

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

Características de produção e de matadouros-frigoríficos na detecção e
quantificação de *Salmonella* spp. em diferentes etapas da linha de processamento de
frangos de corte no sul do Brasil

Tese de Doutorado

Leonardo Werlang Isolan

PORTO ALEGRE

2015

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

Características de produção e de matadouros-frigoríficos na detecção e
quantificação de *Salmonella* spp. em diferentes etapas da linha de processamento de
frangos de corte no sul do Brasil

Autor: Leonardo Werlang Isolan
Tese apresentada como requisito parcial
para obtenção do grau de Doutor em
Ciências Veterinárias na área de Medicina
Veterinária Preventiva, na especialidade de
Sanidade Avícola.

Orientador: Vladimir Pinheiro do
Nascimento

Coorientador: Adriano da Silva Guahyba

PORTO ALEGRE

2015

CIP - Catalogação na Publicação

Werlang Isolan, Leonardo
Características de produção e de matadouros-
frigoríficos na detecção e quantificação de Salmonella
spp. em diferentes etapas da linha de processamento
de frangos de corte no sul do Brasil / Leonardo
Werlang Isolan. -- 2015.
99 f.

Orientador: Vladimir Pinheiro do Nascimento.
Coorientador: Adriano da Silva Guahyba.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio
Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Programa de
Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Porto Alegre,
BR-RS, 2015.

1. Salmonella. 2. frango. 3. saúde pública. I.
Pinheiro do Nascimento, Vladimir, orient. II. da
Silva Guahyba, Adriano, coorient. III. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os
dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Leonardo Werlang Isolan

CARACTERÍSTICAS DE PRODUÇÃO E DE MATADOUROS-FRIGORÍFICOS NA
DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE *SALMONELLA* SPP. EM DIFERENTES
ETAPAS DA LINHA DE PROCESSAMENTO DE FRANGOS DE CORTE NO SUL
DO BRASIL

Aprovado em 05 de Março de 2015.

APROVADO POR:

Prof. Dr. Vladimir Pinheiro do Nascimento
Orientador e Presidente da Comissão

Prof. Elci Lotar Dickel
Membro da Comissão

Prof. Guiomar Pedro Bergmann
Membro da Comissão

Prof. Luciana Ruschel dos Santos
Membro da Comissão

AGRADECIMENTOS

Ao orientador Professor Vladimir Pinheiro do Nascimento; ao coorientador Adriano da Silva Guahyba; aos Professores Luciana Ruschel dos Santos, Elci Lotar Dickel, Guiomar Pedro Bergmann, e Laura Beatriz Rodrigues; aos colegas de doutorado Gustavo Perdoncini, Karen Borges e Yuli Sierra; aos demais professores e colegas do CDPA; aos alunos bolsistas do Laboratório de Bacteriologia Veterinária da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Passo Fundo; ao Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento; a minha família; e a todos que pelos ensinamentos, informações, e apoio, colaboraram e fizeram parte da construção deste trabalho.

RESUMO

A cadeia avícola brasileira compreende diversas etapas desde a criação até o processamento de abate das aves. Todas estas etapas são complexas e demandam ações técnicas específicas para garantir a saúde das aves e dos seus produtos cárneos. A *Salmonella* aparece como o patógeno de maior importância em relação à saúde pública vinculado por produtos avícolas e deve ser controlado em todas as etapas de criação das aves e seu abate. O objetivo deste estudo foi identificar características específicas de criação e de matadouro-frigoríficos que atuam sobre a detecção e quantificação deste patógeno em diferentes etapas do processamento. Foram coletadas 1071 amostras, e analisadas por dois métodos diferentes para isolamento de *Salmonella* spp., convencional e mNMP. A prevalência obtida de *Salmonella* spp. sobre o total de amostras analisadas foi de 1,02% (11/1071), 0,37% (4/1071) através do mNMP e 0,74% (8/1071) pelo método convencional. Os isolados ocorreram nos seguintes pontos: *swabs* de cloaca; esponja das gaiolas de transporte após lavagem; frangos após a depenagem; frangos após a lavagem, antes do pré-resfriamento; frangos após a primeira lavagem; carcaça após a evisceração, antes da lavagem final; carcaça após o pré-resfriamento; carcaça com 24 horas de congelamento; carcaça com 60 dias de congelamento. Dentre os fatores estudados apenas o tempo de vazio sanitário apresentou correlação estatisticamente significativa ($p=0,036$), inversa e moderada entre esta variável e o número de lotes positivos para *Salmonella*. Também foi estudada a avaliação dos dados do Programa de Redução de Patógenos (PRP) para *Salmonella* spp. em carcaças de frango de corte antes e após a implantação do sistema de lavagem de carcaças em cinco matadouro-frigoríficos, sendo amostradas 2692 carcaças antes da instalação do sistema e 1940 após a instalação, totalizando 4632 amostras. Anteriormente a instalação dos lavadores obteve-se 156 resultados positivos para *Salmonella* spp. e após a instalação 83 resultados positivos, com diferença significativa ($p<0,05$ / OR 1,4) entre os resultados gerais. Em dois dos cinco matadouro-frigoríficos avaliados houve redução na positividade para *Salmonella* spp. nas carcaças amostradas após a instalação do lavador. Entretanto, em três estabelecimentos houve aumento, apesar de não haver diferença significativa. Quanto maior a vazão de água melhor a ação do lavador, enquanto que somente o aumento da pressão de água do sistema de lavagem não foi suficiente para agir sobre o patógeno nas carcaças amostradas. Estes resultados geram dados técnicos adicionais relacionados à ocorrência do patógeno nas

etapas da cadeia de produção avícola e podem servir de suporte na tomada de decisões ou medidas para reduzir a contaminação de produtos avícolas por *Salmonella*.

Palavras-chave: frango, carcaça, *Salmonella*, matadouro-frigorífico

ABSTRACT

The Brazilian poultry chain comprises several stages from creation to the processing of poultry at slaughter. All these steps are complex and require specific technical actions to ensure the health of birds and their meat products. Salmonella appears as the most important pathogen in relation to public health transmitted by poultry products and has to be controlled at all stages from creation to slaughter. The objective of this study was to identify specific features of breeding and slaughterhouses that act on the detection and quantification of this pathogen at different stages of processing. 1071 samples were collected, and analyzed by two different methods for isolation of Salmonella spp., conventional and mNMP. The total prevalence of Salmonella spp. was 1.02% (11/1071), 0.37% (4/1071) by mNMP and 0.74% (8/1071) by the conventional method. Isolates were from: cloaca swabs; transport cages after washing; poultry after plucking; poultry after washing before the pre-chilling; poultry after first wash; carcass after evisceration, before the final wash; carcass after pre-chilling; frozen carcass after 24 hours; frozen carcass with 60 days freezing. Among the factors studied only the sanitary break period has showed a statistically significant correlation ($p=0.036$), inverse and moderate between this variable and the number of positive flocks for Salmonella. The results of the Pathogen Reduction Program (PRP) for Salmonella spp. in broiler carcasses before and after the implementation of carcasses washing system was analyzed based on a data set in five slaughterhouses. 2692 results were provided prior to system installation and 1940 after installation were obtained, totaling 4632 samples. Prior to installation of the washers 156 carcass were positive for Salmonella spp. and after installation 83 carcass resulted positive, with a significant difference ($p < 0.05$ / OR 1.4) on the overall results. Two of the five evaluated slaughterhouses showed a prevalence decrease of Salmonella spp. in the sampled carcasses after installing the washer. However, three establishments showed a prevalence increase despite no significant difference. As higher is the water flow better is the action of the washing system, while only the water pressure increased was not enough to act on the pathogen in the sampled carcasses. These results provide additional data related to the occurrence of the pathogen in the stages of poultry production chain and can be supportive in decision making on measures to reduce the contamination of poultry products with Salmonella.

