

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

JOSÉ LUIZ MARTINS SILVA

**Pesquisa de microrganismos indicadores e *Salmonella*
spp. na superfície de carcaça de coelhos**

Pirassununga
2022

JOSÉ LUIZ MARTINS SILVA

**Pesquisa de microrganismos indicadores e *Salmonella*
spp. na superfície de carcaça de coelhos**

Versão Corrigida

Dissertação apresentada à
Faculdade de Zootecnia e
Engenharia de Alimentos da
Universidade de São Paulo, como
parte dos requisitos para obtenção
do título de Mestre em Ciências.

Área de Concentração: Qualidade e
Produtividade Animal

Orientadora: Profa. Dra. Ana Maria
Centola Vidal

Pirassununga
2022

Ficha catalográfica elaborado pelo

Serviço de Biblioteca e Informação, FZEA/USP, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Silva, José Luiz

S586p Pesquisa de microrganismos indicadores e *Salmonella* spp. na superfície de carcaça de coelhos / José Luiz Martins Silva orientadora Ana Maria Centola Vidal. -- Pirassununga, 2022.

47 f.

Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação em Zootecnia) -- Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo.

JOSÉ LUIZ MARTINS SILVA

**Pesquisa de microrganismos indicadores e *Salmonella* spp. na superfície de
carcaça de coelhos**

Dissertação apresentada à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Data de aprovação: ____/____/____

Banca Examinadora:

Profa. Dra. Ana Maria Centola Vidal (FZEA-USP) – Presidente da Banca Examinadora

Prof. Dr. Higor Oliveira Silva – (Faculdade Cidade de Coromandel)

Profa. Dra. Bruna Maria Salotti de Souza (UFMG)

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho aos meus pais Nilson Donizette da Silva e Maria de Melo Martins Silva.

AGRADECIMENTOS

Agradeço á Deus pela saúde, força de vontade, sabedoria e proteção para conseguir realizar esse trabalho de grande importância na minha vida.

Aos meus pais Nilson e Maria de Melo por sempre me apoiarem e incentivarem em todas as etapas de minha vida, sem vocês nada disso teria acontecido.

Às minhas irmãs Thânia e Juliana que sempre estiveram do meu lado, me dando força para seguir adiante.

Às minhas sobrinhas Anelise e Angelina por serem minha motivação nos momentos mais difíceis.

À minha namorada Gabriela pelo companheirismo, incentivo e compreensão nos momentos de ausência.

Às minhas avós Maria Júlia e Maria do Carmo (*in memoriam*) pelo carinho, cuidado e orações.

Agradeço à toda minha família e aos meus amigos que sempre torceram por mim, em especial ao meu tio Élcio pelo incentivo, conselhos e por sempre acreditar em mim.

À minha orientadora Ana Maria Centola Vidal pela oportunidade de realizar esse trabalho e pelos ensinamentos compartilhados. Obrigado pela confiança, disponibilidade e paciência.

Agradeço em especial à zootecnista e mestre Danielle de Cássia Martins da Fonseca por não medir esforços para auxiliar no desenvolvimento desse trabalho.

Agradeço às colegas e pesquisadoras do laboratório Quali-POA: Elizangela, Alenia, Marta, Joyce, Thaís e Luísa pela atenção e colaboração no decorrer dos trabalhos.

Agradeço à Andreia, responsável técnica do laboratório Quali-POA pela disponibilidade e empenho durante as atividades práticas no laboratório.

Aos colaboradores do Frigorífico Sant'anna: João Santana, Leandro, Leonardo, Marcelo, Ivonésio e Célia, obrigado pelo interesse e prontidão.

Aos colegas auditores do serviço de inspeção federal João Irineu e Rainer pelo apoio e confiança.

À Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos de São Paulo pela estrutura física, fornecimento de material e corpo docente, fundamentais para execução desse trabalho.

RESUMO

SILVA, J. L. M. **Pesquisa de microrganismos indicadores e *Salmonella* spp. na superfície de carcaça de coelhos**. 2022. 47. Dissertação – (Mestrado) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2022.

O coelho europeu é um animal que apresenta características zootécnicas adequadas para produção de carne, podendo esta, ser uma fonte de proteína animal alternativa para atender a demanda mundial de produção de alimentos. O pré-resfriamento em tanque de imersão refere-se a uma etapa que interfere diretamente no controle microbiano das carcaças. O objetivo do presente trabalho foi verificar, a interferência de três diferentes temperaturas da água do tanque de pré-resfriamento de carcaças de coelhos (4°C, 7°C e 10°C) em relação a contagem de microrganismos indicadores e presença de *Salmonella* spp. nas superfícies das carcaças, antes e depois de serem imersas no tanque de pré-resfriamento, na água utilizada no tanque, antes e depois da imersão das carcaças, e no gelo utilizado para resfriar a água do tanque. Para contagem de microrganismos heterotróficos aeróbios mesófilos, houve aumento significativo da população na superfície das carcaças de coelhos no tratamento 1 (4°C) e no tratamento 3 (10°C) e foi observado efeito de interação entre o aumento da população microbiana e a imersão das carcaças no tanque de pré-resfriamento. Para as enterobactérias, todos os tratamentos apresentaram aumento significativo nas contagens da superfície das carcaças e foi observado efeito de interação entre o aumento da população de enterobactérias na superfície das carcaças com a imersão no tanque de pré-resfriamento. Na contagem de estafilococos coagulase positiva, também houve aumento significativo na população da superfície das carcaças em todos os tratamentos não foi observado efeito de interação entre o aumento da carga microbiana e a imersão das carcaças no tanque. As amostras de água apresentaram contagens de microrganismos heterotróficos aeróbios mesófilos, de estafilococos coagulase positiva e enterobactérias apenas após a imersão das carcaças no tanque de pré-resfriamento. Não foi observada população dos microrganismos indicadores pesquisados em nenhuma das amostras de gelo coletadas em todos os tratamentos. Não foi detectada a presença de *Salmonella* spp. nas amostras de carcaça, água e de gelo. Conclui-se que, as três temperaturas, 4°C, 7°C e 10°C, não foram capazes de controlar a proliferação dos microrganismos indicadores nas superfícies das carcaças e na água depois da imersão das carcaças no tanque de pré-resfriamento.

Palavras-chave: Enterobactérias, Estafilococos, Lagomorfo, Mesófilo, Patogênico, Resfriamento.

ABSTRACT

SILVA, J. L. M. **Research of indicator microorganisms and *Salmonella* spp. on surface of rabbit carcasses.** 2022. 47f. Dissertação – (Mestrado em Zootecnia) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2022.

The European rabbit is an animal that shows ideal zootecnic characteristics for meat production. In addition, rabbit meat has excellent nutritional value, with high protein content and low fat content. The pre-chiller in an immersion tank, which step directly interferes with microbial control. The aim of this study is to verify the interference of three different temperatures (4°C, 7°C and 10°C) of the water used in the carcass pre-chiller tank in relation to the counting of indicator microorganisms and the presence of *Salmonella* spp. on the surfaces of the carcasses, the water used in the tank and the ice used to control the temperature of the tank. In the analysis of mesophilic, aerobic, heterotrophic bacteria, there was a meaning increase in the count this on the surface of the rabbits carcasses in the first treatment (4°C) and third treatment (10°C), interaction effect was noticed between increase of the microbial population and immersion of carcasses in the pre-chiller tank. There was count of mesophilic, aerobic, heterotrophic bacteria in the water samples after immersion in the pre-chiller. About enterobacteria, all treatments showed significant increase in the carcass samples, interaction effect was observed between increase of enterobacteria population and carcass immersion in the pre-chiller tank. Contamination by enterobacteria was noticed in the water samples after immersion of the carcass in the pre-chiller tank. Coagulase-positive staphylococci count, there was significant increase in the carcass samples in all treatments. Interaction effect wasn't observed between increase microbial rate and carcass immersion in the tank. The water samples showed coagulase-positive staphylococci count after carcass immersion in the tank. Growth of indicator microorganisms wasn't noticed in the ice samples in all treatments. The presence of *Salmonella* spp. wasn't detected in ice and carcass samples. So the temperatures used (4°C, 7°C and 10°C), wasn't efficient to contain the proliferation of indicator microorganisms in the water and carcass samples after carcass immersion in the pre-chiller tank and there wasn't influence with presence of *Salmonella* spp., because this wasn't isolated either before or after the immersion.

Keywords: Enterobacteria. Staphylococci. Lagomorph. Mesophilic. Chiller. Pathogenic.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Fluxograma de abate de coelhos.....	17
Figura 2 – Fluxograma de abate de aves.....	17

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Descrição dos tratamentos, amostras e repetições utilizadas para execução do projeto.	26
Tabela 2 – Análise da variância para causa de variação tratamento (temperatura 4°C, 7°C e 10°C) antes (CA) e depois (CD) da imersão das carcaças em tanque de pré-resfriamento para contagem de microrganismos heterotróficos aeróbios mesófilos (MES).	31
Tabela 3 – Efeito da imersão das carcaças, antes (CA) e depois (CD), em tanque de pré-resfriamento, nas temperaturas de 4°, 7° e 10°C sobre a contagem de microrganismos heterotróficos aeróbios mesófilos (MES).	32
Tabela 4 – Análise da variância para causa de variação tratamento (temperatura 4°C, 7°C e 10°C) antes (CA) e depois (CD) da imersão das carcaças em tanque de pré-resfriamento para contagem de enterobactérias.	33
Tabela 5 – Efeito da imersão das carcaças, antes (CA) e depois (CD), em tanque de pré-resfriamento, nas temperaturas de 4°, 7° e 10°C sobre a contagem de enterobactérias.	34
Tabela 6 – Análise da variância para causa de variação tratamento (temperatura 4°C, 7°C e 10°C) antes (CA) e depois (CD) da imersão das carcaças em tanque de pré-resfriamento para contagem de estafilococos coagulase positiva (ECP)	35
Tabela 7 – Efeito da imersão das carcaças, antes (CA) e depois (CD), em tanque de pré-resfriamento, nas temperaturas de 4°, 7° e 10°C sobre a contagem de estafilococos coagulase positiva (ECP)	36

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BP	Baird-Parker
BS	Bismuto sulfito
CA	Carcaça antes da imersão no tanque de pré-resfriamento
CD	Carcaça depois da imersão no tanque de pré-resfriamento
DIPOA	Departamento de inspeção de produtos de origem animal
EB	Enterobactérias
EC	Caldo <i>E.coli</i>
ECP	Estafilococos coagulase positiva
EHEC	Entero-hemorrágica
FAO	<i>Food and Agriculture Organization of the United Nations</i>
HE	Entérico de Hectoen
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
LIA	Lisina Descarboxilasee
MES	Microrganismos heterotróficos aeróbios mesófilos
NMP	Número mais provável
PCA	Ágar padrão para contagem
RIISPOA	Regulamento de inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal
SC	Selenito cistina
SIF	Serviço de Inspeção Federal
STEC	Shigatoxina
TT	Caldo tetratoato
UFC	Unidade Formadora de Colônia
VRBGA	Violet Red Bile Glucose Agar
VTEC	Veratoxina
XLD	Xilose lisina desoxicolato

