

DOI: <http://dx.doi.org/10.20396/san.v25i1.8651123>Controle de *Salmonella* spp. em frangos. Zobot, *et al.*

SEGURANÇA
alimentar e nutricional

Ácidos Orgânicos e Compostos Clorados para Controle de *Salmonella* spp. em frangos

Sandra Zobot¹, Janice Ruschel², Cristiane Michele Marchesi³, Alexandre da Trindade Alfaro⁴,
Tereza Cristina Rocha Moreira de Oliveira⁵, Elisabete Hiromi Hashimoto⁶

O objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade de ácidos orgânicos e compostos clorados comerciais para o controle de *Salmonella* spp. A concentração inibitória mínima (CIM) do dióxido de cloro, dicloro isocianurato de sódio e ácidos tricloro isocianúrico, láctico e peracético foi determinada para cepas padrões de *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium* e a *S. Heidelberg* e avaliada com 54 cepas isoladas de frigorífico. O produto com melhor desempenho foi avaliado em água de *chiller* artificialmente contaminada com *Salmonella* spp. Entre os clorados, apenas o dicloro isocianurato (60 mg.L⁻¹) foi capaz de inibir *Salmonella* spp. A CIM dos ácidos láctico e peracético variou de 0,5 a 2,0%. Os ácidos peracético (1,0%) e láctico (2,0%) foram capazes de inibir 98,14 e 100% das cepas isoladas, respectivamente. O ácido láctico a 2,0% foi capaz de inibir completamente o crescimento das três cepas padrões de *Salmonella* spp. inoculadas na água do *chiller*. Os dados reforçam a necessidade de discussões para regulamentar o uso do ácido láctico na tecnologia de abate de aves.

Palavras-chave: ácido láctico, ácido peracético, dicloro isocianurato de sódio, *Salmonella* spp., CIM.

Organic Acids and Chlorine Compounds for Control of *Salmonella* spp. in Poultry

The aim of this work was to evaluate the activity of organic acids and commercial chlorinated compounds to control *Salmonella* spp. The minimum inhibitory concentration (MIC) of chlorine dioxide, sodium dichloro isocyanurate and trichloroisocyanuric, lactic and peracetic acids was determined using ATCC strains of *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium* and *S. Heidelberg* and 54 strains isolated from the poultry slaughterhouse. Lactic acid was evaluated in chiller water artificially contaminated with *Salmonella* spp. Among chlorinated agents, only sodium dichloro isocyanurate (60 mg.L⁻¹) was able to inhibit *Salmonella* spp. The MIC of the lactic and peracetic acids ranged from 0.5 to 2.0%. Peracetic (1.0%) and lactic acid (2.0%) were able to inhibit 98.14 and 100% of the isolated strains, respectively. Lactic acid at 2.0% was able to completely inhibit the growth of the three ATCC strains of *Salmonella* spp. inoculated in the chiller water. The data reinforce the need for discussions to regulate the use of lactic acid in poultry slaughter technology.

Keywords: lactic acid, peracetic acid, dichloro isocyanurate, *Salmonella* spp., MIC.

1 - Mestre em Tecnologia de Alimentos. Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos na Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Francisco Beltrão.

2 - Tecnóloga de Alimentos. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Francisco Beltrão

3- Doutora em Engenharia de Alimentos pela Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões Câmpus Erechim

4- Doutor em Ciência e Tecnologia Agroindustrial

5- Doutora em Ciência de Alimentos e professora do Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos da Universidade Estadual de Londrina.

6- Mestre e Doutora em Ciência de Alimentos e professora do Programa de Pós Graduação em Tecnologia de Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

Endereço para correspondência: Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Francisco Beltrão; Programa de Pós Graduação em Tecnologia de Alimentos, Depto Acadêmico de Química e Biologia, Caixa Postal 135, CEP 85601970, Francisco Beltrão –PR.

INTRODUÇÃO

No Brasil, o cenário do mercado da carne de frango modernizou-se em decorrência, principalmente das exportações. O mercado externodemandou melhorias no sistema para o controle microbiológico, sobretudo quanto à contaminação por *Salmonella* spp.^[1]. *Salmonella enterica* sorovar Typhimurium, *S. Enteritidis* e *S. Heidelberg* são consideradas sorovares encontradas no trato intestinal de diferentes espécies de animais^[2].