Key words: poultry, carcass, Salmonella, slaughterhouses

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

TABELA 1. Sorovares detectados conforme a técnica de isolamento, ponto amostrado e abatedouro.....47

TABELA 2. Quantificação obtida através do método NMP miniaturizado.....49

TABELA 3. Características de criação e do processamento por abatedouro.....52

CAPÍTULO II

TABELA 1. Positividade para *Salmonella* spp. antes e após a instalação do sistema de lavagem de carcaças em cinco matadouro-frigoríficos sob Inspeção Federal.....79

TABELA 2. Valores de pressão e volume de água dos lavadores de carcaças instalados nos matadouro-frigoríficos estudados.....79

LISTA DE FIGURAS**CAPÍTULO I**

FIGURA 1. Comportamento quantitativo de *Salmonella* spp. nos pontos analisados..49

FIGURA 2. Número de isolados de *Salmonella* spp. por ponto de coleta.....50

LISTA DE ABREVIATURAS

APPCC	Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle
ABPA	Associação Brasileira de Proteína Animal
BPF	Boas Práticas de Fabricação
C°	Grau Celcius
cm ²	Centímetro quadrado
DIPOA	Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal
DIF	Departamento de Inspeção Final
DTA	Doenças Transmitidas por Alimentos
FAO	Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura
g	Grama
GFN	Global Foodborne Infections Network
h	Hora
IN	Instrução Normativa
ISO	Organização Internacional para Padronização
KgF	Kilograma Força
L	Litro
LIA	<i>Lysine Iron Agar</i>
MAPA	Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento
mL	Mililitro
µL	Microlitro
mNMP	Número Mais Provável miniaturizado
MSRV	Rapaport Vassiliadis Semi-sólido
n°	Número
NMP	Número Mais Provável
PC	Ponto de Controle
PCC	Ponto Crítico de Controle
pH	Pontencial hidrogeniônico
PIB	Produto Interno Bruto
PNSA	Programa Nacional de Sanidade Avícola
ppm	Partes por milhão
PPHO	Procedimento Padrão de Higiene Operacional
PRP	Programa de Redução de Patógenos

PSO	Procedimento Sanitário Operacional
PVC	Policloreto de polivinila
SDA	Secretaria de Defesa Agropecuária
SIF	Serviço de Inspeção Federal
SIM	<i>Sulfide-Indole-Motility</i>
TSI	<i>Triple Sugar Iron</i>
UFC	Unidade Formadora de Colônia
UPF	Universidade de Passo Fundo
USDA	Departamento de Agricultura dos Estados Unidos
WHO	Organização Mundial de Saúde
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	14
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	19
2.1 Características do Agente.....	19
2.2 Salmonelose em Aves.....	20
2.3 Salmonelose em Humanos.....	22
2.4 Ocorrência de Salmonella em Carcaças de Frango.....	24
2.5 Programa de Redução de Patógenos (PRP) - Salmonella.....	28
2.6 Enumeração de Salmonella sp.....	29
2.7 Impacto da Avicultura no PIB brasileiro.....	30
2.8 Resolução 04/2012 - Lavagem de Carcaças.....	31
2.9 Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle.....	32
2.10 Medidas de Controle Interno nos Matadouro-frigoríficos.....	34
2.10.1 Características de criação de aves.....	34
2.10.2 Características dos matadouros-frigoríficos e medidas de controle.....	36
3 CAPÍTULO I.....	38
Fatores de criação de frangos de corte e características de matadouros- frigoríficos e suas ações sobre a presença de <i>Salmonella</i> spp. em diferentes etapas do processamento e avaliação dos pontos críticos de controle	
4 CAPÍTULO II.....	67
Sistema de lavagem de carcaças e controle de <i>Salmonella</i> spp. em matadouros-frigoríficos de frangos de corte	
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS E CONCLUSÕES.....	80
5.1 Conclusões Finais.....	82
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	83

1 INTRODUÇÃO

A cadeia avícola configura-se atualmente como um dos mais importantes alicerces do agronegócio brasileiro. Além da extrema importância para a economia, devido aos bilhões de dólares gerados pela exportação, a cadeia avícola apresenta um componente social muito relevante, ao proporcionar milhares de empregos em todo o país (NASCIMENTO *et al.*, 2012).

No Brasil, a avicultura emprega mais de 3,6 milhões de pessoas, direta e indiretamente, e responde por quase 1,5% do Produto Interno Bruto (PIB) nacional (UBABEF, 2013).

O setor é representado por dezenas de milhares de produtores integrados, centenas de empresas beneficiadoras e dezenas de empresas exportadoras (UBABEF, 2013).

A importância social da avicultura no Brasil se verifica também pela presença maciça no interior do país, principalmente nos estados do Sul e Sudeste. Em muitas cidades a produção de frangos é a principal atividade econômica (UBABEF, 2013).

Estudos feitos pela União Brasileira de Exportadores de Frango (ABPA, 2014) indicam que a produção brasileira de carne de frango em 2013 foi de 12,30 milhões de toneladas. Desempenho que mantém o Brasil como o terceiro maior produtor de frango de corte do mundo. A China, hoje o segundo maior produtor mundial, apresentou em 2013 uma produção de 13,5 milhões de toneladas, abaixo apenas dos Estados Unidos, com 16,95 milhões de toneladas, este o maior produtor atualmente.

De acordo com os levantamentos, a produção que tem como destino o mercado interno brasileiro representou mais de 68 % deste volume (ou o equivalente a mais de 9 milhões de toneladas) no ano de 2013 (ABPA, 2014).

Já para o mercado externo, os embarques totalizaram 3,942 milhões de toneladas de carne de frango, praticamente 32% do volume total produzido em 2013, representando um aumento de 1% em relação a 2012 (ABPA, 2014).

O Rio Grande do Sul é o terceiro maior estado exportador de carne de frango do Brasil, representando o montante de 711.318 toneladas, ficando atrás somente dos estados do Paraná e de Santa Catarina (ABPA, 2014). O estado possui dezoito matadouro-frigoríficos de aves sob o regime de inspeção federal e todos estes estão habilitados para exportação.

Desta forma, o Brasil continua apresentando papel de destaque na produção e exportação de carne de frango. E para a sua permanência nesta posição é fundamental a necessidade de produção de alimentos seguros e a demanda de adoção de medidas atualizadas para o controle sanitário em todas as etapas da cadeia de produção para evitar surtos de doenças de origem alimentar por produtos avícolas, estes cada vez mais requisitados pelos consumidores a nível mundial.

A produção industrial de animais e de alimentos de origem animal e o intercâmbio comercial intenso de animais e produtos derivados para o consumo humano tem favorecido a introdução e a disseminação de patógenos na cadeia alimentar (WHO, 2007).

O risco da disseminação das doenças transmitidas por alimentos está vinculado a diversas razões, sejam pela adaptação microbiana, mudanças nos sistemas de produção de alimentos, hábitos alimentares da população, mudanças na criação de animais, processos produtivos e tecnologia de alimentos, globalização no comércio internacional, aumento das populações susceptíveis e demanda dos consumidores (CAC, 2007).

Neste contexto, bactérias do gênero *Salmonella* aparecem como um dos mais importantes patógenos mundialmente distribuídos, associado à carne de frango e de seus produtos derivados (POPPE, 2000).

A salmonelose é no Brasil e no mundo, um desafio para a saúde pública. Apesar da subnotificação, a partir da década de 70 tem ocorrido um aumento acentuado e contínuo do número de casos vinculados a determinados sorovares, os quais variam geograficamente (BORSOI *et al.*, 2010).

Com o aumento do isolamento de *Salmonella* hospedeiro não específica em produtos de frango, assim como em casos de salmonelose humana, e a consequente associação entre estes dois, os esforços globais para controle de *Salmonella* na indústria de frango tiveram alta projeção, particularmente nos anos seguidos à disseminação pandêmica de *Salmonella enteritidis* no final dos anos 1980. Entretanto, o cumprimento deste controle não tem sido muito fácil (MEAD *et al.*, 2010).

Segundo Hans, estes sistemas de controle visam abranger toda a cadeia produtiva, minimizando significativamente os riscos para o consumidor final. Para que seja efetivo, deve ser empregado método de análise de alimentos que sejam realmente eficientes (HANS, 2008).

Embora a carne de frango seja um significativo veículo de infecção alimentar por *Salmonella* em humanos, a verdadeira proporção de todos os casos de salmonelose que são associados com o consumo de produtos de frango e o seu risco atribuído é difícil de quantificar (BATZ *et al.*, 2005; PIRES *et al.*, 2009).

Muitas são as variáveis que podem complicar os esforços de controle de *Salmonella* em frangos. Diferenças das espécies patogênicas e seus sorovares predominantes, a extensão dos controles regulatórios e a natureza, tamanho e complexidade de logística das indústrias envolvidas são algumas delas (SARGEANT *et al.*, 2007).

Assim, considerando que o abate consiste de uma linha na qual as carcaças são submetidas a vários processos onde pode haver o aumento ou redução da contaminação por *Salmonella* nas carcaças, a detecção e a quantificação do patógeno nas amostras isoladas tem especial valor na análise de risco destas etapas (EFSA, 2010).