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 REVISÃO	16
2.1 Abatedouro frigorífico de coelho.....	16
2.2 Microrganismos indicadores.....	19
2.3 <i>Salmonella</i> spp. na carcaça de coelho	23
3 OBJETIVOS	25
4. MATERIAL E MÉTODOS	25
4.1 Amostragem	25
4.1.1 Características do estabelecimento	26
4.1.2 Coleta das amostras das superfícies das carcaças	27
4.1.3 Coleta das amostras de água e gelo.....	28
4.2 Análises microbiológicas.	28
4.2.1 Contagem de microrganismos heterotróficos aeróbios mesófilos	28
4.2.2 Contagem de estafilococos coagulase positivos	29
4.2.3 Contagem de enterobactérias	29
4.2.4 Isolamento de <i>Salmonella</i> spp.	29
4.3 Análise estatística	30
5 RESULTADOS	31
5.1 Contagem de microrganismos heterotróficos aeróbios mesófilos	31
5.1.1 Amostra das carcaças antes e depois da imersão no tanque de pré-resfriamento (4°C, 7°C e 10°C)	31
5.1.2 Amostra da água antes e após a entrada das carcaças no tanque de pré-resfriamento e do gelo.....	33
5.2 Contagem de enterobactérias.....	33
5.2.1 Amostra das carcaças antes e depois da imersão no tanque de pré-resfriamento (4°C, 7°C e 10°C)	33
5.2.2 Amostra da água ante e após a entrada das carcaças no tanque de pré-resfriamento e do gelo.....	35
5.3 Contagem de estafilococos coagulase positivos	36
5.3.1 Amostra das carcaças antes e depois da imersão no tanque de pré-resfriamento (4°C, 7°C e 10°C)	36
5.3.2 Amostra da água antes e após a entrada das carcaças no tanque de pré-resfriamento e do gelo.....	37
5.4 Presença de <i>Salmonella</i> spp.....	38
6 DISCUSSÃO	38
7 CONCLUSÃO	42

REFERÊNCIAS.....	43
------------------	----

1. INTRODUÇÃO

O coelho europeu, pertence à ordem Lagomorpha, gênero *Oryctolagus* e espécie *Oryctolagus cuniculus*, é classificado como herbívoro, monogástrico e fermentador do intestino superior, que através da cecotrofia, consegue obter proteínas e vitaminas, são criados principalmente para produção de carne e pele (ROLIM, 2014; CULLERE; DALLE ZOTTE, 2018).

Quanto às características zootécnicas, o coelho europeu apresenta ciclo de vida curto, maturidade sexual precoce, alta taxa de reprodução, rápido período de gestação, alta capacidade de conversão alimentar e utilização eficiente do espaço terrestre, além disso, a criação de coelho é uma atividade que apresenta baixo impacto ambiental (CULLERE; DALLE ZOTTE, 2018; CHEEKE, 1980 apud PETRESCU; PETRESCU-MAG, 2018) e segundo Bonamigo et al. (2017) a cunicultura no Brasil é uma atividade sustentável que pode ajudar a complementar a renda dos produtores e a diversificar a produção das carnes que são comercializadas no país.

Em relação às características intrínsecas, a carne de coelho possui alto teor de proteína, baixo teor de gordura e contém poucas calorias por grama, apesar disso, não é um produto comercializado em grande escala como a carne de bovinos, suínos e aves, isso acontece devido a fatores culturais e também pelo preço que é superior ao da carne de aves (CASSIDRA, 2015, CULLERE; DALLE ZOTTE, 2018; DALLE ZOTTE; SZENDRO, 2011; PETRACCI; SOGLIA; LEROY, 2018). No entanto, em razão das características nutricionais favoráveis à saúde, a carne de coelho pode se tornar uma opção para os consumidores que buscam alimentos saudáveis (CULLERE; DALLE ZOTTE, 2018), principalmente para crianças, sendo o seguimento infantil interessante para a indústria de carne de coelhos (ESCRIBÁ-PÉREZ et al., 2019).

O consumo e produção de carne de coelho é comum em alguns países europeus como Espanha, Itália e França (PETRACCI; SOGLIA; LEROY, 2018) no entanto, o país que se destaca com a maior produção é a China. Segundo a *Food and Agriculture Organization of the United Nations* a produção mundial de coelhos no ano de 2019 foi de 299.945.000 cabeças, sendo a China responsável por 77,5%, a Europa cerca de 3,2% e a América 2,1%.

No Brasil, a região sul se sobressai em relação às demais regiões, de acordo com o último levantamento do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) sobre o número de coelhos, feito em 2017, a produção nacional de coelhos foi de 200.345 animais. O estado com maior número de animais é o Rio Grande do Sul, seguido do Paraná e Santa Catarina, a região sul totaliza 59,62% de toda produção nacional (IBGE, 2017).

Com o crescimento populacional estimado para os próximos anos, a demanda por alimentos também se eleva, segundo a *Food and Agriculture Organization of the United Nations* (FAO) a produção mundial de carnes terá que aumentar em mais de 200 milhões de toneladas até o ano de 2050. Com isto, a produção de carne de coelhos pode ser uma alternativa para que se atinja este objetivo (FAO, 2017).

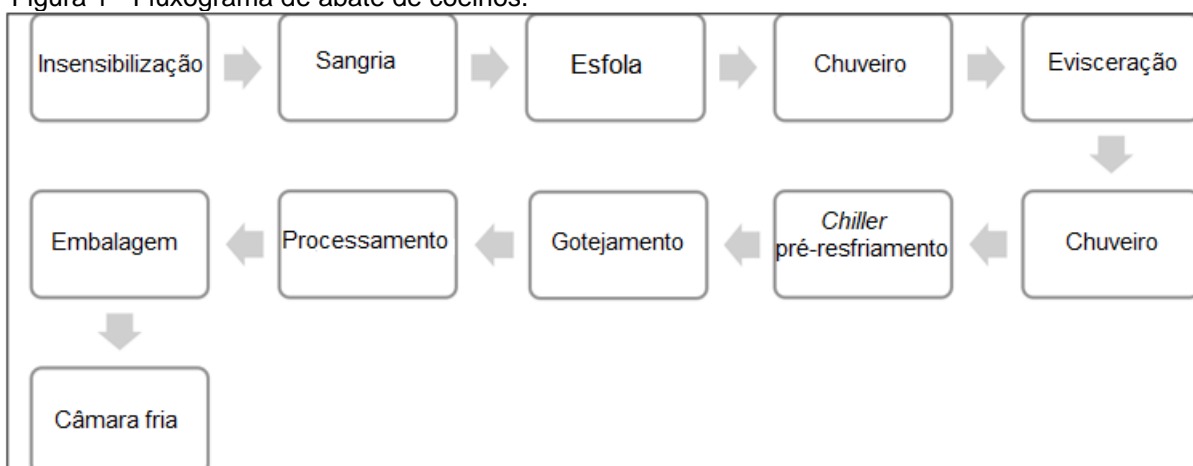
Em alguns países, a produção de carne de coelho em grande escala já é realidade, fazendo com que aumente a preocupação com a qualidade microbiológica do produto. Poucos estudos relacionados ao perfil microbiológico de carcaças de coelhos estão disponíveis, nem mesmo existe legislação específica para produção e abate desses animais. No Brasil, os lagomorfos são citados brevemente em uma subseção do Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA) relacionada à inspeção *post mortem* (BRASIL, 2020), no entanto, faz-se necessário que estudos referentes à espécie sejam realizados, com intuito de estabelecer normas e diretrizes para a produção e o abate de coelhos.

2. REVISÃO

2.1 ABATEDOURO FRIGORÍFICO DE COELHOS

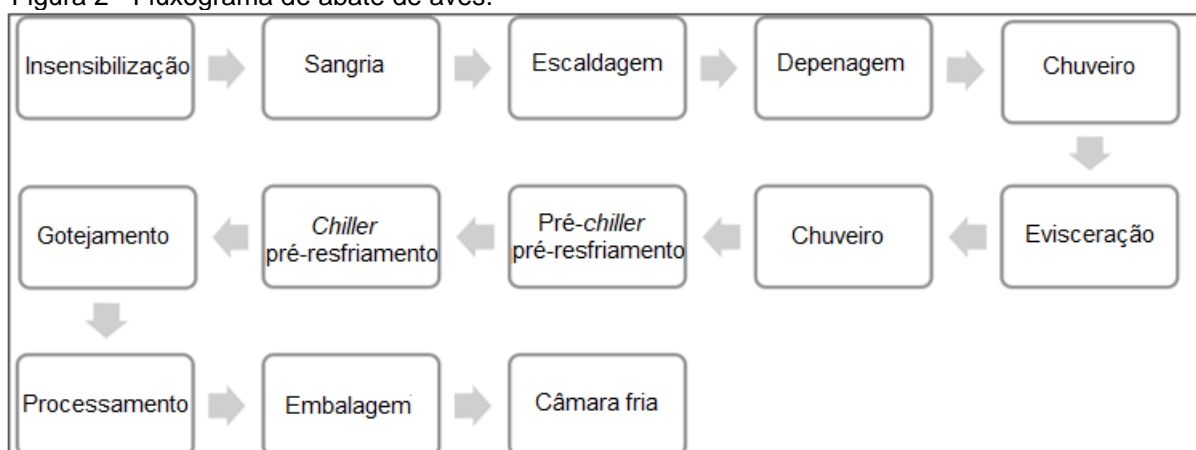
O RIISPOA (BRASIL, 2020) permite que mais de uma espécie animal seja abatida no mesmo estabelecimento, desde que se respeite as exigências técnicas de cada uma delas. Por apresentarem o mesmo porte, o abate de coelhos (Fig.1) se assemelha com o de aves (Fig.2), no entanto, a presença de pelos nos coelhos e de penas nas aves faz com que as operações de remoção sejam diferentes (SIMONATO, 2008; FERREIRA et al., 2018).

Figura 1 - Fluxograma de abate de coelhos.



Adaptado de Petracci e Cavani, 2004.

Figura 2 - Fluxograma de abate de aves.



Adaptado de Ferreira et al., 2018.

O processo de remoção dos pelos se dá pela esfola, enquanto que para a retirada das penas é necessária a realização da escaldagem e depenagem (PETRACCI; CAVANI, 2004; ZAGOREC; TRESSE; ROUGER, 2017; SIMONATO, 2008; FERREIRA et al., 2018).

A retirada das penas das aves se inicia obrigatoriamente após a sangria, pela escaldagem, em condições de tempo e temperatura definidos (Fig. 2) (BRASIL, 1998). Essa etapa tem como principal objetivo dilatar o folículo das penas para facilitar a sua remoção (ZAGOREC; TRESSE; ROUGER, 2017). O processo consiste em submeter as aves em água aquecida por vapor, podendo também utilizar outros métodos desde que seja aprovado pelo Departamento de inspeção de produtos de origem animal (DIPOA). Após a escaldagem, é feita a depenagem, de forma mecanizada com as aves suspensas pelos pés (BRASIL, 1998).

Nos coelhos, a retirada da pele se dá pelo procedimento de esfolagem manual, após a sangria se inicia a esfolagem com a retirada dos membros dianteiros, corte das orelhas e retirada da pele da cabeça. Posteriormente, a pele que recobre o corpo é removida por tração manual e por fim os membros traseiros são cortados (PETRACCI; CAVANI, 2004).

Outra diferença observada entre as etapas do fluxograma de abate acontece na realização do pré-resfriamento, o qual no fluxograma de aves tem-se o pré-*chiller* e o *chiller* (FERREIRA et al., 2018), enquanto que nos coelhos apenas o *chiller* (SIMONATO, 2008).

O pré-resfriamento acontece em ambas espécies, e tem como objetivo diminuir a temperatura das carcaças evitando possíveis alterações sensoriais e microbiológicas, pois a temperatura de refrigeração diminui possíveis problemas com microrganismos mesófilos já que desaceleram a taxa de multiplicação dos mesmos (FRANCO; LANDGRAF, 2003; HERNANDEZ, 2008). As carcaças das aves encontram-se em temperatura elevada por serem submetidas à escaldagem prévia (BIER et al., 2018).