A carne de aves e seus derivados estão entre os principais alimentos envolvidos em surtos de infecções alimentares por *Salmonella* spp. Estes surtos ocorrem em decorrência do preparo inadequado e da contaminação cruzada em cozinhas domiciliares e industriais. A contaminação das carcaças de frango pode acontecer pela presença do microrganismo no ambiente de criação das aves, ou ainda, pela disseminação nas carcaças durante as operações de abate^[3].

De acordo com Doyle & Erickson^[4], para reduzir a contaminação por patógenos de origem alimentar, pode ser adotada uma combinação de estratégias de intervenção. Neste sentido, Buncic & Sofos^[5] relatam tratamentos que podem ser aplicados em carcaças de aves ou em suas partes, tais como água, vapor e soluções químicas (ácido láctico ou acético, compostos clorados dentre outros). Tratamentos com ácidos orgânicos são de baixo custo, simples e rápidos e têm mostrado eficiência em muitos casos. Além disso, por serem considerados seguros, vários ácidos orgânicos não têm estabelecido o limite máximo de ingestão diária. Estas características tornam interessante o uso destes agentes em produtos cárneos. No entanto, a possibilidade de mudanças sensoriais como cor e sabor deve ser considerada na aplicação do composto^[6].

O uso de ácidos orgânicos como descontaminantes de carcaças não é permitido

pela legislação brasileira. No entanto, nos Estados Unidos, por exemplo, os ácidos orgânicos podem ser utilizados desde que sejam aprovados pelas autoridades sanitárias competentes, e utilizados em concentrações limitadas^[7].

A produção avícola brasileira esta em constante crescimento e o setor tem investido em pesquisa e desenvolvimento para produção e fornecimento de alimentos seguros e de elevada qualidade. Para que isso seja possível, se faz necessária a avaliação da eficácia de novas técnicas que auxiliem e promovam o controle microbiológico. Assim, este trabalho objetivou avaliar a eficácia de compostos clorados e ácidos orgânicos no controle da contaminação de carne de frango por *Salmonella* spp.

MATERIAL E MÉTODOS

Salmonella enterica sorovar Heidelberg (ATCC 8326), *S. Typhimurium* (ATCC 14028) e *S. Enteritidis* (ATCC 13076) foram utilizadas como cepas padrões. Foram testadas também 54 cepas de *Salmonella* spp. isoladas de um frigorífico no período de junho a setembro de 2014, que opera com Serviço de Inspeção Federal e sistema APPCC implantado, conforme requisitos do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento^[8] e controle de *Salmonella* spp. em carcaças de frangos^[9]. A realização das quatro etapas sucessivas necessárias para a detecção de *Salmonella* spp. (pré-enriquecimento, enriquecimento seletivo, plaqueamento e confirmação bioquímica e sorológica) seguiram a metodologia de referência ISO 6579:2002^[10] - Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs - Horizontal Method for detection of *Salmonella* spp.

Para as análises de atividade antimicrobiana foram testados os compostos clorados comerciais dicloro isocianurato de

sódio (60%, $C_3Cl_2N_3O_3Na$ comercial) e ácido tricloro isocianúrico (90%, $C_3Cl_3N_3O_3$ comercial). As concentrações máximas testadas dos compostos clorados basearam-se nas recomendações dos fornecedores de cada composto, sendo: dicloro isocianurato de sódio 60 mg.L^{-1} e ácido tricloro isocianúrico 30 mg.L^{-1} . Os ácidos orgânicos testados consistiram de ácido láctico p.a. (85 %, $C_3H_6O_3$, p.a.), e ácido peracético comercial (15%, $C_2H_4O_3$ comercial) em concentrações que variaram de 0,1 a 3,0%.

