi.org/10.4315/0362-028X-71.1.35>>. Acesso em 08  
354 mar. 2020.
- 355
- 356 Gill, C. O.; Penney, N.; Nottingham, P. Effect of delayed evisceration on the microbial  
357 quality of meat. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 31, n. 4, p. 465-468, 1976.  
358 Disponível em: <<https://aem.asm.org/content/aem/31/4/465.full.pdf>>. Acesso em 08  
359 mar. 2020.
- 360
- 361 Gill, C. O.; Penney, N.; Nottingham, P. Tissue sterility in uneviscerated carcasses.  
362 *Applied and Environmental Microbiology*, v. 36, n. 2, p. 356-359, 1978. Disponível em:  
363 <<https://aem.asm.org/content/aem/36/2/356.full.pdf>>. Acesso em 08 mar. 2020.
- 364

- 365 Gill, C. O.; Penney, N. Survival of bacteria in carcasses. *Applied and Environmental*  
366 *Microbiology*, v. 37, n. 4, p. 667-669, 1979. Disponível em:  
367 <<https://aem.asm.org/content/aem/37/4/667.full.pdf>>. Acesso em 08 mar. 2020.  
368
- 369 Gill, C. O.; Penney, N. Microbial contamination of the abdominal cavity in commercial  
370 carcasses subject to delays before evisceration. *New Zealand Veterinary Journal*, v.  
371 30, n. 10, p. 163, 1982. Disponível em:  
372 <<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/00480169.1982.34928>>. Acesso em  
373 08 mar. 2020.  
374
- 375 Gill, C. O.; Jones, T. Microbiological Sampling of Carcasses by Excision or Swabbing.  
376 *Journal of Food Protection*, v. 63, n. 2, p. 167-173, 2000. Disponível em:  
377 <<https://doi.org/10.4315/0362-028X-63.2.167>>. Acesso em 08 mar. 2020.  
378
- 379 Organização Internacional para Padronização (ISO) 17604:2015. Microbiology of the  
380 food chain – Carcass sampling for microbiological analysis. International Organization  
381 for Standardization. 2ª ed., 13 p., 2015.  
382
- 383 Jay, J. M. (2005). *Microbiologia dos Alimentos* (6ª ed.). Porto Alegre: Editora Artmed,  
384 711 p.  
385
- 386 Jericho, K. W. F.; Ho, J.; Kozub, G. C. Aerobiology of a High-Line Speed Cattle  
387 Abattoir. *Journal of Food Protection*, v. 63, n.11, p. 1523-1528, 2000. Disponível em:  
388 <<https://doi.org/10.4315/0362-028X-63.11.1523>>. Acesso em 08 mar. 2020.  
389
- 390 Maki, L.R.; Picard, K. Normal intestinal flora of cattle fed high-roughage rations.  
391 *Journal of Bacteriology*, v. 89, n. 5, p. 1244-1249, 1965. Disponível em:  
392 <<https://jb.asm.org/content/jb/89/5/1244.full.pdf>>. Acesso em 08 mar. 2020.  
393
- 394 McAfee, A. J. et al. Red meat consumption: An overview of the risks and benefits. *Meat*  
395 *Science*, v. 84, p. 1-13, 2010. Disponível em:  
396 <<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2009.08.029>>. Acesso em 08 mar. 2020.  
397
- 398 Milios, K. T.; Drosinos, E. H.; Zoiopoulos, P. E. Food Safety Management System  
399 validation and verification in meat industry: Carcass sampling methods for  
400 microbiological hygiene criteria – A review. *Food Control*, v. 43, p. 74-81, 2014.  
401 Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.02.041>>. Acesso em 08 mar.  
402 2020.  
403
- 404 Miraglia, D. et al. Comparison between carcass microbial load recovered by swabbing  
405 surfaces of different size and using the reference excision method. *Veterinary*  
406 *Research Communications*, v. 29, n. 2, p. 339–341, 2005. Disponível em:  
407 <<https://doi.org/10.1007/s11259-005-0076-3>>. Acesso em 08 mar. 2020.  
408
- 409 Nataro, J. P.; Kaper, J. B. Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clinical Microbiology*  
410 *Reviews*, v. 11, n. 1, p. 142-201, 1998. Disponível em:  
411 <<https://doi.org/10.1128/CMR.11.1.142>>. Acesso em 08 mar. 2020.  
412

- 413 Niyonzima, E. et al. Daily intake and bacteriological quality of meat consumed in the  
414 households of Kigali, Rwanda. *Food Control*, v. 69, p. 108-114, 2016. Disponível em:  
415 <<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.04.042>>. Acesso em 08 mar. 2020.  
416
- 417 Palmiere, C. et al. Bacterial Translocation and Sample Contamination in Postmortem  
418 Microbiological Analyses. *J Forensic Sci*, v. 61, p. 367-374, 2016. Disponível em:  
419 <<https://doi.org/10.1111/1556-4029.12991>>. Acesso em 08 mar. 2020.  
420
- 421 Paulsen, P. et al. *Game Meat Hygiene in Focus. Microbiology, Epidemiology, Risk*  
422 *Analysis and Quality Assurance*. 1ª ed., Wageningen, Netherlands, Wageningen  
423 Academic Publishers, seção 1, 2011. doi 10.3920/978-90-8686-723-3  
424
- 425 Pinheiro, N.; Ribeiro, A.; Sartori, G. Controle de qualidade microbiológico na cadeia  
426 de abate de bovinos. *SaBios-Revista de Saúde e Biologia*, v. 11, n. 1, p. 1-11, 2016.  
427 Disponível em:  
428 <<http://revista2.grupointegrado.br/revista/index.php/sabios2/article/view/1386>>.  
429 Acesso em 11 dez. 2019.  
430
- 431 UNIÃO EUROPÉIA. Regulation (EC) N° 178/2002 of the European Parliament and of  
432 the Council of 28 January laying down the general principles and requirements of food  
433 law, establishing the European Food Safety Authority and laying down procedures in  
434 matters of food safety. *Official Journal of the European Union*, 28 jan. 2002.  
435
- 436 UNIÃO EUROPÉIA. Regulation (EC) N° 853/2004 of the European Parliament and of  
437 the Council of 29 April 2004 laying down specific hygiene rules for food of animal origin.  
438 *Official Journal of the European Union*, 25 jun. 2004.  
439
- 440 UNIÃO ECONÔMICA EURASIÁTICA. Resolução N° 68/2013 do Conselho da  
441 Comissão Econômica da Eurásia de 9 de outubro de 2013 a respeito do Regulamento  
442 Técnico da União Aduaneira sobre a Segurança da Carne e de Produtos Cárneos 9  
443 nov. 2013.  
444
- 445 Saath, K. C. O.; Fachinello, A. L. Crescimento da demanda mundial de alimentos e  
446 restrições do fator terra no Brasil. *Revista de Economia e Sociologia Rural*, v. 56, n. 2,  
447 p. 195-212, 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/1234-56781806-94790560201>>. Acesso em 08 mar. 2020.  
448  
449
- 450 Saegeman, V., et al. Influence of postmortem time on the outcome of blood cultures  
451 among cadaveric tissue donors. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious*  
452 *Diseases*, v. 28, p. 161–168, 2009. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s10096-008-0609-0>>. Acesso em 08 mar. 2020.  
453  
454
- 455 Samulak, R. L. et al. Condição higiênico-sanitária de abatedouro frigorífico e fábrica  
456 de embutidos no estado do Paraná. *Revista Brasileira Tecnologia Agroindustrial*, v.  
457 05, p. 408-417, 2011. Disponível em:  
458 <<https://periodicos.utfpr.edu.br/rbta/article/view/940/717>>. Acesso em 08 mar. 2020.  
459
- 460 San, P.; Combris, P. World meat consumption patterns: An overview of the last fifty  
461 years (1961–2011). *Meat Science*, v. 109, p. 106-11, 2015. Disponível em:  
462 <<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2015.05.012>>. Acesso em 08 mar. 2020.