O método mais comum de pré-resfriamento das carcaças de aves se dá pela imersão em água por resfriadores contínuos tipo rosca sem fim. A água utilizada nesses resfriadores deve apresentar padrão de potabilidade e ser renovada conforme o peso das carcaças que entram no tanque, sendo no mínimo 1,5 litros de água por carcaça no pré-*chiller* e 1 litro de água no *chiller* para carcaças de até 2,5 Kg. A temperatura da água no tanque não pode ser superior a 16°C no pré-*chiller* e 4°C no *chiller*. A carcaça pode permanecer no máximo 30 minutos no pré-resfriamento e ao final do processo a carcaça deve apresentar até 7°C, com tolerância de 10°C quando elas forem congeladas imediatamente (BRASIL, 1998).

O método de pré-resfriamento por imersão também é realizado no abate de coelhos, respeitando as particularidades da espécie, no entanto, outros métodos podem ser utilizados, como é feito em outros países. Petracchi e Cavani (2004) descreveram que na Itália a forma mais comum para o pré-resfriamento da carcaça de coelhos se dá pela passagem das carcaças, ainda penduradas, por túneis de circulação de ar, podendo fazer o uso da pulverização de água para otimizar o processo e Lopez et al. (2004) relataram o mesmo método é utilizado nos abatedouros de coelho na Espanha.

2.2 MICRORGANISMOS INDICADORES

Os microrganismos indicadores, em geral, são utilizados para verificar a qualidade microbiológica dos alimentos (SILVA et al., 2017). Populações elevadas desses microrganismos podem indicar a possível presença de patógenos, uma vez que, as características e a taxa de multiplicação de ambos são semelhantes (RAJAPAKSHA et al., 2019). Os microrganismos indicadores também são considerados uma ferramenta importante na indústria de alimentos, pois podem ser utilizados para mapear e monitorar os principais pontos de contaminação (BUSS et al., 2019).

Para ser considerado um indicador, o microrganismo não pode ser um contaminante natural do alimento, deve ser identificado de forma rápida e fácil, sendo distinguido dos outros microrganismos presentes, deve estar no alimento sempre que o patógeno estiver e ausente ou em quantidades mínimas quando ele não estiver, sua velocidade de multiplicação e de morte deve ser semelhante à do patógeno e a velocidade de morte pode ser levemente superior (RAJAPAKSHA et al., 2019). Essas características são importantes, mas nem sempre todas elas são observadas (FRANCO; LANDGRAF, 2003; FORSYTHE, 2013).

Os indicadores mais comuns são os de origem fecal (FORSYTHE, 2013), neste caso, além de apresentarem as características de um indicador, eles devem estar presentes exclusivamente no trato gastrointestinal dos seres humanos e animais de sangue quente, serem encontrados em grandes quantidades nas fezes e se mostrarem altamente resistente no ambiente (FRANCO; LANDGRAF, 2003).

Dentre os indicadores de origem fecal, o grupo dos coliformes a 35°C que é um subgrupo da família *Enterobacteriaceae*, onde encontram-se apenas as bactérias capazes de fermentar a lactose com produção de gás a 35°C, nessa definição, estão bactérias entéricas, como também bactérias não entéricas como a *Klebsiella* e *Enterobacter* (SILVA et al., 2017).

Os coliformes termotolerantes são um subgrupo dos coliformes totais, que é exclusivo para microrganismos que têm a capacidade de fermentar a lactose a 44,5° e 45,5°C, com produção de gás. A nomenclatura coliformes fecais, têm sido substituída por coliformes termotolerantes, uma vez que, não são encontradas apenas bactérias entéricas (*Escherichia coli*) nesse grupo, mas também

microrganismos de origem não fecal como a *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae* e *Citrobacter freundii* (SILVA et al., 2017).

A enumeração das enterobactérias é usada como indicador da eficiência do processo de higienização dos estabelecimentos de alimentos (BIER et al., 2018), pois, essas são sensíveis à ação de desinfetantes, e em situação de má higienização, esses microrganismos são capazes de colonizar o ambiente. Além disso, a contagem elevada de enterobactérias no alimento pode indicar falha no processamento com uso de calor ou contaminação pós-processamento, pois os coliformes são facilmente destruídos por temperaturas elevadas (SILVA et al., 2017). Maniero et al. (2008) avaliaram o procedimento de limpeza de quatro abatedouros frigoríficos de coelho em Veneto, Itália, com base na contagem das enterobactérias e de *E.coli* e concluíram que os estabelecimentos não se enquadram no padrão de higiene estabelecido pelo regulamento da comissão europeia de 2005.

Outros grupos de microrganismos indicadores também são usados frequentemente, como por exemplo, a contagem de microrganismos heterotróficos aeróbios mesófilos e a contagem de estafilococos coagulase positiva (FORSYTHE, 2013; SILVA et al., 2017).

A contagem de microrganismos heterotróficos aeróbios mesófilos não diferencia os tipos de bactérias, mas aponta falhas na sanitização ou no controle do processo e é utilizado como indicador sanitário e de vida de prateleira do alimento (FORSYTHE, 2013; SILVA et al., 2017).

As bactérias mesófilas possuem capacidade de multiplicação ampla, de 5° a 50°C e temperatura ótima de 25° a 40°C. Dentro desse grupo, está a maioria dos microrganismos patogênicos (FRANCO; LANDGRAF, 2003). Bier et al. (2018) relatam que a grande quantidade de microrganismos aeróbios mesófilos no alimento pode estar associada à presença, em níveis significativos, de patógenos entéricos como a *Salmonella* spp. e algumas cepas de *Escherichia coli*, como a *Escherichia coli* entero-hemorrágica (EHEC), *Escherichia coli* produtora de verotoxina (VTEC) e *Escherichia coli* produtora de shigatoxina (STEC).

Além de indicarem a possível presença de patógenos, a grande quantidade desses microrganismos heterotróficos aeróbios mesófilos no alimento também pode levar a alterações nas características sensoriais, resultando na deterioração. Katiyo et al. (2020) demonstraram que a contagem elevada de microrganismos mesófilos está associada com alterações sensoriais na carne de frango e que na maioria das

vezes não afeta a percepção em relação a cor e a aparência, por isso, mesmo que não seja detectada a presença do patógeno e não tenha ocorrido nenhuma alteração visível, todo alimento com contagem elevada de microrganismos heterotróficos aeróbios mesófilos deve ser considerado impróprio para o consumo.

Alguns fatores podem afetar a multiplicação dos microrganismos heterotróficos aeróbios mesófilos na carne, como por exemplo, a sazonalidade. Kim, Hur e Yim (2018) investigaram os níveis de contaminação em amostras de carne de bovinos, suínos e aves. A contagem de microrganismos aeróbios mesófilos em placas foi mais alta no verão e mais baixa no inverno. Allen et al. (2006) também notaram o aumento da contaminação no verão.

Sendo assim, a contagem de microrganismos heterotróficos aeróbios mesófilos tem papel importante na determinação das condições de higiene na indústria da carne, podendo indicar falhas que podem comprometer a qualidade sanitária e deterioração do alimento (BUESS et al., 2019)

A contagem de estafilococos coagulase positiva também é utilizada na indústria de alimentos como indicador de qualidade (FRANCO; LANDGRAF, 2003).

O grupo dos estafilococos coagulase positiva recebe esse nome, pois possui uma enzima chamada coagulase. Essa enzima converte o fibrinogênio em fibrina, formando um coágulo visível. A enzima pode ser encontrada na forma ligada ou livre. A forma ligada da enzima é conhecida como *clumping factor* e a coagulase livre *clotting factor*. A coagulase positiva pode ser um indicativo de fator de patogenicidade entre as espécies de *Staphylococcus*. O *Staphylococcus aureus* é o patógeno mais comum entre os estafilococos coagulase positiva e várias cepas produzem enterotoxinas (SILVA et al., 2017).

Esses microrganismos são encontrados principalmente na pele e nas mucosas, por isso, a principal forma de contaminação dos alimentos, pelos estafilococos coagulase positiva, se dá pelos manipuladores, embora os equipamentos, utensílios e o ambiente também possam contaminar o produto. Os alimentos que passam por manipulação e permanecem por mais tempo em temperatura ambiente são os de maior risco (FRANCO; LANDGRAF, 2003).

Os estafilococos coagulase positiva de maior interesse para microbiologia de alimentos são o *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermedius*, e o *Staphylococcus hyicus* que apresenta coagulase variável (QUINN et al., 2019). O *Staphylococcus aureus* é um microrganismo pouco encontrado na carcaça de aves,

mas frequentemente detectado na carcaça de coelhos. Bortolaia, Espinos-Gongora e Guardabassi (2016), mostraram os riscos à saúde dos seres humanos associados com *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus* na carne de aves. Os autores concluíram que o *Staphylococcus aureus* é um microrganismo oportunista, que pode levar a casos de infecção em seres humanos por contato direto ou a intoxicações pela ingestão de toxinas, a contaminação cruzada dos alimentos durante o manuseio também possibilita o aparecimento da doença, no entanto, na carne de aves a carga bacteriana geralmente é baixa, fazendo com que os riscos de intoxicação também sejam baixos.

Alguns estudos com estafilococos coagulase positiva envolvidos na carne de coelho mostraram resultado similar, Miraglia et al. (2020) não identificaram os estafilococos coagulase positiva em nenhuma carcaça. O mesmo resultado foi obtido no estudo de Badiani et al. (2017), indicando eficiência nos programas de boas práticas de abate. No entanto, Kohler et al. (2008) avaliaram amostras fecais e de carcaças de coelhos para obter dados sobre os microrganismos. Os resultados mostraram que 30,6% das carcaças apresentavam estafilococos coagulase positiva, desses, 98,7% foram identificados como *Staphylococcus aureus*. Merz, Stephan e Johler (2016) caracterizaram *Staphylococcus aureus* isolados nas carcaças de coelhos, sendo que os mesmos mostravam ampla heterogeneidade, a maioria deles também foi relatada em seres humanos e animais e apresentavam pelo menos um gene de enterotoxina.

A doença transmitida pelo *Staphylococcus aureus* é conhecida como intoxicação alimentar estafilocócica. É provocada pela ingestão de enterotoxinas pré-formadas nos alimentos enquanto ocorre a multiplicação da bactéria (SILVA et al., 2017).

Os sintomas da intoxicação alimentar estafilocócica, aparecem de uma a sete horas após a ingestão, incluindo náuseas, vômitos, cólicas abdominais e ocasionalmente diarreia. Em casos mais graves pode ocorrer desidratação, dor de cabeça, dores musculares e alteração transitória da pressão arterial e pulsação. A recuperação acontece nas primeiras horas, no máximo um dia, e são raros os casos de morte. O diagnóstico é baseado nos sintomas, mais o achado de enterotoxinas pré-formadas ou estafilococos enterotoxigênico no alimento suspeito ou nas fezes e vômito do paciente (SILVA et al., 2017).

Sendo assim, nos coelhos, a importância dos estafilococos coagulase positiva se torna maior, pois a contagem alta desses microrganismos na carcaça pode indicar, além de falhas na manipulação, a possível presença do *Staphylococcus aureus* (KÖHLER et al., 2008).

2.3 *Salmonella* spp. EM CARÇA DE COELHO

O gênero *Salmonella* pertence à família *Enterobacteriaceae*, é gram negativo, apresenta formato de bastonete, anaeróbio facultativo e não forma esporos. A temperatura ótima de multiplicação é em torno dos 38°C (FORSYTHE, 2013).

A *Salmonella* infecta os seres humanos, e praticamente todos os animais domésticos e selvagens, incluindo pássaros e répteis. A presença de *Salmonella* spp., nos alimentos, água e ambiente deve-se a contaminação por fezes por indivíduos doentes ou portadores (QUINN et al., 2019). Nos seres humanos, as salmonelas causam principalmente gastroenterite, febre tifóide e outros tipos de infecção (FERREIRA; CAMPOS, 2008).