Um volume de 100 μL de cada cultura de *Salmonella* ATCC padronizada a 10^8 UFC.mL^{-1} foi adicionada em 9,9 mL de cada solução teste de antimicrobiano (solução aquosa adicionada de leite, 1:10). Assim, considerando a diluição (1:100) os tubos cotendo 10^6 UFC.mL^{-1} de cada cepa foram homogeneizados e mantidos a 25 °C. Após o tempo de exposição de 10, 15, e 20 min, uma alíquota de 10 μL de cada teste foi inoculada em tubo contendo 5 mL de caldo BHI (Himedia, Índia), em triplicata. Em seguida os tubos foram incubados a 35 °C por 72 h [12]. Foi considerada a concentração inibitória mínima (CIM) a menor concentração que não apresentou turbidez, sendo esta confirmada pela semeadura de 100 μL em meio seletivo para *Salmonella* spp. (ágar SS, Himedia, Índia).

Para avaliação da inibição das 54 cepas selvagens isoladas do frigorífico, testou-se os compostos na CIM e no melhor tempo de exposição, a partir dos resultados dos testes com as cepas ATCC. As soluções ácidas foram preparadas com e sem leite. Para a análise foram transferidos 180 μL de cada ácido na CIM em cada poço da microplaca de poliestireno, em seguida adicionou-se 20 μL das cepas padronizadas 10^7 UFC.mL^{-1} nos poços contendo os compostos em triplicata, e expostas por 20 min. Em seguida foram transferidos 20 μL de cada teste em outra microplaca contendo 180 μL de caldo BHI e incubado a 37 °C, resultando em um inóculo de 10^6 UFC.mL^{-1} . Após o período de incubação foram realizadas as leituras da absorbância a

620 nm em fotômetro (Thermoplate TP Reader). Nos poços em que não houve turbidez, ou seja, onde houve a atividade antimicrobiana frente à *Salmonella* spp., foram inoculados 100 μL para meio seletivo para *Salmonella* para a confirmação da inibição do microrganismo.

O pH foi medido com auxílio de pHmetro (Mettler Toledo, Estados Unidos) em 10 mL de cada solução teste cotendo cada agente: solução aquosa sem adição de leite e com a adição de leite (1 mL leite UHT integral + 9 mL da solução aquosa). A constante de dissociação e molaridade de cada ácido orgânico, foi utilizada para o cálculo do pH teórico.

Um total de dois litros de água de *chiller* foi obtida de um abatedouro de frangos cujo o sistema de resfriamento possui cloração de 0,3 a 0,5 mg.L^{-1} . A amostra de água foi coletada do último estágio do sistema de resfriamento em virtude deste estágio conter a menor quantidade de matéria orgânica e reter as carcaças por um tempo mais prolongado em relação aos demais estágios (cerca de 40 min). A água foi coletada em frascos estéreis sob condições assépticas. Imediatamente após a coleta, os frascos de água foram transportados e encaminhados em recipiente isotérmico para o laboratório. As cepas padrões de *Salmonella* ATCC 14028, 13076 e 8326 foram padronizadas na concentração de 10^9 UFC.mL^{-1} (625 nm) [11]. Uma alíquota de 100 μL de cada cepa foi diluída em 100 mL de água de *chiller* adicionada de ácido láctico com concentração final de 2,0%. A concentração do inóculo após diluição foi de 10^6 UFC.mL^{-1} . O controle consistiu de água de *chiller* sem adição de ácido láctico. As amostras foram homogeneizadas e mantidas à temperatura de 4 °C por 40 min.

As alíquotas de água foram homogeneizadas e manteve-se o contato da água com o composto e a cepa padrão durante 40 min em temperatura de 4 °C, simulando as condições reais da etapa de resfriamento do