O estudo e desenvolvimento de programas com medidas de controle de *Salmonella*, embasados no conhecimento da sua prevalência e seu comportamento quantitativo durante o processamento de abate de frangos de corte tem como objetivo melhorar o nível de segurança alimentar e fornecer subsídios para a análise de risco, ferramenta fundamental para auxiliar o delineamento de programas oficiais de controle deste patógeno. A competência para a determinação das metas de saúde pública e inocuidade é de responsabilidade do governo, devendo ser baseadas invariavelmente em ciência e considerar a realidade do país, sendo o impacto econômico e social elementos de relevante importância (ICMSF, 2006).

No cenário da avicultura mundial, a *Salmonella* é um dos mais importantes patógenos distribuídos no mundo, associado à carne de frango e de seus produtos derivados. (BRYAN & DOYLE, 1995; BORSOI *et al.*, 2010; MARIN *et al.*, 2011).

Apesar da citada disponibilidade de dados relativos à incidência de *Salmonella* em carne de aves, a determinação da extensão desta contaminação, ou seja, a quantificação de células é relatada em poucos estudos. Conhecer o número de células de *Salmonella* presentes na carne de aves é um ponto importante para auxiliar a análise de riscos (BORSOI *et al.*, 2010).

Deste modo, estudos para a quantificação do nível de infecção por *Salmonella* em carcaças de frango auxiliam na avaliação da exposição ao risco, que traduz a necessidade de ações a níveis de indústria e consumidor (MEAD *et al.*, 2010). Segundo estes mesmos autores, a contaminação por *Salmonella* é geralmente expressa em

termos de prevalência, mas evidências a partir da análise de risco microbiológico indicam que o nível de contaminação pode ser ainda mais importante para a saúde pública.

A necessidade de maior garantia de qualidade das carcaças de aves e dos produtos delas originados para atender a crescente demanda por produtos seguros e saudáveis (MACIEL *et al.*, 2012), juntamente da falta de trabalhos regionais acerca da contaminação por *Salmonella* spp. e sua enumeração nas linhas de abate, torna imperativa a avaliação de algumas dessas etapas, que possam estar envolvidas na contaminação de carcaças de aves durante o processo.

Em avaliação de risco de *Salmonella* em frangos de corte editada pela FAO/WHO (FAO/WHO, 2002) foi observado que cada etapa do processamento de aves pode aumentar ou diminuir a sua prevalência na carcaça de frango, ou aumentar ou diminuir o número de organismos sobre a superfície externa da carcaça. Sobretudo, é provável que cada etapa do abate seja similar em todas as regiões do mundo, porém, as mudanças na carga microbiana de cada etapa podem diferir, dependendo dos equipamentos, tecnologias e práticas de higiene empregadas.

Considerando a legislação oficial vigente no Brasil que regra sobre as medidas aplicáveis no processamento de aves (BRASIL, 1998) também se observa a necessidade de constante estudo e revisão em ordem de acompanhar o rápido crescimento tecnológico da indústria processadora de carne de aves.

O conhecimento da identificação e enumeração do possível patógeno que representa risco à saúde pública é fundamental para fornecer subsídio técnico-científico para a tomada de decisões relativas aos programas de controle de patógenos, assim como para o desenvolvimento da análise de risco.

Dados sobre a ocorrência e disseminação deste agente na cadeia avícola brasileira ainda são baseados em métodos apenas qualitativos e não quantitativos, sendo estes últimos uma tendência mundial (Machado, 2012).

Ao aplicar o conceito de análise quantitativa de risco, é desejável que sejam realizadas análises quantitativas para uma informação mais precisa, isto porque o nível de contaminação do alimento, assim como o sorovar relacionado, estará diretamente relacionado ao risco de ocorrência da doença (COX *et al.*, 2010).

Muitos estudos que investigaram o efeito do processamento sobre a contaminação por *Salmonella* em carcaças de frango só consideraram uma única etapa do abate ou poucas etapas em sequência (FAO/WHO, 2002). Dados referentes a toda

sequencia do processamento das aves podem ser utilizados para embasar um indicativo sobre a extensão da contaminação cruzada e, em teoria, poderia também ser utilizado para prever níveis ou números de organismos em cada etapa em particular.

Dessa forma, este trabalho teve por objetivo avaliar as características de criação de frangos de corte e dos matadouro-frigoríficos e a análise dos seus resultados qualitativos e quantitativos de *Salmonella* spp. sobre cada etapa do processamento, para verificar quais são os pontos de intervenção no abate de frangos onde devem ser mais bem empregados esforços para a redução da contaminação por este patógeno. Estes resultados poderão ser diretamente empregados para o desenvolvimento de programas oficiais e privados com embasamento científico, permitindo uma ação direcionada às etapas (pontos) de interesse (críticos), conseqüentemente preservando a saúde pública.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Características do agente

Em todo o mundo a *Salmonella* é um microrganismo que está amplamente distribuído no ambiente. Este agente que teve sua nomenclatura inspirada no cientista que o descobriu, Dr. Daniel E. Salmon (STERZO, 2008), hoje é composto por mais de 2500 sorovares diferentes e dentre estes, cerca de 80 a 90 sorovares são mais comuns em casos de infecção dos seres humanos e animais (POPPOF *et al.*, 2001; BERCHIERI JUNIOR & FREITAS NETO, 2009; GUIBOURDENCHE, *et al.*, 2010).

O gênero *Salmonella*, pertence à família Enterobacteriaceae, é um bacilo curto, de 0,7-1,5 x 2,5 µm, Gram-negativo com metabolismo tanto respiratório como fermentativo e produtores de ácido sulfídrico. Os sorovares Gallinarum e Pullorum são imóveis e os sorovares móveis possuem flagelos peritríquios. São bactérias aeróbias ou anaeróbicas facultativas, apresentam crescimento entre 5 e 45°C, porém seu crescimento ótimo ocorre em 37°C. Crescem em pH entre 4 e 9, sendo o pH 7 o ideal. As colônias, de 2-4 mm, apresentam-se elevadas e com bordas lisas e arredondadas, fazendo-se necessária fonte de carbono e nitrogênio nos meios de cultura (BORSOI, 2005; GAST, 2008). Esses microrganismos são susceptíveis a destruição pelo calor. Durante cozimento da carne de aves, ao atingir uma temperatura de 74°C ou superiores, as células bacterianas tornam-se inviáveis (SCNEPF *et al.*, 1989). O tratamento térmico por 70 minutos a 57°C também inativa as células bacterianas (BRACKETT, *et al.* 2001).

A classificação e a nomenclatura do gênero *Salmonella* sofreram várias modificações ao longo dos anos e ainda não estão totalmente definidas. Usualmente é utilizado o esquema de Kauffman e White, que divide o gênero em sorovares ou sorovares, tendo por base a composição dos antígenos O (somáticos), Vi (capsulares) e H (Flagelar) (CAMPOS, 2008).

Em termos de classificação, o gênero *Salmonella* apresenta-se dividido em duas espécies: *S. enterica* e *S. bongori*, que podem ser diferenciados com base bioquímicas e sorológicas (BERCHIERI JUNIOR & FREITAS NETO, 2009).

Salmonella enterica é dividida em seis subespécies: *enterica*, *salamae*, *arizone*, *diarizonae*, *houtenae* e *indica*. A subespécie *enterica* apresenta uma grande variedade de sorovares, conforme a variação antigênica (EUZEBY, 1999). Dentro da espécie *S.*

enterica subespécie *enterica* se destacam os sorovares *gallinarum*, *pullorum*, *enteritidis* e *typhimurium* (POPPOFF *et al.*, 2001; GUIBOURDENCHE *et al.* 2010). Estes sorovares são monitorados pelo Programa Nacional de Sanidade Avícola – PNSA (BRASIL, 2003) e a presença dos dois primeiros em granjas de matrizes resulta em impacto econômico maior do que os sorovares *enteritidis* e *typhimurium*, que são isolados com maior frequência em produtos avícolas e em casos de toxinfecção alimentares.

Campos (2008) relatou a existência de 2501 sorovares de *Salmonella*, dentre os quais 1478 pertencendo a *S. enterica* subespécie I, onde estão contidos mais de 99,5% dos sorovares mais comumente isolados. No entanto, é cada vez maior o número de sorovares de *Salmonella* identificados. Em 2010 foi publicada a caracterização de 70 novos sorovares reconhecidos entre os anos de 2003 e 2007, dos quais 44 foram classificados como pertencendo a *S. enterica* subespécie *enterica* (GUIBOURDENCHE *et al.*, 2010).