A gastroenterite é uma infecção aguda da mucosa intestinal causada pelas salmonelas não-tifóides. A infecção nos humanos por esses tipos de salmonelas é restrita ao intestino, seguida por diarreia inflamatória. De um modo geral, a principal forma de prevenção das gastroenterites, é a manipulação e preparo adequado dos alimentos. A febre tifóide é causada pela *Salmonella typhi* e *Salmonella paratyphi* e ocasionalmente por outros sorotipos, acontece mais frequentemente em crianças do que em adultos. Cerca de 10% dos casos desenvolvem uma doença grave e uma possível complicação consiste na perfuração do intestino (FORSYTHE, 2013).

A transmissão da *Salmonella* spp., para os seres humanos ocorre geralmente pela ingestão de alimentos contaminados, embora a transmissão pessoa a pessoa também possa acontecer. Produtos como ovos, carne e leite são os alimentos mais comumente relacionados como veiculadores da bactéria para os seres humanos (FERREIRA; CAMPOS, 2008). Em aves, algumas espécies infectam o ovário e a transmissão vertical pode acontecer (QUINN et al., 2019). A *Salmonella* é mais relatada em carnes, principalmente de aves. No caso dos derivados de ovos, os mais frequentes surtos estão ligados a ingestão de saladas, sorvetes e sobremesas (FRANCO; LANDGRAF, 2003).

Os sorotipos relacionados com as infecções de origem alimentar são a *Salmonella Enteritidis* e a *Salmonella Typhimurium* (SILVA et al., 2017).

A *Salmonella* está associada principalmente a carne de aves, Dallal et al. (2014) determinaram que a prevalência de *Salmonella* spp. em carne vermelha é menor do que em frangos. Gu et al. (2020) relataram a alta prevalência de *Salmonella* spp. em um abatedouro de frangos. *Salmonella Kentucky* e *Salmonella Enteritidis* foram os sorotipos mais encontrados. Cortez et al. (2006) relataram a ocorrência de *Salmonella* spp. em um abatedouro de frango onde foram coletadas amostras de fezes, penas e água (várias etapas). No total, 10% das amostras foram positivas para *Salmonella* spp., 5,6% para *Salmonella Enteritidis* e 2,4% para *Salmonella Typhimurium*. Como no Brasil, na classificação dos abatedouros frigoríficos, é permitido que aves e coelhos sejam abatidos na mesma planta (BRASIL, 2020), vale ressaltar que Maniero et al. (2008) verificaram que um abatedouro frigorífico que abate aves e depois coelhos, apresentou alta prevalência de salmonela em carcaças de coelhos, provavelmente devido a contaminação cruzada.

Nos coelhos alguns dos estudos mostraram resultados diferentes em relação a presença de *Salmonella* spp. em carcaças, Badr (2004) detectou a presença de *Salmonella* spp. na carne crua obtida num abatedouro de coelhos no Egito. Na Suíça, Kholer et al. (2008), não encontraram *Salmonella* spp. nas amostras de carcaça. Badianni et al. (2017) e Miraglia et al. (2020) obtiveram o mesmo resultado.

No Brasil existe uma grande preocupação com a *Salmonella*, está em vigor a instrução normativa nº 20 de 2016 do MAPA (BRASIL, 2016), que estabelece o controle e monitoramento de *Salmonella* spp. nos estabelecimentos avícolas comerciais de frangos e perus de corte e nos estabelecimentos de abate de frangos, galinhas, perus de corte e reprodução, registrados no serviço de inspeção federal (SIF), com objetivo de reduzir a prevalência deste agente e estabelecer um nível adequado de proteção ao consumidor. Nos estabelecimentos de abate são realizadas coletas de amostras para o controle e monitoramento da presença ou ausência da bactéria e fixados limites seguros.

3 OBJETIVOS

O objetivo do presente foi verificar a interferência de três diferentes temperaturas da água do tanque de pré-resfriamento de carcaças de coelhos (4°C, 7°C e 10°C), em relação a contagem de microrganismos indicadores e presença de *Salmonella* spp., nas superfícies das carcaças, antes e depois de serem imersas no tanque de pré-resfriamento, na água utilizada no tanque, antes e depois da imersão das carcaças, e no gelo utilizado para resfriar a água do tanque.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 AMOSTRAGEM

O experimento foi delineado com 3 tratamentos divididos de acordo com a temperatura da água do tanque de pré-resfriamento. Tt 1: temperatura da água do tanque de pré-resfriamento até 4°C; Tt 2: temperatura da água do tanque de pré-resfriamento à 7°C; Tt 3: temperatura da água do tanque de pré-resfriamento à 10°C.

Foram realizadas 15 coletas durante os anos de 2020 e 2021, sendo 5 repetições para cada tratamento (4°C, 7°C e 10°C).

Para cada repetição foram coletadas: 10 amostras de carcaça, sendo 5 antes de serem imersas no tanque de pré-resfriamento (CA) e 5 depois de serem imersas e permanecerem no tanque (CD), 2 amostras de água, na qual 1 amostra se refere a água do tanque antes da imersão das carcaças e 1 amostra da água do tanque depois da imersão das carcaças e uma amostra do gelo que é utilizado para o controle de temperatura do tanque.

Após cada coleta as amostras devidamente identificadas, foram colocadas em caixa térmica com gelo reutilizável e encaminhadas ao laboratório Quali-POA (FZEA/USP) na cidade de Pirassununga-SP para realização das análises microbiológicas. A distância entre o abatedouro e o laboratório é de 226,3 Km e a duração média da viagem foi de 3 horas e 10 minutos.

Tabela 1 - Descrição dos tratamentos, amostras e repetições utilizadas.

Tratamentos	Temperatura da água do tanque de pré-resfriamento	Número / tipos de Amostras	Repetições
Tt 1	4°C	5 / CA 5 / CD 1 / AA 1 / AD 1 / G	5
Tt 2	7°C	5 / CA 5 / CD 1 / AA 1 / AD 1 / G	5
Tt 3	10°C	5 / CA 5 / CD 1 / AA 1 / AD 1 / G	5

Legenda: Tt – tratamento, CA – carcaça antes da imersão em tanque de pré-resfriamento, CD – carcaça depois da imersão em tanque de pré-resfriamento, AA – água do tanque de pré-resfriamento antes da imersão das carcaças, AD – água do tanque de pré-resfriamento depois da imersão das carcaças, G – gelo utilizado para resfriar a água do tanque de pré-resfriamento.

4.1.1 CARACTERÍSTICAS DO ESTABELECIMENTO

As amostras utilizadas no estudo foram coletadas no abatedouro frigorífico de coelhos localizado na cidade de Paraguaçu-MG, fiscalizado pelo serviço de inspeção federal (SIF) e contém implantado todos os programas de autocontrole estabelecidos pelas legislações vigentes. O estabelecimento é classificado como de pequeno porte com capacidade diária de abate de até 500 coelhos, no entanto são abatidos em média 150 coelhos. A temperatura ambiente da cidade de Paraguaçu-MG variou de 14,6°C a 24,6°C tendo como média 19,6°C, durante o período experimental.

Pelo fato de não existir legislação específica para o abate de coelhos, as normas estabelecidas para o abate de aves são usadas como referência para definir um processo adaptado para a espécie, levando em consideração as diferenças entre as espécies, as condições higiênico-sanitárias e a realidade do frigorífico.

A etapa de pré-resfriamento das carcaças é adaptada devido ao pequeno número de animais abatidos por dia e pela rápida duração do processo de abate, cerca de 90 minutos. As carcaças dos animais usadas no experimento passaram por um único tanque de pré-resfriamento. O tanque é revestido em inox, apresenta 0,6 m de altura, 0,76 m largura e 1,2 m de comprimento e capacidade de 547 litros. A água presente no interior do tanque recircula por tubulação própria que passa por refrigeradores, no entanto, não são suficientes para evitar o aumento da temperatura. Por isso, o gelo é utilizado para melhor controle da temperatura, sendo o mesmo produzido no próprio estabelecimento.

O tanque de pré-resfriamento mantém as carcaças, sob temperatura de até 7°C no intervalo entre as etapas do abate e o início dos cortes/embalagem.

São usados os mesmos princípios do tanque de pré-resfriamento de aves, no entanto, a temperatura máxima da água é de 7°C, as carcaças ficam no tanque até a etapa de corte/embalagem, ou seja, as primeiras carcaças a entrarem no tanque permanecem submersas na água por um período maior de tempo do que as últimas carcaças que entram no tanque. No momento da saída do tanque, as carcaças devem apresentar temperatura de até 10°C.

A higienização do tanque é realizada antes e após o abate. É feito um enxague com água, posteriormente é adicionado cloro que recircula pela tubulação durante 30 minutos e após esse período é realizado mais um enxague com água.

4.1.2 COLETA DAS AMOSTRAS DAS SUPERFÍCIES DAS CARÇAÇAS

As cinco amostras CA foram coletadas de forma aleatória depois da passagem destas no chuveiro pós-evisceração, etapa que antecede a entrada no tanque de pré-resfriamento. As cinco amostras CD foram coletadas também de forma aleatória depois que as carcaças permaneceram imersas no tanque de pré-resfriamento.

O método utilizado para amostragem das carcaças foi a técnica de enxaguadura, utilizada para alimentos com contaminação predominantemente superficial. Após a retirada do excesso de água presente nas cavidades, devido a imersão em água, cada carcaça foi transferida para uma bolsa estéril e posteriormente pesada, foi adicionada a quantidade de água peptonada a 0,1%, equivalente ao peso da carcaça, na bolsa que posteriormente foi fechada e

massagiada. O líquido obtido foi utilizado tanto nos ensaios gerais de quantificação quanto nos ensaios de presença/ausência (SILVA et al., 2017). As carcaças foram coletadas de forma aleatória.

4.1.3 COLETA DAS AMOSTRAS DE ÁGUA E GELO

Foram coletadas duas amostras de 500 mL de água do tanque de pré-resfriamento em frascos tipo *scott* estéreis através da tubulação onde a água recircula, uma antes e outra depois da imersão das carcaças na água do tanque, a área externa da tubulação foi higienizada com etanol 70%, e o fluxo de saída diminuído para não haver respingos no frasco (SILVA et al., 2017).

Para a análise de gelo, as amostras foram coletadas com auxílio de colheres esterilizadas e transferidas para sacos estéreis, 500 g do gelo empacotado pronto para o uso.

4.2 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

4.2.1 CONTAGEM DE MICRORGANISMOS HETEROTRÓFICOS AERÓBIOS MESÓFILOS (SILVA et al., 2017)

Para determinação dos microrganismos heterotróficos aeróbios mesófilos (MES), foi realizada a contagem padrão em placas. Para tal, as amostras inicialmente foram diluídas em água peptonada a 0,1%.

Primeiramente obteve-se a diluição 10^{-1} , que após a homogeneização, foi retirado 25 mL e diluído em 225 mL de água peptonada a 0,1%, que posteriormente foi homogeneizada em velocidade reduzida. A diluição 10^{-2} foi obtida retirando-se 1 mL da diluição 10^{-1} e transferindo para um tubo contendo 9 mL de água peptonada a 0,1%, e assim sucessivamente, até atingir a diluição 10^{-3} .

Para o plaqueamento, foi transferido 0,1 mL de cada uma das três diluições para placas de Petri contendo PCA (*plate count agar*) e posteriormente o inóculo foi espalhado com auxílio da alça de *Drigalsky* e incubado a 35°C por 48 horas. Ao término do período de incubação estabelecido foi realizada a contagem das colônias nas placas para cada diluição.

4.2.2 CONTAGEM DE ESTAFILOCOCOS COAGULASE POSITIVA (SILVA et al., 2017)

Para contagem de estafilococos coagulase positiva (ECP) as mesmas diluições realizadas no item 4.2.1 foram utilizadas, foi retirado 0,1 mL de cada diluição e adicionado em placas de Petri contendo ágar *Baird-Parker* (BP) adicionado de emulsão de gema de ovo 50% e solução aquosa de telurito de potássio 3,5% e posteriormente, o inóculo foi espalhado na placa com auxílio da alça de *Drigalsky* e incubado a 35°C por 48 horas. Ao término do período de incubação estabelecido foi realizada a contagem das colônias típicas.