refrigerado. Para a contagem de *Salmonella* spp. foram realizadas diluições seriadas até 10^{-5} . Um volume de 100 μ L de cada diluição foi inoculado em superfície de placas de Petri contendo ágar BPLS (ágarverde brilhante, vermelho de fenol, lactose, sacarose, Merck, Alemanha). As placas foram então incubadas à 36 ± 1 °C por 48h. Posteriormente, procedeu-se com a contagem das colônias, as quais foram caracterizadas pela coloração rosa/vermelho claro, opacas, rodeadas por zonas vermelhas brilhantes. Os resultados foram expressos em UFC/g [13]. Os ensaios foram realizados em triplicata.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O ácido tricloro isocianúrico (TCCA) comercial não apresentou atividade inibitória contra nenhuma das cepas de *Salmonella* ATCC testadas, mesmo na maior concentração testada (30 mg.L⁻¹). Sabe-se que a aplicação do TCCA é mais comum para desinfecção de piscina e tratamento de água [14, 15]. Gonçalves *et al.* [16] relataram a aplicação de soluções aquosas em concentrações de 45 a 100 mg.L⁻¹ em pH 3,5 por 15 min de exposição foi capaz de reduzir *Listeria monocytogenes* em 0,07 a 4,41 log de UFC em peitos de frango artificialmente contaminadas, com redução de 2,55 log a partir de 60 mg.L⁻¹. Nesse estudo, o produto contendo TCCA apresentou lenta dissolução, sendo este um dos fatores que pode ter prejudicado a eficiência do composto comercial, visto que o tempo máximo de exposição do ácido com as cepas foi de 20 min. Aliado a este fato, destaca-se também que por apresentar uma estrutura química estável, o composto pode ter reagido lentamente com a matéria orgânica, representada pela adição do leite, o que levou a uma liberação mais lenta do ácido hipocloroso.

A presença de matéria orgânica afetou os valores de pH das soluções testadas. O TCCA nas concentrações de 2,5 a 30 mg.L⁻¹

apresentou valores de pH menores para a solução aquosa (pH 4,55 a 3,01) que as soluções adicionadas de leite 1:10 (pH 6,66 a 5,77). A matéria orgânica, neste caso representada pela adição de leite resultou em valores de pH mais elevados.

Segundo Mokgatla *et al.* [17], a menor eficiência dos compostos clorados tem sido relacionada com o uso frequente dos mesmos, pois o uso prolongado pode resultar em tolerância aos compostos pelos microrganismos.

A Tabela 1 apresenta as concentrações inibitórias mínimas (CIM) dos ácidos láctico (AL) e peracético (AP) e dicloro isocianúrico de sódio (NaDCC) para as cepas padrões de *Salmonella* spp. expostas às soluções ácidas por 10 a 20 min a 25°C.

Tabela 1 – Concentração inibitória mínima de dicloro isocianurato, ácidos láctico e peracético para controle de *Salmonella* spp.

<i>Salmonella</i> spp. (ATCC)	Temp o exp. (min)	Concentração inibitória mínima		
		NaDCC (mg.L ⁻¹)	AL (%)	AP (%)
<i>S.</i> Typhimurium (14028)	10	R	2,0	1,0
	15	R	1,0	1,0
	20	R	1,0	1,0
<i>S.</i> Heidelberg (8326)	10	R	2,0	1,0
	15	60	2,0	1,0
	20	60	2,0	1,0
<i>S.</i> Enteritidis (13076)	10	R	0,5	R
	15	R	0,5	R
	20	60	0,5	1,0

NaDCC: Dicloro Isocianurato de sódio, AL: ácido láctico e AP: ácido peracético. R: resistente.

A solução de NaDCC apresentou inibição de crescimento dos sorovares de *Salmonella* (ATCC 8326 e 13076), com exceção da *S.* Typhimurium, a qual revelou resistência ao composto testado em todas as concentrações e tempos avaliados. *Salmonella* Heidelberg e *S.*

Enteritidis foram inibidos na concentração de 60 mg.L⁻¹ durante os tempos de exposição de 15 e 20 min, respectivamente (Tabela 1).

É importante destacar que o NaDCC utilizado nos experimentos foi obtido comercialmente e as concentrações das soluções foram preparadas a partir do teor de cloro especificado pelo fornecedor. Ainda, o NaDCC em solução aquosa libera ácido hipocloroso e isocianurato de sódio, estes com ação antimicrobiana. O NaDCC apresenta uma estrutura química estável e que pode reagir lentamente com a matéria orgânica^[16], embora a diferença de pH entre as soluções aquosa (pH=6,95 a 6,39) e adicionada de leite (pH=8,19 a 7,36) tenha sido mínima nas concentrações testadas (2,5 a 60 mg.L⁻¹). No experimento a matéria orgânica representada pela adição do leite, pode ter levado a uma liberação mais lenta do ácido hipocloroso, sendo o NaDCC efetivo somente na maior concentração testada (60 mg.L⁻¹).