- 463 Santos, R. L.; Palma, J. M.; Santana, A. P. Avaliação da qualidade higienicossanitária  
464 de carcaças de bovinos oriundos de abatedouros frigoríficos do distrito federal e  
465 entorno. *Higiene Alimentar*, v. 31, n. 272/273, p. 80-83, 2017.  
466
- 467 Sofos, J.N. et al. Sources and extent of microbiological contamination of beef  
468 carcasses in seven United States slaughtering plants. *Journal of Food Protection*, v.  
469 62, p. 140–145, 1999. Disponível em: <<https://doi.org/10.4315/0362-028X-62.2.140>>.  
470 Acesso em 08 mar. 2020.  
471
- 472 Sofos, J.N. Challenges to meat safety in the 21st century. *Meat Science*, v. 78, n. 1-2,  
473 p. 3–13, 2008. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.07.027>>.  
474 Acesso em 08 mar. 2020.  
475
- 476 Sousa, C. P. Segurança alimentar e doenças veiculadas por alimentos: utilização do  
477 grupo coliforme como um dos indicadores de qualidade de alimentos. *Revista APS –*  
478 *Atenção Primária a Saúde*, v. 9, n. 1, p. 83-88, 2006.  
479
- 480 Souza, E. L.; Silva, C. A.; Sousa, C. P. Bacteriocins: molecules of fundamental impact  
481 on the microbial ecology and potential food biopreservatives. *Brazilian Archives of*  
482 *Biology and Technology*, v. 48, n. 4, p. 559-566, 2005. Disponível em:  
483 <<https://dx.doi.org/10.1590/S1516-89132005000500008>>. Acesso em 08 mar. 2020.  
484
- 485 Soriano, A. et al. Influence of evisceration time and carcass ageing conditions on wild  
486 venison quality. Preliminary study, *Meat Science*, v. 114, p. 130-136, 2016. Disponível  
487 em: <<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2015.12.021>>. Acesso em 08 mar. 2020.  
488
- 489 Todd, E. C. D. Microbiological safety standards and public health goals to reduce  
490 foodborne disease. *Meat Science*, v. 66, n. 1, p. 33-43, 2004. Disponível em:  
491 <[https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(03\)00023-8](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(03)00023-8)>. Acesso em 08 mar. 2020.  
492
- 493 Tondo, E. et al. Avanços da segurança de alimentos no Brasil. *Vigilância Sanitária Em*  
494 *Debate: Sociedade, Ciência & Tecnologia*, v. 3, n. 2, p. 122-130, 2015. Disponível em:  
495 <<https://doi.org/10.3395/2317-269x.00443>>. Acesso em 08 mar. 2020.  
496
- 497 Van der Merwe, M. et al. The Hygienic Practices Involved in Three Game Meat  
498 Production Systems in South Africa Based on Environmental and other Independent  
499 Variables. *J Veterinar Sci Technol*, v. 5, n. 3, p. 176, 2014. Disponível em:  
500 <<http://dx.doi.org/10.4172/2157-7579.1000176>>. Acesso em 08 mar. 2020.  
501
- 502 Verbeke, W. et al. European beef consumers' interest in a beef eating-quality  
503 guarantee Insights from a qualitative study in four EU countries. *Appetite*, v. 54, p. 289-  
504 296, 2010. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.appet.2009.11.013>>. Acesso em  
505 08 mar. 2020.  
506
- 507 Zweifel, C.; Capek, M.; Stephan, R. (2014). Microbiological contamination of cattle  
508 carcasses at different stages of slaughter in two abattoirs. *Meat Science*, v. 98, n. 2,  
509 p. 198-202, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.05.029>>.  
510 Acesso em 08 mar. 2020.  
511

512 **Influência do Retardo na Evisceração sobre a Contagem Microbiana**  
513 **em Carcaças Bovinas**

514

515 A.L. Junqueira<sup>a</sup>, M.N. Bonin<sup>a</sup>, L. Miyagusku<sup>b</sup>, M.T. Duarte<sup>a</sup>

516

517 <sup>a</sup> Laboratório de Tecnologia e Processamento da Carne, Faculdade de Medicina Veterinária e  
518 Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Av. Sen. Filinto Müller, 2443 - 79070-900 -  
519 Campo Grande - MS, Brasil

520 <sup>b</sup> Unidade de Tecnologia de Alimentos e Saúde Pública, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul,  
521 Av. Costa e Silva, s/n<sup>o</sup> – Bairro Universitário, 79070-900 - Campo Grande - MS, Brasil

522

523

524 **RESUMO**

525

526

527 Avaliou-se a influência da evisceração retardada na contagem microbiana de carcaças

528 bovinas e a capacidade de carreamento de bactérias de sua superfície externa para

529 a interna via serragem e evisceração. Foram amostradas 90 carcaças, evisceradas

530 com 30 (tempo controle), 60, 90, 120, 150 e 180 min. após a sangria. Foram coletadas

531 swabs da superfície externa antes da evisceração e serragem da carcaça e da

532 superfície interna após esses procedimentos para a contagem de mesófilos,

533 coliformes totais e *Escherichia coli*. A contagem de mesófilos da superfície interna e

534 externa foram maiores em relação ao tempo controle somente com 180 min. de atraso

535 na evisceração. A frequência de UFC quantificáveis de *E. coli* foi maior na superfície

536 interna do que na externa, indicando importância da amostragem dessa superfície nos

537 controles de processo. Sob média de 26,8 °C, durante 180 min. de retardo na

538 evisceração houve aumento nas contagens microbianas não acima dos limites

539 estabelecidos para o consumo humano *in natura*.

540

541 Palavras-chave: coliformes, *E. coli*, mesófilos, translocação bacteriana.

542

## 543 1 Introdução

544

545 Consumidores em todo mundo estão atentos à qualidade e segurança dos  
546 alimentos e às doenças por eles veiculadas (Behrens, Barcellos, Frewer, Nunes,  
547 Franco *et al.*, 2010; Verbeke, Wezemael, Barcellos, Kügler, Hocquette *et al.*, 2010). A  
548 carne bovina e seus derivados, quando não processados de forma adequada, tem  
549 potencial para veicular doenças, sendo os riscos microbianos, grandes desafios para  
550 a sua segurança (Fanalli, 2018; Sofos, 2008).

551 O trato gastrintestinal (TGI) de bovinos é colonizado por vasta microbiota (Maki  
552 & Picard, 1965), fazendo parte dela micro-organismos patogênicos e com potencial  
553 de letalidade (Gansheroff & O'Brien, 2000). Por esse motivo, a etapa da evisceração  
554 é considerada importante dentre os procedimentos sanitários das operações de abate  
555 para evitar que o conteúdo do TGI venha a contaminar a carcaça (BRASIL, 2017;  
556 EUA, 2018). Além da busca por evitar um rompimento acidental e/ou extravasamento  
557 de seu conteúdo, preconiza-se que as vísceras sejam removidas o mais rápido  
558 possível do interior da carcaça (Regulation (EC) N° 853/2004), pois há o risco de que  
559 após certo tempo da morte do animal possa ocorrer disseminação de bactérias a partir  
560 do TGI (Paulsen, Bauer, Vodnasnky, Winkelmayr & Smulders, 2011).

561 Na rotina industrial de um abatedouro, diversos fatores podem levar a  
562 paralização da matança como defeitos mecânicos em algum equipamento (Canada,  
563 2019), falta de abastecimento de energia elétrica e acidentes de trabalho, fazendo  
564 com que haja atraso nas rotinas do abate, incluindo a evisceração. Desta maneira,  
565 são necessários estudos sobre a contaminação e translocação bacteriana em  
566 carcaças submetidas a essas condições a fim de se avaliar a viabilidade da destinação  
567 das mesmas ao consumo humano.

568 A translocação bacteriana *in vivo* está bem caracterizada através de estudos  
569 voltados à medicina humana em modelos animais, sabendo-se que ocorre em virtude  
570 de processos patológicos e/ou iatrogêncios (Balzan, De Almeida Quadros, De Cleva,  
571 Zilberstein & Cecconello, 2007). A ocorrência deste fenômeno após a morte também  
572 tem sido de interesse da medicina forense humana (Palmiere, Egger, Prod'Hom &  
573 Greub (2016), inclusive com vistas a doação de órgãos (Saegeman, Verhaegen,  
574 Lismont, Verduyckt, De Rijdt *et al.*, 2009). No entanto, com animais de açougue, a  
575 literatura científica é escassa, sendo relatados estudos apenas com animais de caça,  
576 em condições bastante distintas de um matadouro-frigorífico (Avagnina, Nucera,  
577 Grassi, Ferroglio, Dalmaso *et al.*, 2012; Soriano, Montoro, Vicente, Sánchez-  
578 Migallón, Benítez *et al.*, 2016; Van der Merwe, Hoffman, Jooste & Calitz, 2014). Desta  
579 maneira, há a necessidade de estudos com bovinos sobre o tempo máximos para  
580 retirada das vísceras para que não ocorra disseminação microbiana na carcaça.

581 Sendo assim, o objetivo do presente estudo foi investigar a influência de  
582 diferentes tempos de retardo na evisceração sobre a contagem microbiana nas  
583 superfícies interna e externa de carcaças da espécie bovina, assim como investigar a  
584 capacidade de carreamento de micro-organismos da superfície externa para a interna  
585 pelas operações de serragem e evisceração.