4.2.3 CONTAGEM DE ENTEROBACTÉRIAS (SILVA et al., 2017)

Seguindo com as análises, no caso das enterobactérias (EB) foi transferido 1 mL de cada diluição para placas de Petri esterilizadas e posteriormente foi adicionado ágar *Violet Red Bile Glucose Agar* (VRBGA). As placas foram homogeneizadas, e incubadas a 35°C por 48 horas. Depois de transcrito o tempo, verificou-se a característica das colônias típicas e foi realizada a contagem.

4.2.4 ISOLAMENTO DE *Salmonella* spp. (SILVA et al., 2017)

Para o isolamento da *Salmonella* spp. foi utilizado o método qualitativo, que indica presença ou ausência do microrganismo na amostra. A técnica utilizada foi a do enriquecimento em caldo específico, sendo essa dividida em duas etapas, o pré-enriquecimento e o enriquecimento seletivo, posteriormente isolamento em meios seletivos e confirmação.

O pré-enriquecimento constava-se na retirada de 25 mL da amostra para diluição em 225 mL de água peptonada a 0,1% que será homogeneizada e incubada a 35°C por 24 horas.

Na realização do enriquecimento seletivo, o frasco foi agitado delicadamente e transferido 1 mL para 10 mL de caldo selenito cistina (SC) e 10 mL de caldo tetracionato (TT), posteriormente incubados a 42°C por 24 horas.

Para realização do plaqueamento diferencial, os tubos foram agitados em vortex. Com auxílio da alça de platina, uma alçada do caldo TT foi estriada em

placas contendo ágar entérico de Hectoen (HE), ágar bismuto sulfito (BS) e ágar xilose lisina desoxicicolato (XLD). O mesmo procedimento era repetido com caldo SC. As placas foram incubadas a 35°C por 24 horas. Depois desse tempo foi verificado se houve desenvolvimento de colônias típicas de *Salmonella* spp..

No caso de desenvolvimento de colônias típicas de *Salmonella* spp. foram realizados os testes de Lisina Descarboxilase (LIA) e o Teste de Crescimento em Ágar Tríplice Ferro (TSI). A cultura suspeita era inoculada no tubo de LIA e TSI. Os tubos foram incubados a 37°C por 24 horas para realização da leitura

A confirmação se dava utilizando-se as culturas típicas do teste LIA e TSI. Submeteu-se essas amostras a kits específicos para *Salmonella* spp..

4.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Após a verificação da normalidade dos resíduos e a homogeneidade das variâncias, os resultados foram analisados pelo programa estatístico *Statistical Analysis System*[®], versão 9.4 (SAS, 2018). Com a distribuição normal dos dados, o procedimento estatístico adotado foi de acordo com os efeitos principais dos tratamentos, pelo comando Proc-GLIMMIX para as análises de carcaça (antes e depois) e pelo comando Proc-MIXED para as análises de água (antes e depois), adotando-se nível de significância de 5%. Os dados de temperaturas e tanques (antes e depois) foram analisados como variáveis classificatórias e os dados de coleta como variáveis resposta. Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado em arranjo fatorial, de acordo com o modelo estatístico abaixo:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + T^o_j + T_i \times T^o_j + e_{ij},$$

onde Y_{ij} = é o valor observado para contagem de microrganismos; μ = média geral; T_i = efeito fixo do tempo i ; T^o_j = efeito fixo de temperatura j ; $T_i \times T^o_j$ = efeito fixo da interação entre o tempo e temperatura; e e_{ij} = erro aleatório associado a cada observação.

5. RESULTADOS

5.1 CONTAGEM DE MICRORGANISMOS HETEROTRÓFICOS AERÓBIOS MESÓFILOS

5.1.1 Amostra de carcaças antes e depois da imersão no tanque de pré-resfriamento (4°C, 7°C e 10°C)

Na tabela 2 está apresentada a análise da variância para causa de variação tratamento (temperatura 4°C, 7°C e 10°C) antes (CA) e depois (CD) da imersão das carcaças em tanque de pré-resfriamento para contagem de microrganismos heterotróficos aeróbios mesófilos (MES). Onde para o Tt 1 e Tt 3 ocorreu aumento significativo da contagem de MES de 36,29 para 38,69 Log UFC.mL⁻¹ e de 36,72 para 88,06 Log UFC.mL⁻¹, respectivamente, enquanto que para Tt 2 houve uma diminuição significativa da contagem de 54,40 para 49,42 Log UFC.mL⁻¹.

Tabela 2 – Análise da variância para causa de variação tratamento (temperatura 4°C, 7°C e 10°C) antes (CA) e depois (CD) da imersão das carcaças em tanque de pré-resfriamento para contagem de microrganismos heterotróficos aeróbios mesófilos (MES).

Tratamento	Amostras	Microrganismo	P_valor
		MES (Log UFC.mL ⁻¹) ⁶	
Tt1 ¹	CA ⁴	36,29b	0,0006
	CD ⁵	38,69a	0,0003
Tt2 ²	CA ⁴	54,40a	<0,0001
	CD ⁵	49,42b	<0,0001
Tt3 ³	CA ⁴	36,72b	0,0005
	CD ⁵	88,06a	<0,0001

¹ Corresponde ao tratamento 1 - com água do tanque de pré-resfriamento a 4°C; ² Corresponde ao tratamento 2 - com água do tanque de pré-resfriamento a 7°C; ³ Corresponde ao tratamento 3 - com água do tanque de pré-resfriamento a 10°C; ⁴ Carcaça antes da imersão no tanque de pré-resfriamento; ⁵ Carcaça depois da imersão no tanque de pré-resfriamento; ⁶ Contagem de microrganismos heterotróficos aeróbios mesófilos em log de unidades formadoras de colônia por mL (log UFC.mL⁻¹). Letras iguais correspondem às médias que não diferem estatisticamente entre si, ao nível de significância de 5% (p < 0,05).

Na tabela 3 estão apresentadas as médias das contagens de microrganismos heterotróficos aeróbios mesófilos (MES) e o efeito da imersão das carcaças, antes (CA) e depois (CD), em tanque de pré-resfriamento, nas

temperaturas de 4°, 7° e 10°C sobre a contagem de microrganismos heterotróficos aeróbios mesófilos (MES). O Tt 1 foi o que apresentou menor média para contagem de MES nas CA e CD. No Tt 2 ocorreu uma diminuição na média da contagem de MES nas superfícies das carcaças depois da imersão em tanque de pré-resfriamento em água a 7°C, enquanto que, para o Tt 3 foi verificada a maior média da contagem de MES comparada com as temperaturas dos outros dois tratamentos.

Foi verificado efeito entre as médias da contagem de microrganismos heterotróficos aeróbios mesófilos e a temperatura da água do tanque nos três tratamentos, também foi verificado efeito significativo de interação em relação ao aumento da contagem média de microrganismos heterotróficos aeróbios mesófilos e a imersão das carcaças pelo tanque de pré-resfriamento no Tt 3 (10°C) e no Tt 1 (4°C), como pode ser observado na tabela 3.

Tabela 3 - Efeito da imersão das carcaças, antes (CA) e depois (CD), em tanque de pré-resfriamento, nas temperaturas de 4°, 7° e 10°C sobre a contagem de microrganismos heterotróficos aeróbios mesófilos (MES).

Amostras	Tratamento	Microrganismo	EPM	P_valor		
		MES (Log UFC.mL ⁻¹) 7		Temp ⁸	Tempo ⁹	Temp*Tempo ¹⁰
Carcaças antes (CA)	Tt1 ¹	36,29 bB	9,19	0,0397	0,0404	0,0104
	Tt2 ²	54,40 aB				
	Tt3 ³	36,72 bB				
Carcaças depois (CD)	Tt1 ⁴	38,69 aA				
	Tt2 ⁵	49,42 aB				
	Tt3 ⁶	88,06 aA				

¹ Corresponde ao tratamento 1 - carcaça antes da imersão no tanque de pré-resfriamento com água a 4°C; ² Corresponde ao tratamento 2 - carcaça antes da imersão no tanque de pré-resfriamento com água a 7°C; ³ Corresponde ao tratamento 3 - carcaça antes da imersão no tanque de pré-resfriamento com água a 10°C; ⁴ Corresponde ao tratamento 1 - carcaça depois da imersão no tanque de pré-resfriamento com água a 4°C; ⁵ Corresponde ao tratamento 2 - carcaça depois da imersão no tanque de pré-resfriamento com água a 7°C; ⁶ Corresponde ao tratamento 3 - carcaça depois da imersão no tanque de pré-resfriamento com água a 10°C; ⁷ Contagem de microrganismos heterotróficos aeróbios mesófilos em log de unidades formadoras de colônia por mL (log UFC.mL⁻¹)
⁸ Diferentes temperaturas da água do tanque de pré-resfriamento; ⁹ Carcaças antes e depois de entrar no tanque de pré-resfriamento; ¹⁰ Interação entre as diferentes temperaturas da água do tanque e os diferentes tempos da carcaça no tanque. Letras iguais correspondem às médias que não diferem estatisticamente entre si, ao nível de significância de 5% (p < 0,05). Letras diferentes correspondem às médias que diferem estatisticamente entre si, ao nível de significância de 5% (p < 0,05). Letras minúsculas correspondem a comparação das médias dentro da mesma variável temperatura (4°, 7° e 10°C). Letras maiúsculas correspondem a comparação das médias dentro da mesma variável tempo (antes ou depois).

EPM – erro padrão da média.

5.1.2 Amostra de água antes e depois da imersão das carcaças no tanque de pré-resfriamento e do gelo

A contagem média de MES nas amostras da água antes da imersão das carcaças no tanque de pré-resfriamento foi de 0 UFC.mL⁻¹ nos três tratamentos. Depois da imersão das carcaças no tanque de pré-resfriamento a contagem média foi de 8,0 log UFC.mL⁻¹, 13,0 log UFC.mL⁻¹ e 4,0 Log UFC.mL⁻¹ no Tt 1, Tt 2 e Tt 3, respectivamente.

Também não houve contagem de MES nas amostras de gelo analisadas no experimento.

5.2 CONTAGEM DE ENTEROBACTÉRIAS

5.2.1 Amostra de carcaças antes e depois da imersão no tanque de pré-resfriamento (4°C, 7°C e 10°C)

A tabela 4 apresenta a análise da variância para causa de variação tratamento (temperatura 4°C, 7°C e 10°C) antes (CA) e depois (CD) da imersão das carcaças em tanque de pré-resfriamento para contagem de enterobactérias. Houve aumento significativo na contagem de enterobactérias nos três tratamentos após a imersão das carcaças de coelhos no tanque de pré-resfriamento. O Tt 1 aumentou de 2,38 Log UFC.mL⁻¹ para 3,20 Log UFC.mL⁻¹, o Tt 2 de 1,88 Log UFC.mL⁻¹ para 4,15 Log UFC.mL⁻¹, e o Tt 3 aumentou de 2,97 Log UFC.mL⁻¹, para 4,83 Log UFC.mL⁻¹.

Tabela 4 – Análise da variância para causa de variação tratamento (temperatura 4°C, 7°C e 10°C) antes (CA) e depois (CD) da imersão das carcaças em tanque de pré-resfriamento para contagem de enterobactérias.