O uso de 150 mg.L⁻¹ NaDCC com tempo de exposição de 10 min foi relatado e reduziu cerca de 2,5 log UFC.mL⁻¹ de uma suspensão de sorovares de *Salmonella* (*S. Montevideo*, *S. Newport*, *S. Saintpaul* e *S. Typhimurium* ATCC14028) a 10⁴-10⁵ UFC por amostra de Jimaca um tipo de nabo mexicano^[18]. Assim, a concentração máxima testada foi recomendada pelo fornecedor do produto comercial, no entanto é possível que o produto testado pudesse ter atividade também contra *S. Typhimurium* se aplicado em concentrações maiores.

O AP teve a atividade inibitória somente na concentração de 1,0% (pH 2,79) a partir de 10 min de exposição para *S. Typhimurium* e *S. Heidelberg*, sendo que *S. Enteritidis* necessitou de maior tempo de exposição para ser inibida (20 min). A avaliação de 20 cepas de *S. Heidelberg* isolada de um frigorífico nos anos de 2005 e 2009 mostrou sensibilidade ao ácido peracético 1% a partir de 5 min de exposição^[3]. No presente trabalho o menor tempo de exposição testado frente à cepa ATCC 8326 foi de 10 min.

A avaliação de um produto comercial composto de ácido peracético 2%, peróxido de hidrogênio 6% e ácido acético 22% apresentou maior atividade na ausência de matéria orgânica (soro bovino fetal). Embora este produto comercial diluído 1:200 tenha reduzido em 8,64 log a contagem de *S. Enteritidis* em presença de matéria orgânica, em solução sem a adição de soro bovino fetal o microrganismo foi totalmente inibido^[19]. No presente estudo, todas as concentrações testadas apresentaram valores de pH (pH ≤ 4,10) abaixo do valor do pKa do AP (pKa = 8,20). No entanto, somente em valores de pH menores ou iguais a 2,79 o AP foi capaz de inibir o crescimento de *Salmonella*, indicando a interferência da matéria orgânica na ação antibacteriana do AP.

Uma menor contagem de *S. Typhimurium* foi observada em carcaças de frango tratada com 0,01% (1 mg.mL⁻¹) de AP quando comparado com cloro a 0,003% em água de *chiller*. No entanto, após 15 dias de estocagem, as carcaças tratadas com AP 0,01% foram afetadas sensorialmente, resultando em carne com cor e odor desagradáveis^[20].

Machado *et al.*^[21], ao estudarem a susceptibilidade do AP em relação a *Salmonella* *Typhimurium*, *S. Enteritidis* e *S. Bredeney*, evidenciaram que na concentração de uso indicada pelo fabricante (1%) e na metade dessa concentração (0,5%), todos os microrganismos foram sensíveis nos tempos avaliados (5, 10, 15 e 20 min). E ainda, verificaram que as concentrações de 0,3, 0,2 e 0,1% indicaram maior resistência dos microrganismos *S. Typhimurium* e *S. Enteritidis*.

Entre as cepas padrões testadas, a *Salmonella* *Enteritidis* foi a mais sensível ao ácido láctico (AL), sendo inibida à 0,5% (pH 2,91) em tempo exposição mínimo de 10 min., seguida da *S. Typhimurium*, a qual foi inibida após o tempo mínimo de 15min quando exposta à 1,0% (pH 2,57). *S. Heidelberg* foi a mais resistente ao AL requerendo 2,0% (pH 2,33) nos tempos de 10 a 20 min. Embora não seja permitido pela

legislação brasileira, o Departamento de Agricultura dos EUA^[17] Serviço de Segurança e Inspeção de Alimentos (FSIS) aprovou o uso de alguns ácidos orgânicos como tratamentos antimicrobianos para carcaças de carne bovina. O ácido láctico tem baixa toxicidade para os seres humanos e está listado como “geralmente reconhecido como seguro” - GRAS^[22].