586

## 587 2 Material e Métodos

588

### 589 2.1. Animais e condições de abate

590 Foram utilizados animais da raça Nelore ou anelorados, cuja pelagem é curta, e  
591 terminados a pasto. Além destes, nenhum outro critério foi utilizado na seleção das  
592 carcaças dos animais que fizeram parte do estudo. O abate dos animais foi realizado  
593 dentro das condições ordinárias de um abatedouro-frigorífico com capacidade de 700  
594 cabeças por dia, localizado no estado de Mato Grosso do Sul (MS), Brasil, sob regime  
595 de inspeção federal e conforme a legislação vigente para o bem-estar animal,  
596 inspeções *ante e post mortem* e procedimentos sanitários das operações (Brasil,  
597 2000; Brasil, 2017).

598

### 599 2.2. Delineamento experimental

600

601 Foram coletas amostras da superfície interna e externa de 90 carcaças, divididas  
602 em seis grupos de acordo ao tempo entre a retirada das vísceras e a sangria, da  
603 seguinte maneira: 30 (grupo controle), 60, 90, 120, 150 e 180 min. Cada um destes  
604 grupos foi composto por 15 carcaças, coletadas em três dias diferentes, sendo cinco  
605 em cada dia, iniciando pelo grupo controle até perfazer as 15 de cada grupo, na ordem  
606 dos tempos de atraso na evisceração. O delineamento foi planejado de forma que as  
607 amostras fossem processadas no menor tempo possível após a coleta, oferecendo  
608 mais fidelidade nos resultados e minimizando o efeito das condições ambientais e  
609 operacionais do dia da coleta.

610

### 611 2.3. Amostragem e pontos de coleta

612

613 Para amostragem das carcaças foi realizada a técnica não destrutiva de  
614 esfregação de superfície, utilizaram-se swabs capazes de amostrar uma superfície de  
615 100 cm<sup>2</sup>. Foram definidos 16 pontos de coleta nas superfícies interna (oito em cada  
616 meia-carcaça) e 16 pontos na superfície externa da carcaça (Figura 01), totalizando  
617 32 pontos. Na superfície interna, foram contemplados pontos em contato com  
618 diferentes segmentos do TGI na cavidade abdominal e órgãos da cavidade torácica,  
619 que seriam possíveis fontes de contaminação por uma eventual migração de  
620 bactérias. Na superfície externa, a finalidade da concentração dos pontos nas linhas  
621 dorsal e ventral foi investigar uma possível condução via serragem ou evisceração de  
622 bactérias da superfície externa para seu interior, já que a abertura da cavidade  
623 abdominal e torácica se dão pela linha alba e medial do peito, respectivamente, e a  
624 serra de carcaça passa ao longo do dorso da mesma. Cada ponto possui 25 cm<sup>2</sup>,  
625 portanto, um mesmo swab foi utilizado para amostragem de quatro diferentes pontos  
626 de uma mesma superfície. Para delimitação da área de 25 cm<sup>2</sup> foi utilizado um  
627 delimitador de aço inoxidável, o qual era assepsiado entre as coletas, com água a  
628 82,2°C e álcool etílico a 70%. A área total amostrada da superfície externa foi de 400  
629 cm<sup>2</sup>, conforme preconizado pela ISO 17604:2015. O mesmo parâmetro foi utilizado na  
630 superfície interna. Todas as coletas foram realizadas na sala de abate do frigorífico,  
631 ao final da matança do dia.

632 As carcaças pertencentes ao tempo controle (30 min.) seguiram o fluxo normal  
633 de abate, não sendo submetidas a atraso proposital na remoção das vísceras. As  
634 carcaças dos grupos que sofreram retardo intencional na evisceração, foram  
635 desviadas da trilhagem normal para o Departamento de Inspeção Final (DIF),

636 permanecendo neste local durante o tempo determinado para cada atraso. Decorridos  
637 os tempos intencionais de atraso, retornaram à nória, acionada em sentido inverso,  
638 até o local para realização das operações de amostragem e evisceração. O  
639 procedimento de evisceração nos grupos que sofreram atraso foi realizado com a  
640 nória parada para evitar rompimento do TGI, devido a maior dificuldade que a  
641 operação apresentava com a distensão do rúmen.

642 O procedimento de coleta microbiológica dos pontos externos foi feito antes da  
643 evisceração, com a nória paralisada durante os instantes necessários à realização  
644 dos esfregaços. A coleta das amostras dos pontos internos foi realizada novamente  
645 com as carcaças dentro do DIF.

646 Serras, facas e demais utensílios utilizados foram devidamente assepsiados com  
647 água a uma temperatura de pelo menos 82,2°C entre uma carcaça e outra, seguindo  
648 os procedimentos sanitários operacionais padrões. A temperatura ambiente foi  
649 registrada em todos dias de coleta com termômetro devidamente calibrado e aferido.

650 Por medida de segurança, as vísceras das carcaças que sofreram o retardo  
651 proposital na evisceração foram condenadas e as carcaças sequestradas até o  
652 resultado das análises microbiológicas.

653

#### 654 *2.4. Acondicionamento das amostras e técnica analítica*

655

656 Para as análises microbiológicas foram feitas amostras compostas dos pontos  
657 internos e externos. Para isso, os swabs correspondentes foram acondicionados sob  
658 refrigeração em sacos plásticos estéreis diferentes, devidamente identificados e  
659 acondicionados em caixa de isopor com gelo, tomando-se o cuidado de não permitir

660 o contato direto dos swabs com o gelo, a fim de evitar injúrias aos micro-organismos  
661 durante o transporte.

662 As amostras foram transportadas até o laboratório de microbiologia de alimentos  
663 da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Alimentos e Nutrição da Universidade  
664 Federal de Mato Grosso do Sul e imediatamente processadas, totalizando um período  
665 médio entre o fim das coletas e início das análises de 3,5 horas.

666 As análises microbiológicas foram realizadas pela técnica de inoculação em  
667 profundidade (*pour plate*), empregando-se meio de cultura Petrifilm™, sendo que na  
668 contagem de bactérias mesófilas aeróbias empregou-se a metodologia AOAC 990.12  
669 (Petrifilm™ AC 6406 - 3M Company, St. Paul, MN, EUA) e para contagem de  
670 coliformes totais e *Escherichia coli* a metodologia AOAC 998.08 (Petrifilm™ EC 6414  
671 - 3M Company, St. Paul, MN, EUA)

672 As análises foram conduzidas com a prévia preparação das diluições seriadas,  
673 onde alíquotas de 1 ml oriundas da amostra diluída, foram plaqueadas nos Petrifilm™  
674 para contagem de bactérias mesófilas aeróbias e contagem de coliformes totais/*E. coli*,  
675 procedeu-se a incubação em temperatura de  $35 \pm 1^\circ\text{C}$ , por um período,  
676 respectivamente, de  $48 \pm 3\text{h}$  e 24h.

677 Ao término do período de incubação foram realizadas as contagens nos  
678 respectivos meios de cultura sendo que as bactérias mesófilas aeróbias foram  
679 quantificadas observando-se colônias de coloração vermelha. No meio de Petrifilm™  
680 para coliformes contou-se todas as colônias azuis associadas ao gás como *E. coli*. e  
681 as colônias róseas como outros coliformes, as quais somadas as colônias azuis,  
682 forneceram o número de coliformes totais. Os resultados foram expressos em  
683 logaritmo na base 10 de unidades formadoras de colônias por centímetro quadrado  
684 (LogUFC/cm<sup>2</sup>).

## 685 2.5. Análise Estatística

686

687 Os dados foram submetidos a Análise de Variância no Proc Glimmix do SAS  
688 University Edition. Uma vez que as amostras foram coletadas em dias diferentes, o  
689 dia de coleta da amostra foi inserido como efeito aleatório no modelo estatístico. As  
690 médias dos tempos de atraso na evisceração foram comparadas ao tempo controle  
691 pelo teste de Dunnett ao nível de significância de 5%.

692 Sendo o modelo:  $y_{ijk} = \mu + t_i + d_j(i) + \varepsilon(ij)_k$

693 Onde,  $y_{ijk}$  = variável resposta mensurada na unidade experimental k, no tempo i,  
694 no dia j;  $\mu$  = constante geral;  $t_i$  = efeito do tempo de retardo na evisceração i (efeito  
695 fixo);  $d_j(i)$  = efeito aninhado do dia j em que a amostra do tratamento i foi coletada  
696 (efeito aleatório);  $\varepsilon(ij)_k$  = erro aleatório não observável.

697 Para análise da associação entre as contagens internas e externas de mesófilos  
698 foi realizado análise de correlação de Pearson, com o programa BioEstat versão 5.3.