Há sorovares de *Salmonella* que são adaptados a um hospedeiro específico enquanto outros sorovares afetam um grande número de hospedeiros, desenvolvendo importante papel na disseminação da infecção entre diferentes espécies. E mesmo que *Salmonella enteritidis* e *Salmonella typhimurium* sejam os sorovares mais relacionados com infecções humanas, outros sorovares isolados de aves são potencialmente patogênicos e considerados um perigo para a saúde pública (MALHEIROS, 2007).

2.2 Salmonelose em Aves

O termo Salmonelose aviária designa um grupo de doenças agudas ou crônicas, causadas por um ou mais membros do gênero *Salmonella*, o qual pertence a família Enterobacteriaceae. Segundo Popoff (2001), parte dos sorovares deste gênero é passível de ser isolada a partir de aves, as quais constituem o maior reservatório individual de salmoneloses existente na natureza, sendo aquelas um dos veículos mais importantes dentre os causadores de toxinfecção no homem.

As salmonelas das aves podem ser classificadas clinicamente em três doenças: a Pulrose, causada pela *Salmonella enterica* sub-espécie *enterica* sorovar Pullorum; o Tifo Aviário, causado pela *Salmonella enterica* sub-espécie *enterica* sorovar Gallinarum; e as infecções paratífóides ou Paratifo Aviário, determinadas pelos sorovares não adaptados às aves, os quais, até por não possuírem preferência por um

hospedeiro em especial, muito frequentemente podem causar toxinfecções alimentares em humanos (BERCHIERI JR. & FREITAS NETO, 2009).

Salmonella spp. é um dos mais importantes patógenos de doenças transmitidas por alimentos de origem animal (SCHLUNDT *et al.*, 2004). Existem evidências que os produtos da carne de frango são uma das mais importantes fontes de infecção para este organismo (HALD *et al.*, 2004; SCHLUNDT *et al.*, 2004). A *Salmonella* é um dos mais importantes patógenos mundialmente distribuídos, associados à carne de frango e seus produtos derivados (EC, 2007).

Fatores de risco para a colonização do lote por *Salmonella* incluem a estação do ano, o incubatório de origem, o local de armazenamento de rações, e várias medidas de controle de higiene (CARDINALE *et al.*, 2004). Segundo Arsenault *et al.* (2007), os fatores de risco para a colonização podem diferir quanto a idade das aves ao abate, o manejo do lote e a exposição a reservatórios do patógeno em potencial.

Cui *et al.* (2005) afirma que vários fatores de risco existem para infecção e disseminação de *Salmonella* em granjas de frangos, entre eles estão o sistema de alojamento e criação das aves, o tamanho do lote, diferenças de idade das aves e as estações do ano.

Em análise sobre a distribuição de *Salmonella* em amostras de fezes de frangos durante as diferentes estações do ano foi indicado que o período de maior prevalência foi a primavera (45,5%), onde a porcentagem de amostras infectadas no inverno (16,7%), verão (24%) e outono (12,9%) foram menores (PIESKUS *et al.*, 2008). Resultados deste mesmo estudo indicaram que mais de 78% dos frangos infectados eram por *Salmonella enteritidis*.

Prevalência similar de *Salmonella enteritidis* isoladas de aves tem sido reportadas previamente por outros autores em muitos países da Europa (BELI *et al.*, 2001; MIKOLAJCKYK & RADKOWSKY, 2002; DOMÍNGUEZ *et al.*, 2002; CAPITA *et al.*, 2003; VALCHEVA *et al.*, 2011). Porém, outros pesquisadores, conforme Pieskus *et al.* (2008) encontraram *Salmonella kentucky* e *Salmonella heidelberg* como principais sorovares isolados de frango e produtos de frango. Já outro trabalho conduzido no Japão (LIMAWONGPRANEE *et al.*, 1998) reportou que *S. blockley*, *S. haddar*, *S. bredeney* foram predominantes em frangos, enquanto que *Salmonella enteritidis* foi encontrada apenas em 0,9% das amostras.

Isto mostra que a distribuição dos sorovares de *Salmonella* pelo mundo pode depender da sua região geográfica (PIESKUS *et al.*, 2008).

2.3 Salmonelose em Humanos

Existem 16 milhões de ocorrências por ano de casos de febre tifoide, 1,3 bilhão de casos de gastroenterites e três milhões de mortes no mundo associados ao patógeno *Salmonella* (PUI *et al.*, 2011).

Dentro das zoonoses a salmonelose é a mais complexa em sua epidemiologia e controle, com padrões diferenciados de acordo com diversos fatores numa região como as diferenças nos hábitos alimentares, práticas de elaboração de alimentos, criação de animais e padrões de higiene e saneamento. O controle das salmoneloses representa um desafio para a saúde pública, considerando a emergência de novos sorovares e a reemergência de outros em determinadas áreas, tanto nos países emergentes quanto naqueles industrializados (RODRIGUES, 2011).

Salmonella spp. com aproximadamente 2600 sorovares existentes (COBURN *et al.*, 2007), são responsáveis por adoecer humanos e representam uma importante questão de saúde pública (COOLARD *et al.*, 2007).

A carne de frango pode ser contaminada com uma grande variedade de microrganismos, incluindo aqueles capazes de deteriorar o produto durante sua estocagem em câmaras frias, e certamente por microrganismos patogênicos como *Salmonella*. A doença em humanos pode advir de manuseio incorreto de carne crua, mau cozimento, ou manipulação incorreta do produto após cozimento (MEAD, 2004).

A salmonelose pode se apresentar clinicamente na forma entérica (localizada) com diarreia ou na forma generalizada, afetando vários sistemas, resultando em septicemia. Os sintomas da salmonelose causada ao homem pela ingestão de alimentos contaminados por *Salmonella* spp. aparecem de 12 a 36 horas, podendo durar os sintomas até 72 horas (SHINOHARA *et al.*, 2008). Em sua grande maioria, os sintomas regredem em poucos dias (COOLARD *et al.*, 2007).

Conforme Varnam e Evans (1991), infecções por *Salmonella* podem ser graves, principalmente em crianças, idosos ou pessoas imunodeprimidas, sendo considerada como dose infectante para sadios contagens bacterianas entre 10^5 e 10^7 unidades formadoras de colônia (UFC).

Para Hamphrey (2004), a dose infectante de *Salmonella* para humanos saudáveis varia entre 10^6 e 10^8 UFC, embora tenham sido relatadas salmoneloses alimentares com dose muito menores.

Nascimento e Silva (1994) consideraram que um pequeno número de salmonelas já é suficiente como dose infectante para humanos. Relataram que, experimentalmente, apenas um organismo seria suficiente para iniciar um processo de toxinfecção.

Apesar de muita pesquisa e muitas tentativas nacionais e internacionais de implementação de estratégias de controle, a incidência de salmonelose humana em muitos países permanece alta (WEGENER *et al.*, 2003).

Embora a *Salmonella* enteritidis fagotipo 4 seja o agente etiológico mais importante do paratifo aviário, os sorovares *S. typhimurium*, *S. agona*, *S. infantis*, *S. hadar*, *S. heidelberg*, entre outros, também foram isolados de pacientes acometidos por salmonelose (BERCHIERI JUNIOR & FREITAS NETO, 2009; CDC, 2013).

De forma geral, os sorovares mais frequentes isolados a partir de humanos são a *Salmonella* enteritidis, *Salmonella* typhimurium e *Salmonella* heidelberg (Boyen *et al.*, 2008).

Mota *et al.* (1983) descreveu o primeiro surto de *Salmonella* enteritidis ocorrido no Brasil. Porém, foi a partir de 1993 que este sorovar emergiu como um grande problema de saúde pública. Até 1990 *Salmonella* enteritidis era raramente encontrada em infecções humanas, mas passou a corresponder a mais de 60% dos sorovares isolados no Instituto Adolfo Lutz em 1995 (BORSOI, 2005).

No Brasil, dos 2.974 surtos de toxinfecções alimentares em humanos (entre os anos de 1999 a 2008) causados pelos agentes mais frequentemente envolvidos, as *Salmonella* spp apareceram como responsáveis por 42,9% das ocorrências e o sorovar enteritidis, por mais 4,1% dos surtos (SVS, 2008).