Tratamento	Amostras	Microrganismo	P_valor
		Enterobactérias (Log UFC.mL ⁻¹) ⁶	
Tt1 ¹	CA ⁴	2,38b	0,0137
	CD ⁵	3,20a	0,0015
Tt2 ²	CA ⁴	1,88b	0,0457
	CD ⁵	4,15a	0,0001
Tt3 ³	CA ⁴	2,97b	0,0029
	CD ⁵	4,83a	<0,0001

¹ Corresponde ao tratamento 1 - com água do tanque de pré-resfriamento a 4°C; ² Corresponde ao tratamento 2 - com água do tanque de pré-resfriamento a 7°C; ³ Corresponde ao tratamento 3 - com água do tanque de pré-resfriamento a 10°C; ⁴ Carcaça antes da imersão no tanque de pré-resfriamento; ⁵ Carcaça depois da imersão no tanque de pré-resfriamento; ⁶ Contagem de enterobactérias em log de unidades formadoras de colônia por mL (log UFC.mL⁻¹). Letras iguais correspondem às médias que não diferem estatisticamente entre si, ao nível de significância de 5% (p < 0,05).

Na tabela 5 estão apresentadas as contagens médias de enterobactérias e o efeito da imersão das carcaças, antes (CA) e depois (CD), em tanque de pré-resfriamento, nas temperaturas de 4°, 7° e 10°C sobre a contagem de enterobactérias. O Tt 1 foi o que apresentou menor média depois da imersão das carcaças pelo tanque de pré-resfriamento. A menor população de enterobactérias para as amostras de CA foi observada no Tt 2, no entanto, foi o tratamento que apresentou maior contagem média depois das carcaças serem imersas em tanque de pré-resfriamento quando se compara com as amostras de CA e CD entre cada tratamento. O Tt 3 apresentou maior média nas amostras de CA e CD.

Não foi observado efeito entre a contagem média de enterobactérias e os diferentes tratamentos (4°C, 7°C e 10°C), mas foi verificado nos três tratamentos efeito significativo de interação em relação a população de enterobactérias e a imersão das carcaças de coelhos no tanque de pré-resfriamento.

Tabela 5 - Efeito da imersão das carcaças, antes (CA) e depois (CD), em tanque de pré-resfriamento, nas temperaturas de 4°, 7° e 10°C sobre a contagem de enterobactérias.

Amostras	Tratamento	Microrganismo		P_valor		
		Enterobactérias (Log UFC.mL ⁻¹) ⁷	EPM	Temp ⁸	Tempo ⁹	Temp*Tempo ₀ ¹
Carcaças antes (CA)	Tt1 ¹	2,38aB	0,8962	0,4361	0,0337	0,7102
	Tt2 ²	1,89aB				
	Tt3 ³	2,97aB				
Carcaças depois (CD)	Tt1 ⁴	3,20aA				
	Tt2 ⁵	4,15aA				
	Tt3 ⁶	4,84aA				

¹ Corresponde ao tratamento 1 - carcaça antes da imersão no tanque de pré-resfriamento com água a 4°C; ² Corresponde ao tratamento 2 - carcaça antes da imersão no tanque de pré-resfriamento com água a 7°C; ³ Corresponde ao tratamento 3 - carcaça antes da imersão no tanque de pré-resfriamento com água a 10°C; ⁴ Corresponde ao tratamento 1 - carcaça depois da imersão no tanque de pré-resfriamento com água a 4°C; ⁵ Corresponde ao tratamento 2 - carcaça depois da imersão no tanque de pré-resfriamento com água a 7°C; ⁶ Corresponde ao tratamento 3 - carcaça depois da imersão no tanque de pré-resfriamento com água a 10°C; ⁷ Contagem de enterobactérias em log de unidades formadoras de colônia por mL (log UFC.mL⁻¹) ⁸ Diferentes temperaturas da água do tanque de pré-resfriamento; ⁹ Carcaças antes e depois de entrar no tanque de pré-resfriamento; ¹⁰ Interação entre as diferentes temperaturas da água do tanque e os diferentes tempos da carcaça no tanque. Letras iguais correspondem às médias que não diferem estatisticamente entre si, ao nível de significância de 5% (p < 0,05). Letras diferentes correspondem às médias que diferem estatisticamente entre si, ao nível de significância de 5% (p < 0,05). Letras minúsculas correspondem a comparação das médias dentro da mesma variável temperatura (4°, 7° e 10°C). Letras maiúsculas correspondem a comparação das médias dentro da mesma variável tempo (antes ou depois). EPM – erro padrão da média.

5.2.2 Amostra de água antes e depois da imersão das carcaças no tanque de pré-resfriamento e do gelo

A contagem média de enterobactérias nas amostras da água antes da imersão das carcaças no tanque de pré-resfriamento foi de 0 UFC.mL⁻¹ no Tt 1, Tt 2 e Tt 3. Depois da imersão das carcaças no tanque, a contagem média de enterobactérias foi de 6,66 log UFC.mL⁻¹, 6,07 log UFC.mL⁻¹ e 7,13 log UFC.mL⁻¹ nos tratamentos 1, 2 e 3, respectivamente.

Não foi verificada contagem de enterobactérias nas amostras de gelo analisadas no experimento.

5.3 CONTAGEM DE ESTAFILOCOCOS COAGULASE POSITIVA

5.3.1 Amostra de carcaças antes e depois da imersão no tanque de pré-resfriamento (4°C, 7°C e 10°C)

A tabela 6 apresenta a análise da variância para causa de variação tratamento (temperatura 4°C, 7°C e 10°C) antes (CA) e depois (CD) da imersão das carcaças em tanque de pré-resfriamento para contagem de estafilococos coagulase positiva (ECP). O Tt 1 apresentou aumento significativo de 62,99 Log UFC.mL⁻¹ para 95,11 Log UFC.mL⁻¹, o Tt 2 e o Tt 3 também aumentaram significativamente de 53,66 Log UFC.mL⁻¹ para 68,13 Log UFC.mL⁻¹, e de 49,46 Log UFC.mL⁻¹ para 67,55 Log UFC.mL⁻¹, respectivamente.

Tabela 6 – Análise da variância para causa de variação tratamento (temperatura 4°C, 7°C e 10°C) antes (CA) e depois (CD) da imersão das carcaças em tanque de pré-resfriamento para contagem de estafilococos coagulase positiva (ECP).

Tratamento	Amostras	Microrganismo	P_valor
		ECP (Log UFC.mL ⁻¹) ⁶	
Tt1 ¹	CA ⁴	62,99b	0,0007
	CD ⁵	95,11a	<0,0001
Tt2 ²	CA ⁴	53,66b	0,0028
	CD ⁵	68,13a	0,0003
Tt3 ³	CA ⁴	49,46b	0,0052
	CD ⁵	67,55a	0,0003

¹ Corresponde ao tratamento 1 - com água do tanque de pré-resfriamento a 4°C; ² Corresponde ao tratamento 2 - com água do tanque de pré-resfriamento a 7°C; ³ Corresponde ao tratamento 3 - com água do tanque de pré-resfriamento a 10°C; ⁴ Carcaça antes da imersão no tanque de pré-resfriamento; ⁵ Carcaça depois da imersão no tanque de pré-resfriamento; ⁶ Contagem de estafilococos coagulase positiva em log de unidades formadoras de colônia por mL (log UFC.mL⁻¹). Letras iguais correspondem às médias que não diferem estatisticamente entre si, ao nível de significância de 5% (p < 0,05).

Na tabela 7 estão apresentadas as contagens médias de estafilococos coagulase positiva e o efeito da imersão das carcaças, antes (CA) e depois (CD), em tanque de pré-resfriamento, nas temperaturas de 4°, 7° e 10°C sobre a contagem de estafilococos coagulase positiva. O Tt 3 apresentou menor contagem de

estafilococos coagulase positiva tanto nas amostras das CA quanto nas amostras das CD e o Tt 1 a maior contagem nas duas amostragens.

Não houve efeito de interação em relação ao aumento da contagem de estafilococos coagulase positiva e as temperaturas de 4°, 7° e 10°C. Também não foi verificado efeito de interação entre a imersão das carcaças no tanque de pré-resfriamento com a contagem de estafilococos coagulase positiva.

Tabela 7 - Efeito da imersão das carcaças, antes (CA) e depois (CD), em tanque de pré-resfriamento, nas temperaturas de 4°, 7° e 10°C sobre a contagem de estafilococos coagulase positiva (ECP).

Amostras	Tratamento	Microrganismo	EPM	P_valor		
		ECP (Log UFC.mL ⁻¹) 7		Temp ⁸	Tempo ⁹	Temp*Tempo ¹⁰
Carcaças antes (CA)	Tt1 ¹	62,99	16,09	0,3918	0,1139	0,8465
	Tt2 ²	53,66				
	Tt3 ³	49,47				
Carcaças depois (CD)	Tt1 ⁴	95,11				
	Tt2 ⁵	68,14				
	Tt3 ⁶	67,55				

¹ Corresponde ao tratamento 1 - carcaça antes da imersão no tanque de pré-resfriamento com água a 4°C; ² Corresponde ao tratamento 2 - carcaça antes da imersão no tanque de pré-resfriamento com água a 7°C; ³ Corresponde ao tratamento 3 - carcaça antes da imersão no tanque aferido de pré-resfriamento com água a 10°C; ⁴Corresponde ao tratamento 1 - carcaça depois da imersão no tanque de pré-resfriamento com água a 4°C; ⁵Corresponde ao tratamento 2 - carcaça depois da imersão no tanque de pré-resfriamento com água a 7°C; ⁶Corresponde ao tratamento 3 - carcaça depois da imersão no tanque de pré-resfriamento com água a 10°C; ⁷Contagem de estafilococos coagulase positiva em log de unidades formadoras de colônia por mL (log UFC.mL⁻¹) ⁸Diferentes temperaturas da água do tanque de pré-resfriamento; ⁹ Carcaças antes e depois de entrar no tanque de pré-resfriamento; ¹⁰Interação entre as diferentes temperaturas da água do tanque e os diferentes tempos da carcaça no tanque

EPM – erro padrão da média.

5.3.2 Amostra de água antes e depois da imersão das carcaças no tanque de pré-resfriamento e do gelo

A contagem média de estafilococos coagulase positiva nas amostras da água antes da imersão das carcaças no tanque de pré-resfriamento foi de 0 UFC.mL⁻¹ no Tt 1, Tt 2 e Tt 3. Depois a imersão das carcaças no tanque, a contagem média de estafilococos coagulase positiva foi de 2,57 log UFC.mL⁻¹, 7,95 log UFC.mL⁻¹ e 7,12 log UFC.mL⁻¹ no Tt 1, Tt 2 e Tt 3, respectivamente.

Não houve contagem de estafilococos coagulase positiva nas amostras de gelo analisadas no experimento.

5.4 PRESENÇA DE *Salmonella* spp.

Não foi verificada a presença de *Salmonella* spp. nas amostras de carcaça antes e depois a imersão em tanque de pré-resfriamento no Tt 1, Tt 2 e Tt 3. Nas amostras de água antes e depois a imersão no tanque de pré-resfriamento e nas amostras de gelo também não foi observada a presença de *Salmonella* spp. no Tt 1, Tt 2 e Tt 3.

6 DISCUSSÃO

Na contagem de microrganismos heterotróficos aeróbios mesófilos na superfície das carcaças dos coelhos, houve um aumento significativo quando comparado cada tratamento individualmente antes e depois da imersão no tanque de pré-resfriamento, no Tt 1 (CA 36,29 Log UFC/mL para CD 38,69 Log UFC/mL) e no Tt 3 (CA 36,72 Log UFC/mL para CD 88,06 Log UFC/mL) resultado que difere do encontrado por Lopez et al. (2007) que não observou diferença significativa na contagem de microrganismos heterotróficos mesófilos antes da entrada das aves no pré-chiller (6,4 NMP/g) e após a saída destas do chiller (5,6 NMP/g).