Em relação ao pH, constatou-se que para o ácido láctico, as soluções testes nas concentrações inibitórias mínimas apresentaram valores de pH de 2,91 (0,5%), 2,57 (1,0%) e 2,33 (2,0%), revelando-se inferiores ao pKa do AL (pKa = 3,85). Enfatiza-se que o efeito bactericida dos ácidos orgânicos é ocasionado pela forma não dissociada, sendo esta mais predominante em valores de pH inferiores ao pKa^[23]. O controle do pH é fundamental para a ação do ácido láctico, em pH mais próximo a neutralidade (pH 5,0 a 6,0) espécies de *Salmonella* podem apresentar mecanismo de adaptação^[17]. A adição de leite no experimento revelou influência da matéria orgânica nos valores de pH do ácido láctico. Os valores de pH foram inferiores nas soluções aquosas pH= 2,62, 2,31 e 2,14 para as concentrações de 0,5, 1,0 e 2,0%, respectivamente.

Os ácidos lácticos e peracético nas concentrações testadas frente às 54 cepas de *Salmonella* spp. isoladas de frigorífico apresentaram resultados satisfatórios nas concentrações testadas (Tabela 2). AL na concentração de 2,0% inibiu o crescimento de todas as cepas testadas, independente do tempo de exposição. O AP a 1%, após 20 min., inibiu 98,14% das cepas de *Salmonella* spp. isoladas de frigoríficos. O NaDCC por sua vez foi capaz de inibir menos da metade (46,29%) das cepas.

Tabela 2 – Atividade antimicrobiana dos ácidos láctico e peracético, e dicloro isocianurato de sódio sobre a inibição de *Salmonella* spp. isoladas de frigorífico.

Período (mês)	Nº de cepas	Nº de Cepas sensíveis		
		AL (2%)	AP (1,0 %)	NaDCC (60 mg.L ⁻¹)
Jun	14	14	14	8
Jul	13	13	12	7
Ago	21	21	21	7
Set	6	6	6	3
Total (%)	54	54 (100%)	53 (98,14%)	25 (46,29%)

AL: ácido láctico e AP: ácido peracético. N=54

A Tabela 3 apresenta os resultados da aplicação de ácido láctico em água de *chiller* artificialmente contaminada com *Salmonella* spp. O AL foi testado em água artificialmente contaminada com as cepas padrões de *S. Heidelberg*, *S. Enteritidis* e *S. Typhimurium* a 4 °C, afim de se simular a etapa de *chiller*. Nestas condições o AL a 2,0%, após 40 min de exposição, foi capaz de controlar completamente o desenvolvimento das cepas de *Salmonella* spp. testadas. Em comparação, o controle constituído somente por água resfriada de *chiller* quala contagem das sorovares se manteve entre 6,82 a 6,69 log UFC. mL⁻¹ (Tabela 3). Os resultados reforçaram a capacidade destes compostos de reduzir contaminações microbiológicas em sistemas de resfriamento. Mesmo diante da matéria orgânica presente na água de resfriamento, o ácido láctico não perdeu sua efetividade, revelando também sua estabilidade.

Tabela 3 – Aplicação de ácido láctico em água artificialmente contaminada com *Salmonella* spp. (6 logde UFC.mL⁻¹) a 4°C.

<i>Salmonella</i> spp. (ATCC)	Contagem de <i>Salmonella</i> spp. (log UFC.mL ⁻¹)	
	AL (2,0%)	Controle (água de <i>Chiller</i>)
<i>S. Heidelberg</i> (8326)	N.D.	6,69±0,05
<i>S. Typhimurium</i> (14028)	N.D.	6,77±0,03
<i>S. Enteritidis</i> (13076)	N.D.	6,82±0,04

UFC/mL: Unidade formadora de colônia por mililitro. ND – Crescimento Não Detectado

Embora o teste com água de *chiller* tenha sido realizado a 4 °C e somente na concentração de 2,0% de AL, dependendo da sorovar contaminante é possível que concentrações menores fossem suficientes. Os testes para determinação da CIM *in vitro* foram conduzidos a 25 °C com respostas diferentes para as três cepas testadas (Tabela 1), com CIM de 0,5, 1,0 e 2,0%. Experimentos com desinfetantes comerciais compostos de ácido peracético e mistura de ácidos orgânicos testados frente a *Salmonella* spp em temperaturas de 10 e 30 °C não apresentaram diferenças na ação antibacteriana destes compostos^[18]. A concentração testada de AL a 2,0% considerou a necessidade de garantir a ação antibacteriana independente do sorovar.