Em trabalhos conduzidos no Rio Grande do Sul, foi verificada a ocorrência de surtos de salmonelose em 99 relatórios de investigação, sendo a salmonelose correspondente a 74,4%, estando 11,4% associados ao consumo de carne de aves (NADVORNY *et al.*, 2004). No estado do Rio de Janeiro, em estudo de 53 surtos que acometeram 461 pessoas, a *Salmonella* spp. foi responsável por 7% e atingiu maior número de indivíduos (15,8%), inclusive com um óbito (CORTEZ, 2006). Zhao *et al.*, (2001) relataram a ocorrência anual de 1,4 milhões de casos de salmonelose em seres humanos nos Estados Unidos.

Pode-se afirmar que a salmonelose é considerada como uma das mais disseminadas e distribuídas zoonoses de origem alimentar em países industriais e em

desenvolvimento mesmo que sua incidência pareça variar entre países (PIESKUS *et al.*, 2008).

Embora toda infecção por *Salmonella* seja de notificação nacional, por vários motivos muitos casos provavelmente não são reconhecidos. Nem todas as pessoas acometidas com esta infecção procuram por cuidados médicos, ou não há possibilidade de diagnóstico laboratorial para confirmação do caso, ou o diagnóstico clínico não realiza os testes diagnósticos necessários. Somado a isto, nem todo o isolado de *Salmonella* pode ser encaminhado ou reportado ao serviço de saúde pública e então não será reportado ao serviço de vigilância nacional (CDC, 2013).

Com o objetivo de gerenciamento do risco para a saúde humana é essencial rastrear o problema desde o nível de criação para tomar medidas preventivas e reduzir a ocorrência de contaminação cruzada que pode ocorrer em diversas etapas da cadeia de produção (COOLARD *et al.*, 2007).

2.4 Ocorrência de *Salmonella* em Carcaças de Frango

Os produtos de origem animal, principalmente os avícolas, são considerados uma importante fonte de proteína. No comércio brasileiro, as carcaças de frango podem ser encontradas nas formas resfriada e congelada (SANTOS *et al.*, 2000).

A contaminação de carcaças de frango pode ter implicações para a questão de segurança alimentar e para a vida de prateleira do produto (PISSOL *et al.*, 2013), sendo a *Salmonella* um dos mais importantes patógenos a serem controlados na carcaça de frango (MEAD, *et al.*, 2010).

Conforme Borsoi *et al.* (2010), a prevalência de *Salmonella* em carcaças de frango no Brasil tem sido estudada frequentemente, e apresentam dados diferenciados entre os seus estados. Sendo que na pesquisa destes autores com amostras no estado do Rio Grande do Sul, o percentual de amostras de isolamento de *Salmonella* em carcaças de frango resfriadas encontrado a partir de três marcas comerciais analisadas foi de 12,2%.

Já em estudo avaliando o processo higiênico-sanitário de abate de frangos, em três diferentes matadouro-frigoríficos, as carcaças analisadas antes e depois do chiller apresentaram, respectivamente, 31,7% e 20,0% de contaminação por salmonelas (DICKEL, 2004).

A alta detecção de índices de presença de *Salmonella* em carne de frango no varejo e em plantas processadoras de aves já foi reportado em países como o Japão e Espanha e em estudo de Carraminana *et al.* (1997), foi mostrado que a contaminação cruzada de *Salmonella* em matadouro-frigoríficos na Espanha elevaram a contaminação de carcaças pré-resfriadas para 60% durante o processo. Este achado sugere também a gravidade da contaminação cruzada por *Salmonella* nos produtos derivados da carne de frango.

Rasschaert *et al.*, (2008) reportaram que um aumento do isolamento de *Salmonella* em subseqüentes estágios do processamento poderia ser um resultado consequente da contaminação cruzada.

O sistema de produção e abate de frangos favorece a presença de *Salmonella* no produto final (SANTOS *et al.*, 2000). Estudos epidemiológicos reportam uma variedade de rotas pelas quais o patógeno *Salmonella* pode se disseminar dentro das empresas integradoras de aves (DAVIES & BRESLIN, 2003; NAMATA *et al.*, 2008).

Conforme estudos de Corry *et al.* (2002) a contaminação de carcaças de frango com *Salmonella* parece estar muito ligada a contaminação do lote durante a sua criação e/ou transporte para o abatedouro.

Falhas no processo de abate das aves e processamento das carcaças, por meio do contato do produto com superfícies contaminadas e mãos dos manipuladores durante a preparação dos alimentos, ou ainda, o fator de risco de contaminação cruzada estão diretamente relacionados à possibilidade de contaminação dos produtos cárneos de frango. Segundo Nascimento (1995), em relação à carne de frango, está demonstrado que mesmo um pequeno número de animais inicialmente infectados pode causar a multiplicação destas ocorrências através da contaminação de toda uma linha de abate, representando uma ameaça à saúde pública em casos onde as carcaças não são processadas corretamente.

Em estudo feito por Silva (1998), o mecanismo de contaminação da carcaça de aves durante o processamento envolve inicialmente a retenção das bactérias numa camada líquida sobre a pele, para que os microrganismos possam aderir-se convenientemente. A microbiota da ave viva se encontra essencialmente na superfície externa, espaço interdigital e tegumentos cutâneos, no trato digestivo e em menos grau no aparelho respiratório. Algumas espécies de *Salmonella* são capazes de aderir-se firmemente nas fibras de colágeno da superfície externa da pele do frango, após a

imersão em água. A adesão não depende de fímbrias, ocorrendo pelo contato da célula microbiana com a pele do frango, na presença de água.

Nas operações de abate, constituem-se pontos críticos de controle de *Salmonella* a depenagem, evisceração, pré-resfriamento e o resfriamento das carcaças (SILVA, 1998). Além destes também é apontada a etapa de escaldagem das aves (MEAD *et al.*, 2010), uma vez que estas ao adentrarem no tanque de escalada podem estar carreando grande quantidade de material orgânico e este, conseqüentemente pode estar carreando grande carga de material microbiológico.

O problema de contaminação bacteriana de carcaças no abate de aves também tem sido relacionado ao aumento da velocidade de abate dos matadouro-frigoríficos (SALES, 1999).

Desde a chegada das aves vivas na plataforma de recepção, a aves percorrem por várias etapas até se transformarem em carcaça e serem armazenadas na cadeia de frio. A primeira delas após a pendura e insensibilização é a sangria, seguindo para a escaldagem, evisceração, e lavagem final. Estas etapas constituem aquelas que ocorrem na chamada zona suja do abate. Ao adentrarem na zona limpa, inicia-se a etapa de evisceração, lavagem da carcaça anterior ao pré-resfriamento por imersão em água (*chiller*), embalagem e resfriamento (ISOLAN, 2007).

O transporte das aves vivas da granja ao abatedouro é feito em gaiolas que podem estar contaminadas com *Salmonella* quando elas chegam as granjas apesar de terem sido submetidas à lavagem prévia (CORRY *et al.*, 2002). Resíduo de material fecal presente nas gaiolas de transporte tem sido identificados como um fator chave na contaminação das aves, sendo necessárias melhorias no processo de higienização destes containers de transporte (HEYNDRICKX, 2002).

Após a etapa de escaldagem está a etapa de depenagem, que tem por finalidade a remoção das penas das aves. Este procedimento de retirada das penas pode causar a dispersão de material orgânico da superfície da carcaça e disseminação de alguma carga microbiana pelas máquinas de depenagem, contaminando os “dedos” de borracha no interior do equipamento e que ao entrar em contato com outras carcaças pode provocar contaminação cruzada entre as mesmas (MEAD *et al.*, 2010). Somado a isto, as depenadeiras são máquinas de difícil higienização e quando Campbell *et al.* (1984) observaram vários itens deste equipamento antes do início das atividades, *Salmonella* foi isolada dos dispositivos em forma de dedos de borracha que entram em contato direto com as penas removendo as mesmas.

Na etapa de evisceração o cuidado com a manipulação e retirada das vísceras é fundamental para evitar o rompimento das mesmas. E esta etapa considerada uma das que mais pode contribuir para o aumento da prevalência de *Salmonella* (SARLIN *et al.*, 1998).

O pré-resfriamento de carcaças de frango a 4°C ou temperatura mais baixa auxilia a prevenir que a *Salmonella* presente se multiplique. Os métodos mais comumente utilizados para este propósito envolvem a imersão da carcaça em água fria (com ou sem a adição de gelo) ou exposição à ar frio sendo por passagem da carcaça dentro de túnel de ar ou mantendo as carcaças em câmara resfriada. O pré-resfriamento a ar também pode incluir a utilização de *sprays* de água. O sistema de imersão em água de forma contínua tem um efeito de lavagem que reduz a contaminação microbiana (MEAD & THOMAS, 1973; BILGILI *et al.*, 2002).