O trabalho de Lillard (1990) avaliou a contagem de mesófilos antes do pré-chiller e após o chiller em dois estabelecimentos de frangos e constatou a diminuição significativa em ambos, a contaminação das carcaças de frangos antes da entrada no pré-chiller no estabelecimento A foi de 6,69 UFC/carcaça e no estabelecimento B foi de 6,67 UFC/carcaça, após o chiller a contagem foi de 5,78 UFC/carcaça no estabelecimento A e 5,94 UFC/carcaça no estabelecimento B, mostrando que o pré-resfriamento diminuiu a contaminação superficial por mesófilos nas carcaças de frangos.

No abate de coelhos Miraglia et al. (2010) relatou que a contagem de microrganismos heterotróficos mesófilos foi de 2,9 UFC/g após o abate. Baddiani et al. (2017) constatou que a contagem de microrganismos heterotróficos aeróbios mesófilos na carcaça de coelhos após o resfriamento foi de 4,08 UFC/mL. Em comparação com os trabalhos citados, a contaminação das carcaças de coelhos por microrganismos heterotróficos aeróbios mesófilos no presente estudo foi superior antes e após a passagem pelo pré-resfriamento, indicando que o estabelecimento em questão apresenta falhas higiênico sanitárias durante as operações de abate.

Na água do tanque não houve crescimento de microrganismos heterotróficos aeróbios mesófilos antes das carcaças entrarem no tanque, depois da imersão foi observado crescimento em todos os tratamentos, mostrando que após a imersão das carcaças ocorreu a contaminação da água do tanque por microrganismos heterotróficos aeróbios mesófilos.

As amostras de gelo não apresentaram contagens de microrganismos heterotróficos aeróbios mesófilos, mostrando que o uso do gelo para o controle da temperatura da água de pré-resfriamento não interferiu na qualidade microbiológica da carcaça e da água.

No abate de aves, a recirculação da água é proibida, além disso, ela deve ser renovada de acordo com a entrada das carcaças no tanque (BRASIL, 1998). Mesmo com a semelhança entre o abate de aves, as diferenças com os cuidados referentes à água do tanque de pré-resfriamento podem ter sido o motivo do aumento da contaminação das carcaças e da água do tanque. No abate de coelhos em questão, a água recircula por tubulações e, além disso, não ocorre a sua renovação, o que acontece é a adição de água de acordo com a entrada das carcaças no tanque.

A recirculação da água pode ser a responsável por manter os microrganismos, por mais tempo dentro do tanque fazendo com que a taxa de contaminação e/ou multiplicação seja maior, Souza et al. (2012) relatou que quando a água é renovada e as carcaças permanecem em sentido oposto ao fluxo de água (contrafluxo) ocorre a retirada mecânica das bactérias que contaminam a carcaça. Além disso, os microrganismos heterotróficos aeróbios mesófilos presentes no tanque podem apresentar comportamento psicrotrófico e ainda permanecer em contato com as carcaças que apresentam condições intrínsecas ideais para sua multiplicação. Somado a isso, a água passa por tubulação de difícil higienização o que pode favorecer o acúmulo de sujidades e a formação de biofilme pelos microrganismos que estavam presentes no tanque. Montanhini e Bersot (2013) confirmaram o comportamento psicrotrófico de microrganismos mesófilos armazenados, sob refrigeração, além de que esses mesmos microrganismos são capazes de formar biofilme em superfície de aço inoxidável (SILVA et al., 2018), sendo estas superfícies, as mesmas utilizadas no tanque de pré-resfriamento no abate de coelhos.

Esses fatores podem ser os responsáveis pelo aumento da contaminação das carcaças e da água por microrganismos heterotróficos aeróbios mesófilos dentro do

tanque de pré-resfriamento. Cavani et al. (2010) relataram que quando a água do tanque de pré-resfriamento é renovada em volume correto, o controle de pH e da temperatura é feito de forma eficiente associados cloração da água e ao controle da contaminação inicial das carcaças a qualidade das carcaças pós-resfriamento não será prejudicada.

Foi observado efeito de interação em relação à temperatura da água do tanque e o aumento da contagem de microrganismos heterotróficos aeróbios mesófilos na superfície das carcaças. Podemos observar o aumento sutil na contagem de microrganismos heterotróficos aeróbios mesófilos a 4°C e o aumento exuberante a 10°C. No entanto, também foi observado efeito de interação entre o aumento da população microbiana na superfície das carcaças e a passagem delas pelo tanque de pré-resfriamento no Tt 1 e no Tt 3. Esses resultados indicam que o Tt 1 e o Tt 3 não foram eficazes para conter a contaminação das carcaças por microrganismos heterotróficos aeróbios mesófilos.

Em relação às enterobactérias, foi observado aumento significativo em todos os tratamentos (4°C, 7°C e 10°C) depois da imersão das carcaças de coelhos no tanque de pré-resfriamento, esse resultado difere do observado por Lopes et al. (2007), que não detectaram diferença significativa entre as amostras das carcaças de frango antes da imersão no tanque de pré-resfriamento com as amostras das carcaças depois a imersão e dos resultados encontrados por Souza et al. (2012) que relataram a diminuição da contaminação por coliformes termotolerantes com a água do tanque de pré-resfriamento a 4°C, Simas et al. (2013) que concluíram que resfriamento reduziu aproximadamente 90% da contaminação por coliformes termotolerantes, e Lillard (1990) que constatou a diminuição da contaminação das carcaças de aves após a passagem pelo pré-resfriamento.

Não houve efeito de interação entre o aumento da contagem de enterobactérias com a temperatura da água do tanque de pré-resfriamento nas amostras das carcaças antes e depois da imersão para os três tratamentos. Esses resultados indicam que o aumento observado na contaminação das superfícies das carcaças de coelhos depois da imersão das carcaças no tanque de pré-resfriamento ocorreu independente da temperatura da água do tanque. As amostras de água não apresentaram contagem de enterobactérias antes da imersão das carcaças no tanque, no entanto, depois da imersão houve presença desses indicadores em todos os tratamentos.

A contaminação pelas enterobactérias acontece principalmente na evisceração e também através da contaminação cruzada pelos colaboradores ou ambiente de abate (MAHARJAN et al., 2019), quando a contaminação é localizada e possível de ser delimitada, a área atingida é condenada e a carcaça é liberada (BRASIL, 2020). No entanto, ocasionalmente, no frigorífico em questão, ocorre a contaminação em locais onde não é possível a visualização pelos colaboradores e a carcaça é imersa no tanque contaminando a água e as outras carcaças. Esse pode ser um dos motivos do aumento da contaminação das carcaças e da água depois da imersão no tanque.

Em comparação aos outros grupos de indicadores, as enterobactérias estavam em menor quantidade, tanto nas amostras de carcaças antes quanto nas amostras de carcaças depois da imersão, o que indica que mesmo apresentando falhas eventuais, a etapa da evisceração e a higienização dos equipamentos estão sendo eficientes (SILVA et al., 2017). Porém, devido à ineficiência no processo de pré-resfriamento em tanque de imersão com água em relação ao controle de enterobactérias é importante ressaltar que possíveis falhas nas operações do abate de coelhos, como a não visualização da carcaça contaminada ou contaminação cruzada pelos manipuladores e pelo ambiente podem resultar no aumento da contagem de enterobactérias nas superfícies das carcaças.

As amostras de gelo não apresentaram contagens de enterobactérias, mostrando que o uso do gelo para o controle da temperatura da água de pré-resfriamento não interferiu na qualidade microbiológica da carcaça e da água.

No que diz respeito aos estafilococos coagulase positiva na superfície de carcaças de coelhos, foi verificado aumento significativo em relação a contagem média em todos os tratamentos após a imersão das carcaças no tanque de pré-resfriamento. Não houve efeito de interação em relação ao aumento da contagem de estafilococos coagulase positiva e a temperatura do tanque de pré-resfriamento.

Nas amostras de água antes da imersão das carcaças no tanque de pré-resfriamento não houve contagem para estafilococos coagulase positiva, depois da imersão foi observado crescimento desse indicador na água do tanque em todos os tratamentos.

Os estafilococos coagulase positiva foram os microrganismos indicadores observados em maior quantidade quando comparado com os demais. A contaminação da carcaça pelos estafilococos coagulase positiva acontece durante

as operações de abate, principalmente na esfola e pelas mãos dos manipuladores. A realização da etapa de esfola manual e a manipulação das carcaças por parte dos colaboradores devem ser reavaliadas e aperfeiçoadas para evitar que grandes quantidades de estafilococos coagulase positiva contamine a carcaça. O grande problema dos estafilococos coagulase positiva é que dentro desse grupo tem-se o *Staphylococcus aureus* potencial patógeno para os seres humanos (BORTOLAIA, ESPINOS-GONGORA E GUARDABASSI, 2016), e segundo Kohler et al. (2008) e Merz, Stephan e Johler (2016) são microrganismos comuns na carcaça de coelhos. Inclusive, existem cepas de *Staphylococcus aureus* que causam problemas crônicos em coelhos como lesões de pele, abscesso e mastite (HERMANS et al., 2000) e isso acaba refletindo na qualidade microbiológica das carcaças de coelhos, de acordo com Ferreira, Monteiro e Pinto (2014) as condenações por abscessos nas carcaças de coelhos foram a principal causa de condenação das carcaças e dessas 25,9% foram causadas pelo *Staphylococcus aureus*.

As amostras de gelo não apresentaram contagens de estafilococos coagulase positiva, mostrando que o uso do gelo para o controle da temperatura da água de pré-resfriamento não interferiu na qualidade microbiológica da carcaça e da água.

Nenhuma amostra foi positiva para *Salmonella* spp., tal resultado difere do observado por Lopez et al. (2007) que detectou a presença do patógeno em uma carcaça de frango antes de entrar no tanque de pré-resfriamento e outra numa amostra de carcaça depois do tanque de pré-resfriamento e na água do tanque. Badr (2004) não detectou a presença de *Salmonella* spp. nas carcaças. Kohler (2008), Badianni et al. (2017), Miraglia et al. (2020) também relataram a ausência do patógeno, e Lillard (1990) que constatou que o pré-resfriamento é o principal ponto de contaminação cruzada por *Salmonella* spp. no abate de frangos.

7 CONCLUSÃO

As três temperaturas (4°C, 7°C e 10°C) não foram capazes de controlar a contagem os microrganismos heterotróficos aeróbios mesófilos, enterobactérias e estafilococos coagulase positiva na superfície da carcaça de coelhos e na água utilizada no tanque de pré-resfriamento depois da imersão das carcaças. Não houve crescimento de microrganismos indicadores nas amostras de gelo e não foi detectada a presença de *Salmonella* spp. em nenhuma das amostras. Com isso é

importante que todos os cuidados referentes às boas práticas de fabricação e os procedimentos de higiene operacional sejam seguidos rigorosamente para evitar a contaminação das carcaças durante as etapas do abate, além disso, é necessário uma reavaliação da etapa de pré-resfriamento realizada no abate de coelhos em questão, uma vez que, em todos os microrganismos indicadores avaliados e em todas as temperaturas da água, a contaminação aumenta após a passagem das carcaças pelo tanque.

REFERÊNCIAS

ALLEN, V. M.; HOWELL, M.; MEAD, G. C.; WALTERS, L. D.; HUTCHISON, M. L. An assessment of sampling methods and microbiological hygiene indicators for process verification in poultry slaughterhouses. **Journal of Food Protection**, v. 69, n. 1, p. 145-153, 2006.

BADIANI, A.; GRECO, F. P.; TRIVISANO, C.; BARANZONI, G. M.; MORDENTI, A. L.; SAVIGNI, F.; TROMBETI, F.; MINARDI, P.; ALBONETTI, S. In vivo and In vitro effects of selected antioxidants on rabbit meat microbiota. **Meat Science**, v.126, p.88-96, 2017.