Além das diferentes respostas entre as sorovares, há de considerar a forma de aplicação do ácido láctico. Em meio de cultura sólida o ácido láctico a 0,1% foi capaz de inibir completamente o desenvolvimento de *Salmonella* Enteritidis, *S. Anatum* e *S. Typhimurium* (10⁸UFC)^[24]. Já a pulverização de ácido láctico (0,5, 1, 1,5 e 2%) ocasionou reduções de 0,4 a 1,4 log UFC.cm⁻² de *S. Typhimurium* na superfície de lombos suínos^[25]. Além disso, há de ressaltar a capacidade de *Salmonella* spp. formar biofilmes e afetar a ação do agente antimicrobiano^[26]. Os experimentos conduzidos neste trabalho foram

realizados em soluções aquosas, com inóculo de células de *Salmonella*spp., nos tempos testados não observou-se a formação de biofilmes. Neste sentido, deve-se considerar esta possibilidade, sendo necessários ajustes nas concentrações a serem aplicadas dependendo do uso pretendido destes agentes.

CONCLUSÃO

Entre os compostos clorados comerciais, somente o dicloro isocianurato foi capaz de inibir *Salmonella* spp. Considerando a possibilidade de tolerância microbiana ao cloro utilizado no controle de patógenos, a disposição de alternativas de controle que sejam seguras, eficazes e biodegradáveis se faz necessária. Os ácidos peracético e láctico mostraram-se eficazes inibindo grande parte das cepas de *Salmonella* spp. testadas. O ácido láctico (GRAS) teve seu efeito confirmado quando aplicados em água de *chiller* artificialmente contaminada com *Salmonella* spp. Embora não seja permitido pela legislação brasileira, o uso do ácido láctico em abatedouro de frangos é prática adotada nos Estados Unidos da América. Diante disso, discussões são necessárias para regulamentar o uso deste ácido em suporte a programas de biossegurança na linha de abate de aves.

REFERÊNCIAS

- [1] Von Rückert, DAS, Pinto, PSA., Santos, BM, Moreira, MAS, Rodrigues, ACA. Pontos críticos de controle de *Salmonella* spp. no abate de frangos. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia. 2009; 61 (2):326-330.
- [2] Guibourdenche M, Roggentin P, Mikoleit M, Fields PI, Bockemühl J, Grimont PA, Weill FX. Supplement 2003 - 2007 (N° 47) to the White-Kauffmann -Le Minor scheme. Research in Microbiology. 2010; 161:26-29.
- [3] Colla, FL, Rodrigues, LB, Borsoi, A, Dickel, EL, Nascimento, VP, Santos, LR. Isolamento de *Salmonella Heidelberg* em Diferentes Pontos da