O acúmulo de bactérias na água do *chiller* é parcialmente controlado pela renovação contínua da água no tanque (MACIEL *et al.*, 2012). Entretanto, devido a grande quantidade de carcaças que adentram no sistema, existem amplas oportunidades para que a contaminação cruzada das mesmas ocorra, sendo que o pré-resfriamento por imersão em água é considerado fator importante na transmissão de *Salmonella* entre lotes de aves (LILLARD, 1990; SARLIN *et al.*, 1998).

Santos *et al.*, (2000) em estudo sobre *Salmonella* em carcaças de frango congeladas relata que o resfriamento não inviabiliza a presença de bactérias do gênero *Salmonella*. Contudo, quando se trata do congelamento espera-se a redução ou ausência de células bacterianas viáveis.

Tessari *et al.*, (2008) reportaram que salmonelas em carne de frango são destruídas mais rapidamente em temperaturas entre -2 e -5°C. Entretanto, a presença de *Salmonella* em amostras de carcaças de frango congeladas obtidas no comércio varejista da Inglaterra, em três estudos citados por Santos *et al.*, (2000) foi de 24,4%, 13,0% e 14,8%. Nos Estados Unidos, Izat *et al.* (1991) obtiveram uma variação de 17 a 50% em três marcas comerciais analisadas; no comércio varejista da Índia foi de 9,2% (Sharma 1992); e no Reino Unido o percentual encontrado foi de 80%.

Em estudos de Dominguez & Schaffner (2009), *Salmonella* pode sobreviver em produtos cárneos de frango mesmo estes sendo mantidos estocados sob temperaturas de congelamento a -20°C. E de acordo com Santos *et al.*,(2000), a carcaça de frango mesmo congelada, pode veicular *Salmonella* para os seres humanos.

2.5 Programa de Redução de Patógenos (PRP) – *Salmonella*

A aplicação de critérios (objetivos de performance) para patógenos alimentares como *Salmonella* em pontos específicos da cadeia alimentar é de grande interesse para se melhorar a segurança alimentar. A Comissão do *Codex Alimentarius* define que o estabelecimento de testes microbiológicos, incluindo os objetivos de performance, ou critérios de performance devem ser de responsabilidade da autoridade competente, em consulta com as partes de interesse, e devem consistir de guias e padrões regulatórios (CODEX ALIMENTARIUS, 2005).

Para estabelecer a prevalência e monitorar a incidência de *Salmonella* spp. de forma a permitir uma melhor eficiência das medidas de controle para atingir um nível adequado de proteção ao consumidor, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) instituiu em 2003 por meio da Instrução Normativa SDA/MAPA n° 70/2003 o Programa de Redução de Patógenos (PRP) Monitoramento Microbiológico e Controle de *Salmonella* spp. em carcaças de frangos e perus aplicado em matadouro-frigoríficos de aves e coelhos sob regime do Sistema de Inspeção Federal (NASCIMENTO, 2012).

Esta Instrução Normativa determina a realização de análises microbiológicas de *Salmonella* spp. em carcaças de aves (frangos e perus) coletadas nos estabelecimentos de abate sob Serviço de Inspeção Federal (SIF) (BRASIL, 2003).

Dentre os objetivos da Instrução Normativa n° 70/2003 está a determinação da prevalência do patógeno *Salmonella* spp em carcaças de aves e a obtenção de dados para orientar estudos e estabelecer procedimentos regulatórios visando o controle sistemático desta bactéria no abate e processamento das carcaças de aves em estabelecimentos sob Inspeção Federal (BRASIL, 2003).

Conforme a Nota Técnica de Divulgação dos resultados de Monitoramento e Controle de *Salmonella* spp (PRP) (BRASIL, 2010) deve-se almejar uma avaliação continuada do Programa de Redução de Patógenos, para adequá-lo às modernas técnicas e procedimentos de inspeção já adotados pelo Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal, tendo sempre como objetivo maior salvaguardar a saúde pública.

2.6 Enumeração de *Salmonella* sp.

A enumeração de bactérias é uma questão importante e com significado crítico para os microbiologistas. Historicamente, muitos métodos de enumeração foram desenvolvidos com diferentes graus de sucesso em sua aplicação (PAVIC, 2010). Cox & Fleet (2003) realizaram uma profunda revisão dos diferentes métodos utilizados para a detecção e enumeração de microrganismos. Esta revisão descreveu as diversas técnicas disponíveis incluindo o método do número mais provável (NMP), que foi largamente estudado e mundialmente aceito (BLODGETT & GARTHRIGHT, 1998).

Entretanto, o método NMP tem sido criticado por ser muito laborioso, com custo alto e demandante de muito tempo de análise laboratorial, além de ser considerado propenso a sofrer erros quando envolve muitos itens amostrados (PAVIC, 2010). Conforme Colla *et al.* (2014), como o método MNP requer a utilização de múltiplos tubos, este não é considerado um método muito prático para análises múltiplas, especialmente quando muitas amostras são simultaneamente analisadas em programas de controle de *Salmonella*.

A busca por uma metodologia adequada e eficiente para identificar e detectar a presença de microrganismos em alimentos tem sido constante. A eleição de determinado método de análise depende de vários fatores que devem ser considerados, como o tempo gasto para obtenção dos resultados, a praticidade da técnica, custos dos reagentes, limites de detecção e quantificação, precisão, sensibilidade, especificidade e acurácia (MATA, 2009).

O método do número mais provável miniaturizado (mNMP) aparece como uma alternativa eficaz, mais prática e com custo reduzido. Tendo sido aplicado, e sua eficiência e validação estudada e reportada por autores como Fravalo (2003), Goodridge *et al.* (2003) e Pavic (2010). Também conforme estudos de Colla *et al.* (2012) a técnica mNMP permite a apropriada quantificação de *Salmonella* para análise de risco.

Machado (2012), afirma que a disponibilidade de uma metodologia oficial para enumeração representa o fator limitante de maior impacto no caso de *Salmonella* spp. Atualmente são poucos os trabalhos publicados que utilizaram análises quantitativas em seus experimentos. Espera-se que esta limitação seja minimizada em médio prazo, visto que tramita em fase final a incorporação na ISO 6579:2002 do método de Número

Mais Provável (NMP) miniaturizado para enumeração de *Salmonella* spp. em alimentos baseado em Fravallo *et al.*, 2003.

A utilização de métodos quantitativos para o controle do nível de contaminação e risco microbiológico observados na cadeia de produção é importante para a determinação dos pontos críticos de contaminação por *Salmonella* em carcaças de frango (COLLA *et al.*, 2012).

2.7 Impacto da avicultura no PIB brasileiro

A cadeia avícola configura-se atualmente como um dos mais importantes alicerces do agronegócio brasileiro. Além da extrema importância para a economia, devido aos bilhões de dólares gerados pela exportação, a cadeia avícola apresenta um componente social muito relevante, ao proporcionar milhares de empregos em todo o país (NASCIMENTO *et al.*, 2012).

No Brasil, a avicultura emprega mais de 3,6 milhões de pessoas, direta e indiretamente, e responde por quase 1,5% do Produto Interno Bruto (PIB) nacional (UBABEF, 2013).

Conforme a Associação Brasileira de Proteína Animal – ABPA, setor é representado por dezenas de milhares de produtores integrados, centenas de empresas beneficiadoras e dezenas de empresas exportadoras (ABPA, 2014).

A importância social da avicultura no Brasil se verifica também pela presença maciça no interior do país, principalmente nos estados do Sul e Sudeste. Em muitas cidades a produção de frangos é a principal atividade econômica.

A produção de carne de frango chegou a 12,30 milhões de toneladas em 2013, garantindo a permanência do país na posição de maior exportador mundial e de terceiro maior produtor de carne de frango, atrás dos Estados Unidos e da China (ABPA, 2014).

Do volume total de frangos produzido pelo país, 68,4% foi destinado ao consumo interno, e 31,6% para exportações. Com isto, o consumo per capita de carne de frango ficou em 41,80 Kg por pessoa. Os embarques de 3.891.721 toneladas em 2013 representaram uma receita cambial acima de US\$ 7 bilhões (ABPA, 2014).

Com esse desempenho, a carne de frango brasileira aumentou ainda mais sua presença na mesa dos consumidores no Brasil e no mundo.

O Rio Grande do Sul é o terceiro maior estado exportador de carne de frango do Brasil, representando o montante de 711.318 toneladas, ficando atrás somente dos

estados do Paraná e de Santa Catarina. O estado possui dezoito matadouro-frigoríficos de aves sob o regime de inspeção federal e todos estes estão habilitados para exportação.