699

## 700 3. Resultados e Discussão

701

### 702 3.1. Períodos de retardo na evisceração e contagens microbianas

703

705 As contagens de bactérias mesófilas aeróbias no tempo 30 min. (tempo-controle)  
706 foram de 0,76 e 1,07 Log UFC/cm<sup>2</sup>, respectivamente, para amostras de superfície  
707 interna e externa das carcaças, que se manteve até os 150 min. Diferenças foram  
708 observadas apenas aos 180 min. de retardo da evisceração, apresentando um  
709 incremento na contagem quando comparada com o tempo-controle de 0,5 e 0,7 Log  
710 UFC/cm<sup>2</sup>, respectivamente para amostra de superfícies interna e externa da carcaça

711 (Tabela 1). Como a média de temperatura dos 18 dias coleta no interior da sala de  
712 abate foi de 26,8 °C ( $\pm 1,7$  °C), que está dentro da faixa propícia ao crescimento destes  
713 micro-organismos, um aumento na sua contagem é esperado.

714 Na superfície externa da carcaça, coliformes totais foram quantificáveis em  
715 apenas uma amostra do grupo com 180 min. de atraso na evisceração (0.1  
716 LogUFC/cm<sup>2</sup>). *E. coli* não foi quantificável em nenhuma delas.

717 Na superfície interna, coliformes totais foram quantificáveis em apenas uma  
718 amostra com 150 min. de atraso (0.4 LogUFC/cm<sup>2</sup>). *E. coli* foi quantificável em seis do  
719 total de 90 amostras, sendo: uma amostra com 60 min. (1.2 LogUFC/cm<sup>2</sup>), uma  
720 amostra com 90 min. (1.02 logUFC/cm<sup>2</sup>); uma amostra com 120 min. (1.2  
721 LogUFC/cm<sup>2</sup>) e tres amostras com 180 min. (1.1, 1.3 e 2.3 LogUFC/cm<sup>2</sup>).

722 Nenhuma das 90 amostras analisadas excedeu o limite de 5 LogUFC/cm<sup>2</sup> para  
723 contagem total de mesófilos aeróbios ou de 3 LogUFC/cm<sup>2</sup> para coliformes e *E. coli*  
724 de acordo aos Regulamentos (EC) nº 2073/2005 e 1441/2007.

725 A literatura sobre a evisceração retardada com bovinos e outros animais de  
726 açougue, sob condições de uma linha industrial de abate é escassa. Em maior  
727 quantidade, há trabalhos com animais de caça esportiva (*Game Meat*), uma vez que,  
728 pelas condições de campo em que ocorrem, o atraso na evisceração é recorrente. No  
729 entanto, mesmo sob condições distintas, a comparação destes resultados com  
730 aqueles obtidos em animais de caça pode auxiliar a elucidação do problema foco  
731 deste estudo.

732 Os resultados deste experimento condizem com os obtidos por Soriano,  
733 Montoro, Vicente, Sánchez-Migallón, Benítez et al. (2016), que não encontraram  
734 influência na contagem de bactérias mesófilas aeróbias no músculo *longissimus* de

735 veados vermelhos (*Cervus elaphus*) devido ao atraso de quatro horas na remoção de  
736 suas vísceras.

737 Na pesquisa de Van Heerden (2016) com Gnus negros (*Connochaetes gnu*)  
738 abatidos em temporada de caça durante o inverno na África do Sul e submetidos a  
739 atraso na evisceração por até cinco horas, foram coletadas amostras de músculo reto-  
740 abdominal juntamente com a camada do peritônio e aponeurose que o recobre. Neste  
741 estudo não encontraram crescimento significativo para *Enterobacteriaceae* e  
742 bactérias anaeróbicas, provavelmente devido ao fato de que, segundo os autores, a  
743 temperatura abaixo dos 18°C pode ter sido fator limitante ao desenvolvimento de  
744 bactérias. Contudo, há de se considerar com cautela a metodologia utilizada nesta  
745 pesquisa, já que as amostras foram congeladas antes do cultivo, o que sabidamente  
746 diminui a viabilidade dos micro-organismos em meios de cultura. No presente estudo,  
747 as amostras foram mantidas sob refrigeração com gelo e processadas, em média,  
748 após 3,5 horas após a finalização das coletas.

749 Avagnina, Nucera, Grassi, Ferroglio, Dalmaso *et al.* (2012) não encontraram  
750 diferença significativa nas contagens totais de mesófilos aeróbios e  
751 *Enterobacteriaceae* em relação a diferentes tempos entre o tiro e a evisceração em  
752 caça esportiva de ruminantes. Estes autores também utilizaram o tempo de 180 min.  
753 como crítico para propagação bacteriana a partir dos intestinos. Também Paulsen,  
754 Bauer, Vodnasnky, Winkelmayr & Smulders (2011) consideram que dentro desse  
755 tempo a carne de ruminantes selvagens de caça esportiva permanece segura para  
756 consumo, mas a partir dele haveria translocação bacteriana do TGI para a carcaça.

757 A translocação bacteriana *in vivo* é definida como a migração ativa de bactérias  
758 próprias do trato gastrointestinal para outros sítios, como a cadeia mesentérica de  
759 linfonodos, fígado e corrente sanguínea. Os três principais mecanismos que

760 promovem a translocação são superpopulação microbiana nos intestinos, deficiências  
761 imunológicas do hospedeiro e aumento da permeabilidade ou injúria da barreira  
762 intestinal. Todos os três mecanismos tendo diversas causas patológicas e/ou  
763 iatrogênicas (Berg,1995; Balzan, De Almeida Quadros, De Cleva, Zilberstein &  
764 Cecconello, 2007).

765 Berg & Garlington (1979) e Berg (1995) propõem que essa migração ocorre em  
766 pequenas quantidades, mas que em hospedeiros saudáveis e imunocompetentes, as  
767 bactérias são mortas em seu trajeto na cadeia mesentérica de linfonodos, outros  
768 tecidos linfoides ou por outros sistemas de defesa imunológica. Segundo os autores, a  
769 capacidade de migração difere dentro da família de Enterobactérias, sendo que  
770 *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* e *Proteus mirabilis* atravessam a barreira  
771 intestinal com mais eficiência até a cadeia de linfonodos do mesentério.

772 Gill & Nottingham (1976,1978) e Gill & Penney (1979, 1982) investigaram a  
773 hipótese de que ocorreria contaminação das carcaças que sofreram atraso na  
774 remoção de suas vísceras como resultado da translocação de bactérias e  
775 evidenciaram que amostras de músculos e linfonodos inguinais de carcaças ovinas  
776 penduradas de forma usual pelo tendão de Aquiles, sem evisceração durante 24 horas  
777 e mantidas a 20°C durante esse período, permaneceram livres de bactérias (*E. coli*,  
778 *Pseudomonas fluorescens* e *Clostridium perfringens*), levando-os a concluir que o  
779 atraso de 24 h. na evisceração das carcaças não foi suficiente para contaminá-las  
780 com bactérias oriundas da microbiota do trato gastrointestinal ou de outra origem. Estes  
781 autores sugerem ainda que mecanismos imunológicos permanecem ativos durante  
782 certo tempo após a morte e que não haveria razão para considerar a invasão de outros  
783 tecidos por bactérias intestinais como critério para rejeição de carcaças no caso de  
784 retardo na evisceração.

785 Mais trabalhos com bovinos ou outros ruminantes sobre o fenômeno específico  
786 da translocação de bactérias após a morte não foram encontrados, porém o tema é  
787 de interesse na medicina forense humana e estudos mais recentes foram publicados.

788 Segundo Morris, Harrison & Partridge (2006, 2007), bactérias podem crescer nas  
789 superfícies mucosas após a morte. Essas bactérias podem migrar para o corpo,  
790 tecidos e sangue, representando a base de mudanças decompositivas que ocorrem  
791 normalmente após a morte, se um corpo não for rapidamente armazenado a baixas  
792 temperaturas. Na conclusão dos autores, essa translocação não altera os resultados  
793 de amostras forenses quando obtidas dentro de 24 horas após a morte ou se o  
794 cadáver é armazenado adequadamente a 04°C antes da necropsia.

795 Saegeman, Verhaegen, Lismont, Verduyckt, De Rijdt *et al.* (2009) estudaram a  
796 possibilidade de estender o tempo limite preconizado pela Associação Europeia de  
797 Bancos de Tecidos e pelo Conselho Belga de Saúde para remoção de órgãos de  
798 doadores. Segundo os autores, por razões microbiológicas, estas instituições  
799 preconizam o tempo máximo de 24 horas para retirada dos órgãos, desde que os  
800 corpos tenham sido refrigerados em até seis horas após a morte. Na metodologia de  
801 sua pesquisa Palmiere, Egger, Prod'Hom & Greub (2016) classificaram os casos de  
802 translocação bacteriana de acordo ao tempo após a morte em até 8 h, entre 8 e 24 h  
803 e mais de 24 h. O estudo não verificou correlação positiva entre o tempo após a morte  
804 e o número positivo de culturas bacterianas. Observa-se que o menor intervalo *post*  
805 *mortem* considerado pelos autores é mais que o dobro do que foi estudado no  
806 presente experimento (três horas).