- Tecnologia de Abate de Frangos de Corte. Arquivo Instituto Biológico. 2012; 79 (4):603-606.
- [4] Doyle, MP, Erickson, MC. Reducing the carriage of foodborne pathogens in livestock and poultry. *Poultry Science*. 2006; 85 (6):960-973
- [5] Buncic, S, Sofos, J. Interventions to control *Salmonella* contamination during poultry, cattle and pig slaughter. *Food Research International*. 2012; 45 (2):641–655.
- [6] Mani-López, E, García, HS, López-Malo, A. Organic acids as antimicrobials to control *Salmonella* in meat and poultry products. *Food Research International*. 2012; 45 (2): 713–721.
- [7] USDA - United States Department of Agriculture. Directive 7120.1, Safe and Suitable Ingredients Used in The Production of Meat, Poultry, and Egg Products, Revision 14, dated March 22, Food Safety and Inspeccion Service. FSIS; 2012.
- [8] Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Circular nº 668 de 19/09/2006. Diretrizes para preparação de Plano de APPCC (HACCP) para o processo de abate de aves. Brasília: 2006. 3 p.
- [9] Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Nº 70, 10 outubro de 2003. Programa De Redução De Patógenos Monitoramento Microbiológico - Controle De *Salmonella* sp. Em Carcaças De Frangos E Perus. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, 10 out. 2003 a. Seção 1, p. 9.
- [10] ISO 6579. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method of detection of *Salmonella* spp. 4.ed. 2002. The International Organization for Standardization, Amendment 1.
- [11] NCCLS. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility tests; Approved Standard - Eighthth NCCLS. Document M2-A8. Wayne, Pennsylvani, USA, 2003.
- [12] Brasil. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Manual de métodos microbiológicos para alimentos. Brasília: Coordenação Geral de Laboratório Animal; 1992.
- [13] Silva, N, Junqueira, VCA, Silveira, NFA, Taniwaki, MH, Santos, RFS, Gomes, RAR. Manual de Métodos de Análise Microbiológicas de Alimentos. São Paulo: Varela; 2010.
- [14] Harnvajanawong, N, Thongkon, N, Ungchusuk, C, Ramsomphob, W. Effect of Trichloroisocyanuric Acid Disinfectant Filled in Swimming Pool. The Joint International Conference on “Sustainable Energy and Environment (SEE)” 1-3 December; Hua Hin, Thailand. 2004. S005P.
- [15] Mattos, A. A. Tratamento de água para abastecimento público com o uso de tabletes de ácido tricloroisocianúrico. IN: Assembléia Nacional da ASSEMAE, ASSEMAE - Associação Nacional dos Serviços Municipais de Saneamento. 19 de abril; São Paulo. 2004, p34.
- [16] Gonçalves AC, Almeida RCC, Alves, MAO, Almeida PF. Quantitative investigation on the effects of chemical treatments in reducing *Listeriamonocytogenes* populations on chicken breast meat. *Food Control*. 2005; 16: 617–622.
- [17] Mokgatla, RM, Brozel, VS, Gouws,PA. Isolation of *Salmonella* resistant to hypochlorous acid from a poultry abattoir. *Letters in Applied Microbiology*. 1998; 27: 379–382.
- [18] Macedo, JAB. O processo de desinfecção pelo uso de derivados clorados em função do pH e a Portaria 518/2004 do Ministério da Saúde. XLIV Congresso Brasileiro de Química. 20 a 24 setembro; Fortaleza-CE. 2004, p1-11.
- [19] Tan, SY, Mikš-krajnika, M, Neo, SY, Tan, A, Khoo, GH, Yuk, H-G. Effectiveness of various sanitizer treatments for inactivating natural

microflora and *Salmonella* spp. on turnip (*Pachyrhizus erosus*). *Food Control*. 2015; 54: 216-224.

[20] Jaenisch, FRF, Kuchiishi, SS, Coldebella, A. Atividade antibacteriana de desinfetantes para uso na produção orgânica de aves. *Ciência Rural*. 2010; 40 (2):384-388.

[21] Bauermeister LJ, Bowers JW, Townsend JC, Mckee SR. The microbial and quality properties of poultry carcasses treated with peracetic acid as an antimicrobial treatment. *Poultry Science*. 2008; 87(11):2390-2398.

[22] Machado, TRM, Malheiros, PS, Brandelli, A, Tondo, EC. Avaliação da resistência de *Salmonella* à ação de desinfetantes ácido peracético, quaternário de amônio e hipoclorito de sódio. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*. 2010; 69 (4): 475-481.

[23] Brul, S.; Coote, P. Preservative agents in foods Mode of action and microbial resistance mechanisms. *International Journal of Food Microbiology*.1999; 50:1-17.

[24] Burin, RCK, Silva JR, A, Nero, LA. Influence of lactic acid and acetic acid on *Salmonella* spp. growth and expression of acid tolerance-related genes. *Food Research International*. 2014; 64: 726-732.

[25] Kang, S, Jang, A, Lee, SO, Min, JS, Kim, S, Lee, M. Effect of organic acids on microbial populations and *Salmonella* Typhimurium in pork loins. *Asian Australasian Journal of Animal Sciences*. 2003; 16 (1): 96-99

[26] Steenackers, H, Hermans, K, Vanderleyden, J, DE Keersmaecker, SCJ. *Salmonella* biofilms: An overview on occurrence, structure, regulation and eradication. *Food Research International*. 2012; 45 (2): 502-531.