Sendo assim, além das consequências em saúde da população, infecções por *Salmonella* também possuem um importante impacto econômico (COOLARD *et al.*, 2007; WHO, 2007).

2.8 Resolução 04/2012 – Lavagem de carcaças

Um dos métodos empregados para remoção de contaminação fecal em carcaças de frango é o refile, onde é removida a parte contaminada da carcaça, com auxílio de faca. A lavagem é uma prática alternativa ao refile, reduzindo perdas e custos da indústria, pois reduz mão de obra, e não há necessidade do corte da carcaça (BACKES, 2013). A lavagem de carcaças contaminadas com material fecal é uma realidade adotada há muitos anos em outros países, como nos Estados Unidos (FSIS/USDA, 2008) e alguns países da Europa (EFSA, 2010), após a comprovação da sua eficiência na redução de micro-organismos patogênicos (HINTON *et al.*, 2009).

Com o objetivo de elaborar alternativa ao método de remoção de contaminação visual da carcaça de aves, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA, no ano de 2011 editou a Resolução 04/2011 para autorizar o emprego do sistema de lavagem de carcaças no processo de abate de aves para remover a contaminação por conteúdo gastrintestinal visível presente nas superfícies internas e externas das carcaças anterior a etapa de pré-resfriamento (BRASIL, 2011).

A utilização deste sistema pelos matadouro-frigoríficos de aves ficou condicionada à apresentação de protocolo contemplando parâmetros mensuráveis relacionados ao processo de lavagem, de forma a comprovar o atendimento de requisitos que garantam a remoção total da contaminação por conteúdo gastrintestinal visível nas superfícies externas e internas das carcaças durante o processo de abate de aves (BRASIL, 2011).

O emprego deste sistema não pode ser compensatório a execução indevida dos procedimentos sanitários operacionais (PSO's) realizadas por colaboradores ou maquinário responsáveis, que propiciem a ocorrência da contaminação por conteúdo gastrintestinal nas superfícies externas e internas das carcaças de aves anterior a etapa de pré-resfriamento (BRASIL, 2011).

Backes (2013), descreve que a lavagem de carcaças é uma intervenção que colabora com os programas de APPCC, e desta forma, é uma prática que pode ser implementada nos frigoríficos. Em uma revisão sobre lavagem de carcaças realizada por Franchin, Battistella e Vieira (2010), os autores identificaram que o uso da lavagem das carcaças juntamente com as BPF e APPCC resultam em um controle microbiológico mais eficiente.

Os estabelecimentos que almejam utilizar este sistema devem proceder a uma revalidação do plano APPCC, revisando, sempre que necessário, sua análise de perigos, limites críticos, procedimentos de monitoramento e verificação, geração e manutenção de registros e ações preventivas e corretivas no caso da identificação de desvios de processo.

Compete ao Serviço de Inspeção Federal (SIF) autorizar o emprego deste sistema, mediante a comprovação da efetividade do protocolo apresentado pela empresa (BRASIL, 2011).

A literatura brasileira ainda é escassa sobre a eficiência na utilização do processo de lavagem como alternativa ao refilê para redução de contagem microbiana (BACKES, 2013), e mais estudos sobre o tema são necessários para que esta prática seja consolidada (PISSOL *et al.*, 2013).

2.9 Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle

O controle da qualidade de toda a cadeia produtiva do frango tem se aprimorado constantemente, principalmente pela abertura do mercado externo para a carne brasileira, o que influenciou a busca por ferramentas de garantias de processo pelo setor industrial. Neste contexto, o sistema de Análises de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) constitui uma ferramenta importante e passível de ser aplicada no abate de frangos (CATES *et al.*, 2001; RODRIGUES *et al.*, 2008).

O sistema APPCC é recomendado por organismos internacionais como a Organização Mundial do Comércio (OMC), Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO), Organização Mundial de Saúde (OMS) e pelo MERCOSUL, e exigido pela Comunidade Européia e pelos Estados Unidos (CAMARGO e PIEDADE, 2010).

Referente ao abate de aves, e frente às diversas tecnologias aplicadas no seu processamento, o MAPA por meio do Ofício Circular 668 de 19 de setembro de 2006

definiu diretrizes gerais para orientar os estabelecimentos no que tange a aplicação das legislações brasileiras e dos países importadores, como a União Européia, os Estados Unidos e o Canadá em relação ao APPCC, assim como salienta que o plano APPCC deve ser ajustado à realidade de cada estabelecimento e que o controle dos perigos biológicos deve ser planejado para evitar o crescimento de patógenos (BRASIL, 2006). Porém, há a definição de pontos críticos que devem ser adotados por todos os estabelecimentos, independente de sua estrutura de processamento, sendo um paradoxo as orientações iniciais do documento.

A implementação do programa APPCC em plantas processadoras de frango foca agentes zoonóticos que não são detectáveis pela inspeção de carne convencional e pode auxiliar no controle de contaminação de carcaças por estes agentes (Mead, 2004).

Neste ínterim e devido a necessidade de um controle sistemático e aplicável com abordagem em segurança alimentar, o conceito APPCC foi introduzido firmemente na indústria avícola (Mead, 2004). Este programa foi elaborado com o objetivo de controlar perigos, entre os quais, os microbiológicos, principalmente os microrganismos patogênicos ao ser humano, monitorando a sua presença em diferentes etapas do abate, sobretudo nos pontos críticos de controle (HOGUE *et al.*, 1998).

A aplicação do APPCC no processamento de frango tem sido exigida por diversos países inclusive pelos Estados Unidos da América e pela Comunidade Européia (MEAD *et al.*, 2010).

Dos pré-requisitos para a implantação do APPCC, encontram-se as Boas Práticas de Fabricação (BPFs), o Procedimento Padrão de Higiene Operacional (PPHO), que envolve todas as regras de higienização da planta industrial, e o programa de treinamento dos colaboradores da equipe da indústria (MEAD *et al.*, 2010).

Tais programas compõem os planos de autocontrole da empresas em conformidade com as Circulares 175 e 176 do Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal – DIPOA (BRASIL 2005; 2006), e quando bem aplicados pelas indústrias, contribuem na redução e eliminação de microrganismos presentes no processo de abate de aves, em especial os indicadores como aeróbios mesófilos, coliformes totais, *Escherichia coli*, enterobactérias e as espécies patogênicas como *Salmonella* spp. (CAVANI, 2012).

Quando os princípios de BPF e APPCC são aplicados sobre o processamento de frangos, existem dois objetivos necessariamente: limitar a transmissão do microrganismo de uma carcaça previamente contaminada para outra não contaminada,

e reduzir o nível de contaminação de carcaças quando *Salmonella* está presente (CASON & HINTON, 2006).

Os perigos microbiológicos nas operações do processo são bem conhecidos e são geralmente de difícil controle efetivo, devido às limitações tecnológicas do processo que podem levar a contaminação cruzada das carcaças (MEAD, 2004).

Os pontos críticos de controle para perigo biológico (PCCs), estipulados pelo MAPA para o abate de frangos são dois: a etapa de revisão de carcaças, na qual o limite crítico é tolerância zero para a presença de contaminação visível na superfície da carcaça, e a etapa de resfriamento, na qual a carcaça precisa atingir 4 graus em quatro horas (BRASIL, 2006);

Por outro lado, a determinação dos pontos críticos de controle é responsabilidade individual de cada indústria, assim como o número de PCCs e sua localização pode ser diferente entre os diversos estabelecimentos (MEAD *et al.*, 2010).

Sobretudo, o controle efetivo dos patógenos é melhor realizado através da abordagem “da fazenda ao garfo” em todas as etapas da cadeia de produção (MEAD, 2004). E conforme o mesmo autor, a implementação do programa APPCC pode não solucionar por completo o problema, mas tem uma lista de benefícios: o sistema assegura o monitoramento regular do processo como um todo; o controle de higiene é otimizado; há a checagem dos parâmetros e registros dos resultados como parte integral do sistema; o atendimento a legislação é reforçada; há o aumento da consciência em segurança alimentar por parte dos colaboradores; e como um dos resultados da implementação nacional do APPCC, os padrões operacionais entre as indústrias se tornaram mais uniformes.

Para avaliarmos se o plano APPCC está sendo aplicado de maneira a controlar a contaminação por patógenos entéricos, a pesquisa de *Salmonella* spp. é uma das ferramentas recomendadas (USDA, 2013).