807 Ainda que estes trabalhos no campo da medicina forense humana não possam  
808 ser completamente extrapolados para bovinos por óbvias diferenças anatômicas e  
809 fisiológicas, eles reforçam a temperatura como fator limitante para determinação do

810 período máximo para remoção dos órgãos antes que ocorra a translocação bacteriana  
811 do TGI para outros tecidos e apontam na mesma direção dos resultados do presente  
812 estudo no sentido de que, no período relativamente curto de até 180 min., mesmo sob  
813 temperatura ambiente dentro da zona propícia a multiplicação de bactérias, o  
814 fenômeno da translocação não configurou uma ameaça microbiológica

815 O clima tropical predominante no Brasil proporciona temperaturas relativamente  
816 altas nas salas de abate, a exemplo da verificada neste experimento, com média de  
817 26,8 ( $\pm 1,7$ ) $^{\circ}$ C, a qual está na faixa propícia a multiplicação microbiana. Portanto, esse  
818 é um limitante para esperar longos períodos com as carcaças sem evisceração na  
819 sala de abate considerando o crescimento bacteriano na superfície externa, o risco de  
820 translocação bacteriana a partir do TGI para vísceras e carcaças e o processo  
821 fermentativo dentro do rúmen, que causa sua distensão acentuada e dificulta a  
822 evisceração.

823 Neste experimento, a pequena quantidade observada de mesófilos aeróbios,  
824 coliformes e *E.coli* na superfície interna, mesmo após 180 min. de retardo na  
825 evisceração não foi suficiente para afirmar que as bactérias foram advindas de uma  
826 migração do TGI. Maki & Picard (1965) relatam contagens entre 5,9 e 9,8 LogUFC/g  
827 para bactérias mesófilas aeróbias e entre 5,4 e 7 LogUFC/g para *E. coli* em diferentes  
828 segmentos dos intestinos delgado e grosso de bovinos alimentados com alto  
829 volumoso, coincidente com os animais terminados a pasto utilizados neste estudo. As  
830 contagens destes micro-organismos na superfície interna da carcaça identificadas no  
831 presente trabalho são bastante inferiores a estes valores, sugerindo que a migração  
832 de bactérias desta categoria não ocorreu a partir daí, já que numa eventual  
833 translocação de bactérias deste grupo através dos tecidos até o peritônio, seria de se

834 esperar contagens mais elevadas, como também concluíram Gill & Nottingham  
835 (1976).

836 Em relação aos pré-estômagos dos ruminantes, a microbiota é  
837 predominantemente anaeróbia estrita e, em menor quantidade, facultativa (Stewart,  
838 Flint & Bryant, 1997). Essas categorias não foram analisadas neste experimento,  
839 porém Steffen, Berg & Deitch (1988) concluíram que bactérias anaeróbias estritas  
840 migram em taxa muito pequena através da barreira intestinal, sendo a exposição ao  
841 oxigênio do sangue umas das razões para isso. De qualquer maneira, numa eventual  
842 migração destas bactérias para a cavidade abdominal e/ou torácica, por ocasião da  
843 serragem da carcaça, elas serão expostas ao oxigênio e, com isso, inviabilizadas.

844

### 845 3.2. *Influência do Ambiente e das Operações*

846

847 A figura 02 ilustra a flutuação das contagens obtidas em ambas as superfícies  
848 conforme os tempos de retardo na evisceração.

849 Na realidade de uma planta industrial em operação, muitas variáveis contribuem  
850 como fontes de contaminação microbiana, como a condição de limpeza dos animais  
851 ao entrar para o abate, estação do ano (com maior ou menor precipitação  
852 pluviométrica), operações de esfolagem e evisceração, qualidade da água e do ar dentro  
853 da sala de matança. (Sofos, Kochevar, Bellinger, Buege, Hancock *et al.*, 1999; Sofos,  
854 2008; Van der Merwe, Hoffman, Jooste & Calitz, 2014).

855 As oscilações verificadas na figura 02 são condizentes com as observações  
856 apontadas por esses autores em função dessas variáveis. Como em cada tempo  
857 foram feitas coletas em três dias diferentes, a amostragem reflete as variações na  
858 rotina industrial, as quais as carcaças estão expostas. Ainda que as médias de

859 mesófilos na superfície interna tenham sido maiores que na externa entre 90 e 150  
860 min., os baixos valores encontrados não dão indícios suficientemente robustos para  
861 afirmar a ocorrência de translocação bacteriana. E como aos 180 min. a contagem da  
862 superfície externa volta a ser maior que a interna, a explicação que mais faz sentido  
863 biológico é a de que esses achados têm origem na contaminação cruzada  
864 proporcionada pelo ambiente e, principalmente, pelas operações.

865 A frequência de UFC quantificáveis de *E. coli* na superfície interna também foi  
866 maior que na externa (seis na interna e nenhuma na externa). Quanto a isso, é  
867 importante considerar que quatro pontos na região pélvica foram amostrados (pontos  
868 01 e 02 da figura 01 em cada meia-carcaça) e esta região é bastante suscetível a  
869 contaminação fecal durante a operação de soltura do reto pela incisão a faca dos  
870 tecidos adjacentes, oclusão, ensacamento e introdução deste conjunto no inteior do  
871 cíngulo pélvico para posterior remoção juntamente com o restante do TGI. Além disso,  
872 três das seis amostras quantificáveis de *E. coli* na superfície interna são de amostras  
873 de um mesmo dia de coleta e tomadas de carcaças que passaram em sequencia,  
874 evisceradas pelo mesmo colaborador após 180 min. de retardo na evisceração, fato  
875 que pode acusar uma causa operacional e/ou amostral para este resultado, ainda  
876 mais considerando a dificuldade aumentada para realização desse procedimento em  
877 virtude da distensão do TGI pela formação de gases do processo fermentativo que  
878 seguiu ocorrendo ao longo desse período nos pré-estômagos.

879 Dessa forma, muito provavelmente as contagens encontradas na superfície  
880 interna da carcaça sejam oriundas de contaminação cruzada durante as operações e  
881 não a uma translocação bacteriana e, de qualquer maneira, nenhuma ultrapassou os  
882 valores regulamentares (Regulations (EC) nº 2073/2005 e 1441/2007).

883

### 884 3.3. Distensão do TGI

885

886 A partir de 90 min. de atraso na evisceração passou-se a observar dilatação do  
887 abdômen progressivamente maior conforme o tempo, em virtude da produção de  
888 gases no interior do sistema ruminal. Aos 180 min. foi observada a maior distensão,  
889 perceptível pela nítida dilatação do rúmex e anexos durante a operação de  
890 evisceração. Estes órgãos, já no início da abertura da cavidade abdominal, se  
891 projetavam para fora desta. A pressão aumentada pela produção de gases poderia  
892 ainda ter efeito sobre a translocação bacteriana.

893 A síndrome compartimental abdominal em humanos é caracterizada pela  
894 pressão abdominal aumentada (pressão fisiológica = 12 mmHg), acompanhada de  
895 falência múltipla dos órgãos, atribuída dentre outros fatores a translocação bacteriana.  
896 Testes de insuflação dos intestinos em modelos com suínos para simular os efeitos  
897 do aumento da pressão intra-abdominal sobre essa translocação verificaram que 15  
898 mmHg durante 24 h, danificaram a barreira intestinal e promoveram aumento  
899 significativo da translocação de bactérias em relação ao controle sem insuflação  
900 (Kaussen, Srinivasan, Afify, Herweg, Tolba *et al.*, 2012). Já em estudo similar com  
901 ratos, esse fenômeno foi verificado com 01 hora de insuflação dos intestinos com  
902 pressões a partir de 20 mmHg (Polat, Aktepe, Akbulut, Yilmaz, Arikan *et al.*, 2003) No  
903 experimento com modelos suínos foram utilizados os linfonodos mesentéricos,  
904 apontados como o primeiro sítio para onde a migração bacteriana ocorre (Balzan, De  
905 Almeida Quadros, De Cleve, Zilberstein & Cecconello, 2007), já neste experimento a  
906 pesquisa foi feita diretamente na carcaça.