BADR, H. M. Use of irradiation to control foodborne pathogens and extend the refrigerated market life of rabbit meat. **Meat Science**, v. 67, p. 541-548, 2004.

BIER, D.; SILVA, M. R.; RAMOS, C. A. N.; MORININGO, G. D.; SILVA, T. A. S.; LIMA, A. C.; CHULLI, J. V. M.; ARAÚJO, F. R. Survey of verotoxin-producing *Escherichia coli* and faecal coliforms in beef carcasses destined for export at slaughterhouses in Brazil. **Food Science and Technology**, v. 38, n. 1, p. 60–66, 2018.

BONAMIGO, A.; DUARTE, C.; WINCK, A. A.; SEHNEM, S. Produção de carne cunícula no Brasil como alternativa sustentável. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**. v. 10, n. 4, p. 1247-1260, 2017.

BORTOLAIA, V.; ESPINOSA-GONGORA, C.; GUARDABASSI, L. Human health risks associated with antimicrobial-resistant enterococci and *Staphylococcus aureus* on poultry meat. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 22, n. 2, p. 130–140, 2016.

BUESS, S.; ZURFLUH, K.; STEPHAN, R.; GULDIMANN, C. Quantitative microbiological slaughter process analysis in a large-scale swiss poultry abattoir. **Food Control** v. 105, p. 86-93, 2019.

BRASIL, Instrução normativa nº20, de 12 de outubro de 2016. Ficam estabelecidos o controle e monitoramento de *Salmonella* spp. nos estabelecimentos avícolas. **Diário Oficial da União**, Poder executivo, Brasília, DF, 25 de out. Seção 1, p.13.

BRASIL, Portaria nº210, de 10 de novembro de 1998. Regulamento técnico da

inspeção tecnológica e higienico-sanitária de carne de aves. **Diário Oficial da União**, Poder executivo, Brasília, DF, 26 de nov. Seção 1, p. 13.

BRASIL, Decreto 10.468 de 18 de agosto de 2020. Regulamento de inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal. **Diário Oficial da União**. Poder Executivo, Brasília, DF, 19 de set. seção 1, p.5.

CASSIDRA. Disponível em: <<https://casidra.co.za/rabbit-farming/>>. Acesso em: 06 abr. 2015.

CAVANI, R.; ITURRINO, R. P. S.; GARCIA, T. C. F. L.; OLIVEIRA, A. C. Comparison of microbiological load in immersion chilling water and poultry carcasses after 8, 16 and 24 working hours. **Ciência Rural**. v.40, n.7, p.1603-1609, 2010.

CORTEZ, A. L. L.; CARVALHO, A. C. F. B.; IKUNO, A. A.; BURGUER, K. P.; MARTINS, A. M. C. V.; Identification of Salmonella spp. isolates from chicken abattoirs by multiplex-PCR. **Research in Veterinary Science**, v. 81, n. 3, p. 340–344, 2006.

CULLERE, M.; DALLE ZOTTE, A. Rabbit meat production and consumption: State of knowledge and future perspectives. **Meat Science**, v. 143, n. April, p. 137–146, 2018.

DALLAL, M. M. S.; YAZDI, M. K. S.; MIRZAEI, N.; KALANTAR, E. N. Prevalence of Salmonella spp. in packed and unpacked red meat and chicken in South of Tehran. **Jundishapur Journal of Microbiology**, v. 7, n. 4, p. 1–5, 2014.

DALLE ZOTTE, A.; SZENDRO, Z. The role of rabbit meat as functional food. **Meat Science**, v. 88, n. 3, p. 319–331, 2011.

ESCRIBÁ-PÉREZ, C.; BAVIERA, P. A.; MONTERO, V. L.; BUITRAGO, V. J.; Children's consumption of rabbit meat. **World Rabbit Science**, v. 27, n. 3, p. 113–122, 2019.

FAOSTAT, Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2019. <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QA>>. Acesso em: 30 dez. 2020.

Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2017. <<http://www.fao.org/brasil/noticias/detail-events/en/c/901168/>>. Acesso em: 06 de abr. 2021.

FERREIRA, A.; KUNH, S. S.; CREMONEZ, P. A.; DIETER, J.; TELEKEN, J. G.; SAMPAIO, S. C.; KUNH, P. D. Brazilian poultry activity waste: destinations and energetic potential, Brasil. **Renewable and sustainable energy reviews**. v.81, September, p. 3081-3089, 2018.

FERREIRA, A.; MONTEIRO, J. M.; PINTO, V. M. The importance of subcutaneous abscess infection by *Pasteurella* spp. and *Staphylococcus aureus* as a cause of meat condemnation in slaughtered commercial rabbits. **World Rabbit Science**. v.22, p. 311-317, 2014.

FERREIRA, E. O.; CAMPOS, L. C. Salmonella. In: TRABULSI, L.R.; ALTERTHUM, F.A. 5.ed. **Microbiologia**. 5. ed. São Paulo: Atheneu, 2008.

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da segurança dos alimentos**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013.

FRANCO, B. D. G. DE M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2003.

GU, D.; WANG, Z.; TIAN, Y.; KANG, X.; MENG, C.; CHEN, X.; PAN, Z.; JIAO, X. Prevalence of Salmonella Isolates and Their Distribution Based on Whole-Genome Sequence in a Chicken Slaughterhouse in Jiangsu, China. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 7, n. February, p. 1–10, 2020.

HERMANS, K.; HAESBROUCK, F.; VANEECHOUTTE, M.; DEVRIESE, L. A.; GODARD, C.; HERDT, P. Differentiation between high and low virulence *Staphylococcus aureus* strains from rabbits by randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis. **Veterinary Microbiology**, v. 72, p. 311-319, 2000.

HERNANDEZ, P. Enhancement of nutritional quality and safety in rabbit meat. In: World Rabbit Congress, 9., 2008, Verona. **Anais...** Verona: Meat Quality and Safety, 2008. p. 10-13.

IBGE. **Censo Agropecuário: Pecuária**, 2017. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/21814-2017-censo-agropecuario.html?=&t=resultados>>

KATIYO, W.; KOCK, H. L.; COOREY, R.; BUYS, E. M. Sensory implications of chicken meat spoilage in relation to microbial and physicochemical characteristics during refrigerated storage. **Food Science and Technology**, v. 129, p. 1-9, 2020.

KIM, J. H.; HUR, S. J.; YIM, D. G. Monitoring of microbial contaminants of beef, pork, and chicken in HACCP implemented meat processing plants of Korea. **Korean Journal for Food Science of Animal Resources**, v. 38, n. 2, p. 282–290, 2018.

KOHLER, R.; KRAUSE, G.; STEPHAN, L.; ZWEIFEL, C. Shedding of food-borne pathogens and microbiological carcass contamination in rabbits at slaughter. **Veterinary Microbiology**, v. 132, n. 1–2, p. 149–157, 2008.

LILLARD, H. S. The impact of commercial processing procedures on the bacterial contamination and cross-contamination of broiler carcasses. **Journal of Food Protection**, v. 53, n. 3, p. 202-204, 1990.

LOPES, M. Research of *Salmonella* spp. and indicators microorganisms in poultry carcasses and chilling tanks water in poultry slaughterhouse. **Ciências Agrárias**, v. 28, n. 3, p. 465-476, 2007.

LOPEZ, M.; LISTE, G.; VILLARROEL, M.; MARIA, G. A.; BULL, T. Critical points in the transport of commercial rabbits to slaughter in Spain that could compromise

animals' welfare. **World Rabbit Science**. v. 12. p. 269-279, 2004.

MAHARJAN, S.; RAYAMAJHEE, B.; CHHETRI, V. S.; SHERCHAN, S. P.; PANTA, O. P.; KARKI, T. B. Microbial quality of poultry meat in an ISO 22000:2005 certified poultry processing plant of Kathmandu valley. **International Journal of Food Contamination**. v.6, n.8, p. 1-9, 2019.

MANIERO, C.; BORDIN, P.; GALLOCCHIO, L.; MIONI, R.; COMIN, D. Microbiological quality and safety of rabbit meat in veneto region Italy. In: World Rabbit Congress, 9., 2008, Verona. **Anais...** Verona: Meat Quality and Safety, 2008. p. 10-13.

MERZ, A.; STEPHAN, R.; JOHLER, S. Genotyping and DNA microarray based characterization of *Staphylococcus aureus* isolates from rabbit carcasses. **Meat Science**, v. 112, p. 86–89, 2016.

MIRAGLIA, D.; BRECCHIA, G.; CURONE, G.; VIGO, D.; COTOZZOLO, E.; RANUCCI, D.; BRANCIARI, R.; BALZARETTI, C. M.; MENCHETTI, L.; CASTRICA, M. Impact of dietary supplementation with goji berries (*Lycium barbarum*) on microbiological quality, physico-chemical, and sensory characteristics of rabbit meat. **Foods**. v. 9, p. 1-15, 2020.

MONTANHINI, M. T. M.; BERSOT, L. S. Evaluation of psychrotrophic behavior and lipolytic and proteolytic activity of *Bacillus cereus* isolated from refrigerated dairy products. **Acta Scientiarum technology**. v. 35, n. 1, p. 163-167, 2013.

PETRACCI, M.; CAVANI, C. Rabbit meat processing and traceability. In: World Rabbit Congress, 9., 2004. Puebla. **Anais...** Puebla: Department of Food Science, 2004.

PETRACCI, M.; SOGLIA, F.; LEROY, F. Rabbit meat in need of hat-trick: from tradition to innovation (and back). **Meat Science**, v. 146, p. 93-100, 2018.

PETRESCU, D. C.; PETRESCU-MAG, R. M. Consumer behaviour related to rabbit meat as functional food. **World Rabbit Science**, v. 26, n. 4, p. 321–333, 2018.

QUINN, P. J. et al. **Microbiologia Veterinária**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2019.

RAJAPAKSHA, P.; ELBOURNE, A.; GANGADOO, S.; BROWN, R.; COZZOLINO, D.; CHAPMAN, J. A review of methods for the detection of pathogenic microorganisms. **Royal Society of Chemistry**. v.144, p.396-411, 2019.

ROLIM, A. F. M. Produção animal bases da reprodução, manejo e saúde. In: _____. **Espécies, raças, linhagens e tipos**. São Paulo: Érica, 2014. cap. 2, p. 22-29.

SILVA, H. O.; LIMA, J. A. S.; AGUILAR, C. E. G.; ROSSI, A. M.; MATHIAS, L. A.; VIDAL, A. M. C. Efficiency of different disinfectants on *Bacillus cereus* sensu strictu biofilms on stainless-steel surfaces in contact with milk. **Frontiers in microbiology**. v. 28, p. 1-11, 2018.

SILVA, N. et al. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. 5. ed. São Paulo: Blucher, 2017.

SIMAS, V. S.; SANTOS, F. F.; GOUVEA, R.; AQUINO, M. H. C. Immersion chilling in fecal coliforms count reduction on broiler carcasses. **Ciencia Rural**, v. 43, n. 9, p. 1618–1622, 2013.

SIMONATO, M.T. **Rendimento e qualidade da carcaça de coelhos submetidos a diferentes períodos de jejum pré-abate**. 2008. 36 p. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Zootecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2008.

SOUZA, L.C.T.; PEREIRA, J. G.; SPINA, T. L. B.; IZIDORO, T. B.; OLIVEIRA, A. C.; PINTO, J. P. A. N. Microbiological evaluation of chicken carcasses in an immersion chilling system with water renewal 8 and 16 hours. **Journal of Food Protection**. v. 75, n. 5, p. 973-975, 2012.

ZAGOREC, M.; TRESSE, O.; ROUGER, A.; Bacterial contaminants of poultry meat: sources, species, and dynamics. **Microorganisms**. v. 5, n. 50, p. 1-16, 2017.