907 Não foram encontradas publicações com experimentos dessa natureza com  
908 ruminantes e dificilmente os resultados obtidos com não ruminantes serviriam de

909 parâmetros fiéis para essas espécies cujos tecidos do TGI são adaptados a pressão  
910 das câmaras de fermentação que constituem o sistema ruminal.

911 Provavelmente, o tempo máximo do retardo na evisceração utilizado neste  
912 experimento tenha relação direta com as baixas contagens verificadas no interior das  
913 carcaças, quer seja por fatores relacionados à capacidade inerente aos próprios  
914 micro-organismos em atingi-la em 180 min. de retardo na evisceração ou a não  
915 danificação da barreira intestinal suficiente para permitir sua migração, durante esse  
916 período.

917 No entanto, mais do que uma possível translocação bacteriana durante esse  
918 curto espaço de tempo, a distensão do TGI é, em si, é um empecílio operacional que  
919 merece atenção, pois predispõe ao rompimento do rúmen e anexos durante a  
920 evisceração. Como a nórea foi paralisada para o processo de evisceração durante o  
921 procedimento experimental ao final da matança do dia, o colaborador pôde realizar a  
922 operação com cuidado para que o rompimento não ocorresse e a amostragem  
923 pudesse ser realizada. Contudo, com a nórea em movimento o rompimento das  
924 vísceras e a extensa contaminação promovida pelo seu conteúdo extravasado sob  
925 pressão, seria muito provável. Esse é um fator que deve ser cuidadosamente  
926 considerado quando do retardo na evisceração de ruminantes em situações práticas.

927

#### 928 *3.4 Associação entre as contagens internas e externas*

929

930 A finalidade de concentrar os pontos de amostragem da superfície externa nas  
931 linhas dorsal e ventral foi a de investigar uma possível condução via serragem e  
932 evisceração das bactérias pesquisadas da superfície externa da carcaça para o seu  
933 interior, já que a abertura da cavidade abdominal se dá pela linha alba e a serra de

934 carcaça passa ao longo do dorso da mesma. Tomou-se como parâmetro a área total  
935 de 400 cm<sup>2</sup> preconizada pelo ISO 17604:2015, porém a distribuição dos locais  
936 amostrados foi diferente de maneira a atender tal objetivo. Santos, Castro, Cunha-  
937 Neto, Santos, Vallim *et al.* (2018) também utilizaram a mesma área total, mas diferente  
938 da recomendação geral da mencionada ISO, contemplaram esfregaços da região anal  
939 e abdominal, já que sua pesquisa objetivava verificar a presença de cepas de *E. coli*  
940 produtoras de Shiga-toxina na carcaça oriundas da pele por contaminação cruzada  
941 durante o processo de esfolagem e estas áreas são bastante suscetíveis à presença de  
942 contaminação por fezes.

943 A análise de correlação de mesófilos aeróbios demonstrou correlação  
944 fracamente positiva entre as contagens da superfície externa e interna ( $r= 0.21$ ;  
945  $p=0,03$ ). Esse resultado, juntamente com as muitas fontes de contaminação cruzada  
946 que podem influenciar nos achados deste grupo de micro-organismos, como já  
947 discutido anteriormente, não permitem afirmar com segurança a ocorrência de  
948 transferência destes da superfície externa para a interna via serragem e evisceração.

949 A frequência de seis UFC quantificáveis na superfície interna contra nenhuma  
950 na superfície externa nas análises para *E. coli*, leva a inferir que a evisceração,  
951 especialmente na etapa de soltura, oclusão e ensacamento do reto, está associada a  
952 contaminação fecal da carcaça, como constata fartamente a literatura científica  
953 (Sofos, Kochevar, Bellinger, Buege, Hancock *et al.*, 1999; Ghafir, China, Dierick, De  
954 Zutter, & Daube, 2008; Cernicchiaro, Oliveira, Hoehn, Cull, Noll *et al.*, 2019).

955 O interessante a ser considerado neste achado para *E. coli* é que ele possibilita  
956 a sugestão da revisão dos procedimentos padrões de amostragem de carcaça bovina,  
957 como a ISO 17604:2015, os quais atualmente preveem a amostragem apenas da  
958 superfície externa da carcaça com a finalidade de monitoramento da qualidade

959 microbiana. Os critérios oficiais atuais conforme legislação brasileira vigente (Brasil,  
960 2001), indicam a pesquisa de *Salmonella sp.* nas amostras de carcaças bovinas.  
961 Sendo esta também uma bactéria entérica como a *E. coli*, maiores investigações  
962 quanto a inclusão da superfície interna das carcaças nos procedimentos padronizados  
963 de amostragem são indicados.

964

#### 965 **4. Conclusões**

966

967 Em até 180 min. de retardo na evisceração não foram verificadas razões de  
968 natureza microbiológica que motivassem destinações condicionais ou condenação  
969 das carcaças, porém houve indícios de início de multiplicação microbiana a partir  
970 desse período e não se recomenda ultrapassá-lo, principalmente por distensões do  
971 trato gastrintestinal que dificultam o processo de evisceração e facilitam o seu  
972 rompimento, com conseqüente contaminação da carcaça e ambiente.

973 A maior frequência de achados de *E. coli* na superfície interna da carcaça indica  
974 ser útil a amostragem dessa superfície nas verificações das condições higiênico-  
975 sanitárias do processo produtivo.

976

977 **5. Referências**

978

- 979 AOAC (1990). Official methods of analysis of association of official analytical chemists  
980 (15th ed.). Washington DC. USA: Association of Official Analytical Chemists.  
981
- 982 Avagnina, A., Nucera, D., Grassi, M.A., Ferroglio, E., Dalmaso, A., & Civera, T (2012).  
983 The microbiological conditions of carcasses from large game animals in Italy. *Meat*  
984 *Science*, 91, 266–271. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.01.025>.
- 985
- 986 Balzan, S., De Almeida Quadros, C., De Cleve, R., Zilberstein, B., & Cecconello, I.  
987 (2007). Bacterial translocation: Overview of mechanisms and clinical impact.  
988 *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 22, 464-471.  
989 <https://doi.org/10.1111/j.1440-1746.2007.04933.x>
- 990
- 991 Behrens, J. H., Barcellos, M. N., Frewer, L. J., Nunes, T.P., Franco, B. D. G. M., Destro,  
992 M. T., & Landgraf, M. (2010). Consumer purchase habits and views on food safety:  
993 A Brazilian study. *Food Control*, 21, 963-969.  
994 <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2009.07.018>.
- 995
- 996 Berg, R.D; & Garlington, A.W. (1979). Translocation of certain indigenous bacteria  
997 from the gastrointestinal tract to the mesenteric lymph nodes and others organs in  
998 a gnotobiotic mouse model. *Infection and Immunity*, 23, 403-411.  
999
- 1000 Berg, R.D. (1995). Bacterial translocation from the gastrointestinal tract. *Trends in*  
1001 *Microbiology*, Elsevier Science, 3, 149-154.
- 1002
- 1003 Brasil (2000). Instrução Normativa nº 03/2000. Regulamento técnico de métodos de  
1004 insensibilização para o abate humanitário de animais de açougue. *Diário Oficial*  
1005 *da República Federativa do Brasil*. Brasília/DF, 24 jan. 2000.
- 1006
- 1007 Brasil (2001). Resolução da Diretoria Colegiada da Agência de Vigilância Sanitária nº  
1008 12. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. *Diário*  
1009 *Oficial da República Federativa do Brasil*. Brasília/DF, 10 jan. 2001.
- 1010
- 1011 Brasil (2017). Decreto nº 9.013/2017. Regulamento de inspeção industrial e sanitária  
1012 de produtos de origem animal. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*.  
1013 Brasília/DF, 30 mar. 2017.
- 1014
- 1015 Canada (2019). Archived food guidance, Chapter 17: Ante and Post-mortem  
1016 Procedures, Dispositions, Monitoring and Controls - Meat Species, Ostriches,  
1017 Rheas and Emus. *Canadian Food and Inspection Agency*. Recuperado em:  
1018 11/12/2019, de: [https://www.inspection.gc.ca/food/archived-food-guidance/meat-](https://www.inspection.gc.ca/food/archived-food-guidance/meat-and-poultry-products/manual-of-procedures/chapter-17/eng/1367723343665/1367723573062?chap=7#s26c7)  
1019 [and-poultry-products/manual-of-procedures/chapter-](https://www.inspection.gc.ca/food/archived-food-guidance/meat-and-poultry-products/manual-of-procedures/chapter-17/eng/1367723343665/1367723573062?chap=7#s26c7)  
1020 [17/eng/1367723343665/1367723573062?chap=7#s26c7](https://www.inspection.gc.ca/food/archived-food-guidance/meat-and-poultry-products/manual-of-procedures/chapter-17/eng/1367723343665/1367723573062?chap=7#s26c7).  
1021

- 1022 Cernicchiaro, N., Oliveira, A. R. S., Hoehn, A., Cull, C. A., Noll, L. W., Shridhar, P. B.,  
1023 Nagaraja, T. G., Ives, S. E., Renter, D. G. & Sanderson, M. W. (2019).  
1024 Quantification of Bacteria Indicative of Fecal and Environmental Contamination  
1025 from Hides to Carcasses. *Foodborne Pathogens and Disease*, 16(12), 844-855.  
1026 <https://doi.org/10.1089/fpd.2019.2656>.  
1027
- 1028 Estados Unidos da América (EUA) (2018). Meat and Poultry Hazards and Controls  
1029 Guide. *Food Safety and Inspection Service, United States Department of*  
1030 *Agriculture* March 2018. Recuperado em 11/12/2019, de  
1031 [https://www.fsis.usda.gov/wps/wcm/connect/3cd0a6a5-fcff-4809-a298-](https://www.fsis.usda.gov/wps/wcm/connect/3cd0a6a5-fcff-4809-a298-030f3cd711a9/Meat_and_Poultry_Hazards_Controls_Guide_10042005.pdf?MO)  
1032 [030f3cd711a9/Meat\\_and\\_Poultry\\_Hazards\\_Controls\\_Guide\\_10042005.pdf?MO](https://www.fsis.usda.gov/wps/wcm/connect/3cd0a6a5-fcff-4809-a298-030f3cd711a9/Meat_and_Poultry_Hazards_Controls_Guide_10042005.pdf?MO)  
1033 [D=AJPERES](https://www.fsis.usda.gov/wps/wcm/connect/3cd0a6a5-fcff-4809-a298-030f3cd711a9/Meat_and_Poultry_Hazards_Controls_Guide_10042005.pdf?MO).  
1034
- 1035 Fanalli, S. L. (2018). Perfil de consumo e percepção dos consumidores de carne:  
1036 consequências sobre a saúde pública. *Revista Científica de Medicina Veterinária*,  
1037
- 1038 Gansheroff, L. J., & O'Brien, A. D. (2000). Escherichia coli O157:H7 in beef cattle  
1039 presented for slaughter in the U.S.: Higher prevalence rates than previously  
1040 estimated. *Proceedings of the National Academy of Sciences of America (PNAS)*,  
1041 97(7), 2959-2961. <https://doi.org/10.1073/pnas.97.7.2959>.  
1042
- 1043 Gill, C. O., Penney, N., & Nottingham, P. (1976). Effect of delayed evisceration on the  
1044 microbial quality of meat. *Applied and Environmental Microbiology*, 31(4), 465-468.  
1045
- 1046 Gill, C. O., Penney, N., & Nottingham, P. (1978). Tissue sterility in uneviscerated  
1047 carcasses. *Applied and Environmental Microbiology*, 36(2), 356-359.  
1048
- 1049 Gill, C. O., & Penney, N. (1979). Survival of bacteria in carcasses. *Applied and*  
1050 *Environmental Microbiology*, 37(4), 667-669.  
1051
- 1052 Gill, C. O., & Penney, N. (1982). Microbial contamination of the abdominal cavity in  
1053 commercial carcasses subject to delays before evisceration. *New Zealand*  
1054 *Veterinary Journal*, 30(10), 163. doi: 10.1080/00480169.1982.34928.  
1055
- 1056 ISO 17604 (2015). Microbiology of the food chain – Carcass sampling for  
1057 microbiological analysis. International Organization for Standardization.  
1058
- 1059 Kaussen, T., Srinivasan, P. K., Afify, M., Herweg, C., Tolba, R., Conze, J., &  
1060 Schachtrupp, A. (2012). Influence of two different levels of intra-abdominal  
1061 hypertension on bacterial translocation in a porcine model. *Ann. Intensive Care* 2,  
1062 1(S17). <https://doi.org/10.1186/2110-5820-2-S1-S17>  
1063
- 1064 Maki, L.R. & Picard, K. (1965). Normal intestinal flora of cattle fed high-roughage  
1065 rations. *Journal of Bacteriology*, 89(5), 1244-1249.  
1066
- 1067 Morris, J. A., Harrison, L. M., & Partridge, S. M. (2006). Postmortem bacteriology: a re-  
1068 evaluation - Literature Review. *Journal of Clinical Pathology*, 59, 1-9.  
1069 <http://dx.doi.org/10.1136/jcp.2005.028183>.  
1070

- 1071 Morris, J. A., Harrison, L. M., & Partridge, S. M. (2007). Practical and theoretical  
1072 aspects of postmortem bacteriology. *Current Diagnostic Pathology*, 13(1), 65-74.  
1073 <https://doi.org/10.1016/j.cdip.2006.07.005>.  
1074
- 1075 Palmiere, C., Egger, C., Prod'Hom, G., & Greub, G. (2016). Bacterial Translocation  
1076 and Sample Contamination in Postmortem Microbiological Analyses. *J Forensic  
1077 Sci*, 61, 367-374. <https://doi.org/10.1111/1556-4029.12991>  
1078
- 1079 Paulsen, P., Bauer, A., Vodnasnky, M., Winkelmayr, R., & Smulders, F.J.M. (2011).  
1080 *Game Meat Hygiene in Focus. Microbiology, Epidemiology, Risk Analysis and  
1081 Quality Assurance. (1st ed.)*. Wageningen, The Netherlands: Wageningen  
1082 Academic Publishers, seção 1. doi 10.3920/978-90-8686-723-3  
1083
- 1084 Polat, C., Aktepe, O. C., Akbulut, G., Yilmaz, S., Arikan, Y., Dilek, O. N., & Gokce, O.  
1085 (2003). The effects of increased intra-abdominal pressure on bacterial  
1086 translocation. *Yonsei Med J.*, 44(2), 259-264.  
1087 <https://doi.org/10.3349/ymj.2003.44.2.259>.  
1088
- 1089 Regulation (EC) N° 853/2004 of the European Parliament and of the Council of 29 April  
1090 2004 laying down specific hygiene rules for food of animal origin. *Official Journal  
1091 of the European Union* 25/6/2004.  
1092
- 1093 Regulation (EC) N° 2073/2005 of the European Parliament and of the Council of 15  
1094 November 2005 on microbiological criteria for foodstuffs (Text with EEA  
1095 relevance). *Official Journal of the European Union* 15/11/2005.  
1096
- 1097 Regulation (EC) N° 1441/2007 (2007) of the Commission of the European  
1098 Communities, amending Regulation (EC) N° 2073/2005 on microbiological criteria  
1099 for foodstuffs. *Official Journal of the European Union* 5/12/2007.  
1100
- 1101 Saegeman, V., Verhaegen, J., Lismont, D., Verduyckt, B., De Rijdt, T., & Ectors, N.  
1102 (2009). Influence of postmortem time on the outcome of blood cultures among  
1103 cadaveric tissue donors. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious  
1104 Diseases*, 28, 161–168. <https://doi.org/10.1007/s10096-008-0609-0>  
1105
- 1106 Santos, E. C. C., Castro, V. S., Cunha-Neto, A., Santos, L. F., Vallim, D. C., Lisboa, R.  
1107 C., Carvalho, R. C. T., Junior. C. A. C. & Figueiredo, E. E. S. (2018). *Escherichia  
1108 coli* O26 and O113:H21 on carcasses and beef from a slaughterhouse located in  
1109 Mato Grosso, Brazil. *Foodborne Pathogens and Disease*, 15(10), 653-659.  
1110 <https://doi.org/10.1089/fpd.2018.2431>  
1111
- 1112 Sofos, J.N., Kochevar, S.L., Bellinger, G.R., Buege, D.R., Hancock, D.D., Ingham,  
1113 S.C., Morgan, J.B., Reagan, J.O., & Smith, G.C. (1999). Sources and extent of  
1114 microbiological contamination of beef carcasses in seven United States  
1115 slaughtering plants. *Journal of Food Protection*, 62, 140–145.  
1116 <https://doi.org/10.4315/0362-028X-62.2.140>.  
1117
- 1117 Sofos, J.N. (2008). Challenges to meat safety in the 21st century. *Meat Science*, 78  
1118 (1-2), 3–13. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.07.027>.  
1119

- 1120 Soriano, A., Montoro, V., Vicente, J., Sánchez-Migallón, B.F., Benítez, S., Utrilla, M.C.  
1121 & García Ruiz, A. (2016). Influence of evisceration time and carcass ageing  
1122 conditions on wild venison quality. Preliminary study, *Meat Science*, 114, 130-136.  
1123 <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2015.12.021>.  
1124
- 1125 Steffen, E. K., Berg, R. D., & Deitch, E. A. (1988). Comparison of Translocation Rates  
1126 of Various Indigenous Bacteria from the Gastrointestinal Tract to the Mesenteric  
1127 Lymph Node. *The Journal of Infectious Diseases*, 157(5), 1032–1038.  
1128 <https://doi.org/10.1093/infdis/157.5.1032>  
1129
- 1130 Stewart, C.S., Flint, H.J., Bryant, M.P. (1997) The rumen bacteria. In: Hobson P.N.,  
1131 Stewart C.S. (eds) *The Rumen Microbial Ecosystem*. Springer, Dordrecht. 10-72  
1132 [https://doi.org/10.1007/978-94-009-1453-7\\_2](https://doi.org/10.1007/978-94-009-1453-7_2).  
1133
- 1134 Van der Merwe, M., Hoffman, L. C., Jooste, P.J., & Calitz, F.J. (2014). The Hygienic  
1135 Practices Involved in Three Game Meat Production Systems in South Africa Based  
1136 on Environmental and other Independent Variables. *J Veterinar Sci Technol*, 5(3),  
1137 176. <http://dx.doi.org/10.4172/2157-7579.1000176>.  
1138
- 1139 Van Heerden, C.V. (2016). The effect of delayed evisceration on the microbiological  
1140 safety of black wildebeest (*Connochaetes gnou*) meat. Thesis for Magister  
1141 Scientiae. Faculty of Veterinary Science, University of Pretoria, Pretoria, África do  
1142 Sul.  
1143
- 1144 Verbeke, W., Wezemaal, L. V., Barcellos, M. D., Kügler, J. O., Hocquette, JF., Ueland,  
1145 Ø., Grunert, K. G. (2010). European beef consumers' interest in a beef eating-  
1146 quality guarantee Insights from a qualitative study in four EU countries. *Apetite*,  
1147 54, 289-296. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2009.11.013>.  
1148

1149

1150

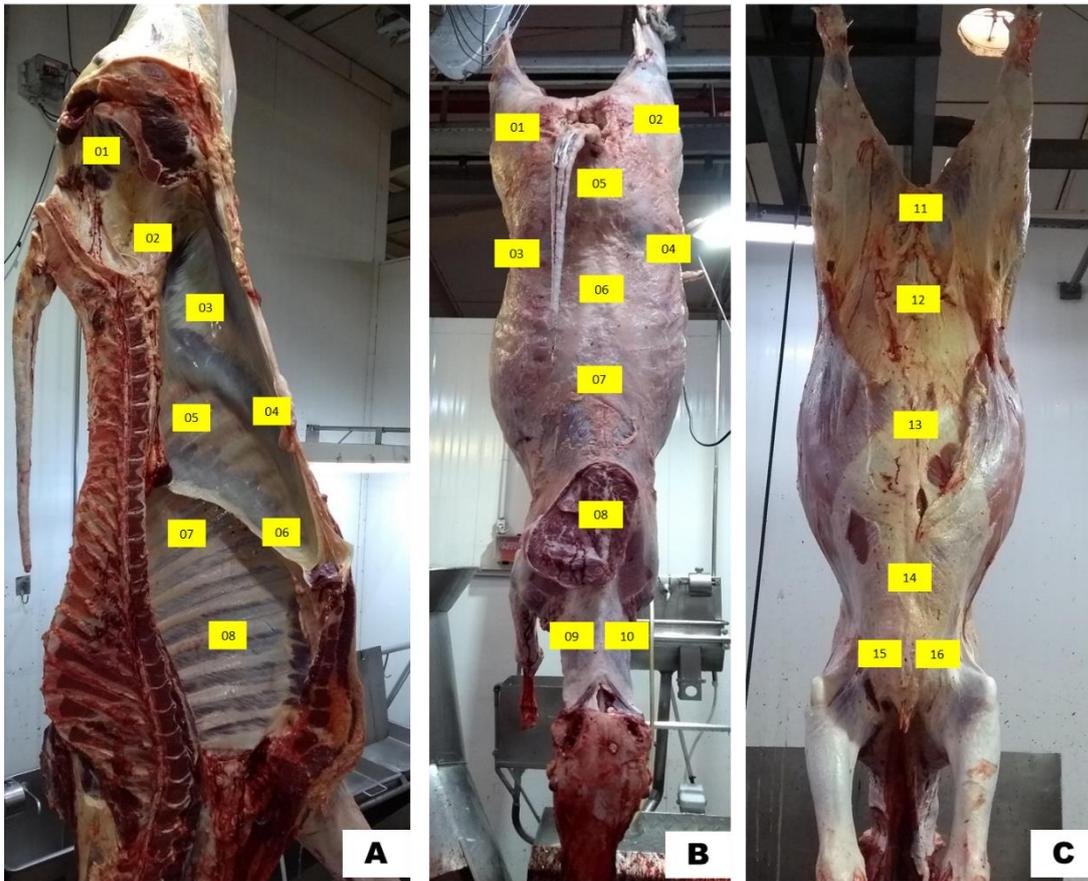
1151

## **APÊNDICES**

1152

## APÊNDICE 1 – Figura 01

1153



1154

1155 Figura 01. Pontos de esfregaços das superfícies interna (A), superfície externa, vista  
1156 dorsal (B) e ventral (C).

1157

1158

1159

1160

## APÊNDICE 2 – Tabela 01

Contagem de Microrganismos	Tempo Médio Retardo Evisceração ± DP (minutos)					
	30±2	60±3	90±4	120±4	150±7	180±10
Superfície interna						
LogUFC/cm <sup>2</sup> ± DP	0.76±0.25	0.94±0.48	1.14±0.54	0.85±0.41	0.84±0.32	1.31±0.60*
P value	--	0.717	0.137	0.971	0.980	0.022
Superfície externa						
LogUFC/cm <sup>2</sup> ± DP	1.07±0.39	1.05±0.53	0.89±0.59	0.73±0.47	0.39±0.34	1.77±0.57*
P value	--	1.000	0.856	0.383	0.073	0.022

1161

1162

1163

1164

Tabela 01. Médias das contagens de mesófilos aeróbios nas superfícies interna e externa da carcaça de bovinos.

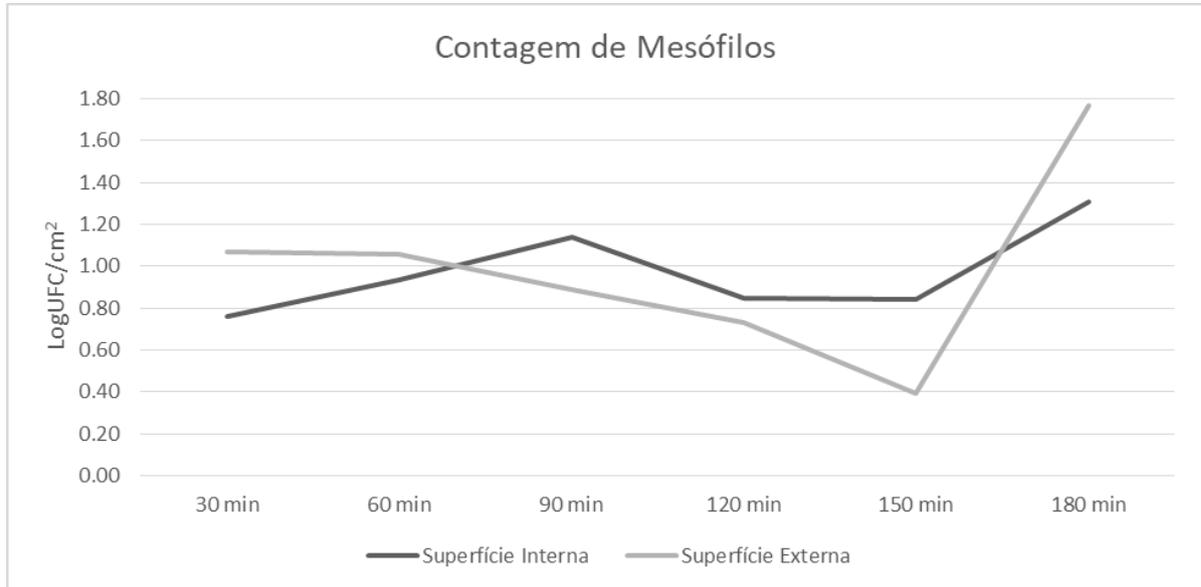
(\*) Indica diferença significativa em relação ao controle ( $p < 0.05$ ) pelo teste de Dunnett. DP: desvio padrão.

1165

1166

**APÊNDICE 3 – Figura 02**

1167



1168

1169 Figura 02 – Média das contagens de mesófilos em função do tempo.

1170