2.10 Características de criação e medidas de controle interno nos matadouro-frigoríficos

2.10.1 Características de criação de aves

A produção primária é o mais importante reservatório de entrada do patógeno *Salmonella* spp. na cadeia de frango (EFSA, 2004). Devido a falta de dados, o efeito de

diferentes intervenções na fase criação não foram completamente avaliadas na análise de risco da FAO/WHO (WHO, 2002). Entretanto, a importância da redução de *Salmonella* na produção primária é óbvio.

Para que se tenha um ótimo desempenho do animal, atingindo grandes produtividades, vários parâmetros zootécnicos devem andar aliados. As questões de biossegurança vão desde a criação das aves até o seu abate e processamento. Com isso é necessário conciliar fatores de grande importância como, por exemplo, controle de zoonoses, bioclimatologia e ambiência para aumentar o bem estar animal, manejo racional e de limpeza, desinfecção e vazio sanitário das instalações (OLIVEIRA *et al.*, 2008).

Conforme estes mesmos autores, o vazio sanitário permite a destruição de certos organismos não atingidos pela desinfecção, mas que se tornam sensíveis à ação dos agentes físicos naturais como: aumento da temperatura, ventilação e incidência de sol, permitindo a secagem das instalações. O tempo de vazio sanitário varia com o tipo de criação, status sanitário da propriedade e a programação dos novos lotes.

Os procedimentos de limpeza e desinfecção fazem parte de uma das etapas mais importantes dentro do ciclo de produção, estando presente em todas as fases de criação. De acordo com Gordon e Morishita (2002), a limpeza e desinfecção quando realizadas de maneira eficiente são pontos cruciais para uma boa sanidade, devendo ser adotados como um programa de biosseguridade. Quando realizada em final de ciclo de maneira correta, controla os possíveis problemas e promovem um sucesso na produção (SALDIVAR, 2001; NAMATA, 2009).

Antes do envio das aves para o abatedouro, o jejum alimentar é feito por um período de 8 a 12 horas com o objetivo de reduzir a presença de ingesta no trato alimentar. Esta prática facilita a evisceração, reduz a carga microbiana a adentrar no abatedouro, e reduz a contaminação das gaiolas utilizadas durante o transporte das aves. Já o jejum prolongado, acima de 12 horas, não é recomendado pois enfraquece a parede do intestino (WARRIS *et al.*, 2004).

O tempo de espera no abatedouro também deve ser controlado, sendo que não deve ser superior a duas horas, porém nem sempre as integradoras conseguem cumprir esse tempo, devido ao excesso de caminhões na espera para o abate e, em decorrência de quebras nos equipamentos do frigorífico (BRANCO, 2004).

As gaiolas de transporte são contaminadas pelas fezes durante sua utilização como contentor das aves vivas e os métodos de lavagem e desinfecção destas gaiolas

devem ser bem realizados para garantir a eliminação das bactérias possivelmente presentes, inclusive *Salmonella* spp. (BAILEY *et al.*, 2001; CORRY *et al.*, 2002; HUMPREY e ALLEN, 2002).

De acordo com os autores Cui *et al.*(2005) e Arsenault (2007), características como idade das aves, tamanho do lote e estação do ano são consideradas como fatores de risco no manejo do lote.

2.10.2 Características dos matadouro-frigoríficos de aves e medidas de controle

Todos os matadouro-frigoríficos de aves registrados no Serviço de Inspeção Federal do Brasil seguem as diretrizes da Portaria 210 de 1998 (BRASIL, 1998), e seguem o seguinte fluxo de processamento: Pendura; Insensibilização; Sangria; Escaldagem; Depenagem; Lavagem inicial; Eventração; Inspeção sanitária oficial; Evisceração (Retirada da vísceras comestíveis e não comestíveis); Revisão de carcaça; Lavagem Final; Pré-resfriamento; Gotejamento; Embalagem; Resfriamento.

Durante o abate e processamento, certas etapas como escaldagem, depenagem, evisceração e pré-resfriamento das carcaças tem sido reconhecidos como etapas para a ocorrência de contaminação cruzada (JAMES *et al.*, 1992; ONO e YAMAMOTO, 1999).

Considerando a natureza do processo como um todo, a contaminação cruzada de carcaças é praticamente inevitável, mas pode ser minimizada por meio da aplicação de medidas de controle, como a aferição de temperaturas de processo, e utilização de tanques de escaldagem com mais de um estágio e com fluxo contra corrente (CASON & HINTON, 2006).

Para os matadouro-frigoríficos de aves registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento do Brasil, sob o Serviço de Inspeção Federal, os controles a serem aplicados e verificados constam na Portaria 210 do MAPA de 1998 (BRASIL, 1998).

Os parâmetros definidos pela Portaria 210 são a vazão de água utilizada para a lavagem final das carcaças após a evisceração que deve ser de no mínimo 1,5 litros por carcaça; a renovação de água dos pré-resfriadores contínuos deve ser de no mínimo 1,5 litros por carcaça no primeiro estágio e 1,0 litro no último estágio; a temperatura da água residente, medida nos pontos de entrada e saída das carcaças do sistema de pré-resfriamento por imersão não deve ser superior a 16°C e 4°C, respectivamente, no

primeiro e último estágio, observando-se o tempo máximo de permanência das carcaças no primeiro, de trinta minutos (BRASIL, 1998). E a cloração de água utilizada que deve ser de no máximo 2 ppm na rede de abastecimento e de até 5 ppm no *chiller*.

Somado a esta legislação, as Circulares 175 e 176 DIPOA/SDA/MAPA de 2005, implantaram o sistema de inspeção baseado em autocontrole, na qual define dezoito elementos de inspeção a serem aplicados, monitorados e verificados pela empresa fiscalizada, incluindo o programa PPHO que foca a higienização de todos os equipamentos e instalações do processamento do frango (BRASIL, 2005).

Além dos parâmetros definidos pela legislação, outros fatores aparecem como passíveis de influenciar a presença ou ausência de *Salmonella*, assim como intervir no controle dos mesmos. Em estudo de Franz *et al.* (2012) os autores apontam que as características do abatedouro influenciam na prevalência estimada do patógeno.

Conforme a FAO/WHO (FAO/WHO 2002), a prevalência do patógeno *Salmonella* pode variar durante o transporte e processamento das aves, dependendo da natureza das práticas de manipulação e temperaturas. Somado a isto, é provável que haja uma enorme quantidade de incerteza sobre esta prevalência associada com cada etapa do abate. Desta forma, dados qualitativos e quantitativos auxiliariam para caracterizar cada uma destas etapas.

O ponto de coleta de amostras de carcaças de frango mais comum é após a saída do pré-resfriador (*chiller*). Amostras coletadas imediatamente após a depenadeira são utilizadas para determinar a extensão da redução microbiana derivada das intervenções nas etapas seguintes. A coleta realizada em etapas do processo anterior ao *chiller* é recomendada quando há necessidade de investigar pontos da linha de processamento do abate de aves que podem estar interferindo na contaminação das carcaças (Cox *et al.*, 2010).

3. CAPÍTULO I

Fatores de criação de frangos de corte e características de matadouros-frigoríficos e suas ações sobre a presença de *Salmonella* spp. em diferentes etapas do processamento e avaliação dos pontos críticos de controle.

Fatores de criação de frangos de corte e características de matadouro-frigoríficos e suas ações sobre a presença de *Salmonella* spp. em diferentes etapas do processamento e avaliação dos pontos críticos de controle.

Resumo

A cadeia avícola brasileira compreende diversas etapas desde a criação até o processamento de abate das aves. Todas estas etapas são complexas e demandam ações técnicas específicas para garantir a saúde das aves e dos seus produtos cárneos. A *Salmonella* aparece como o patógeno de maior importância em relação à saúde pública vinculado por produtos avícolas e deve ser controlado em todas as etapas de criação das aves e seu abate. O objetivo deste estudo foi identificar as características de criação e de matadouro-frigoríficos que atuam sobre a detecção e quantificação deste patógeno em diferentes etapas do processamento. Foram coletadas 1071 amostras durante o período experimental, e analisadas por dois métodos diferentes para isolamento de *Salmonella* spp., convencional e mNMP. A prevalência obtida de *Salmonella* spp. sobre o total de amostras analisadas foi de 1,02% (11/1071). Os isolados ocorreram nos seguintes pontos: *swabs* de cloaca; esponja das gaiolas de transporte após lavagem; carcaça após a depenagem; carcaça após a lavagem, antes do pré-resfriamento; frangos após a primeira lavagem; carcaça após a evisceração, antes da lavagem final; carcaça após o pré-resfriamento; carcaça com 24 horas de congelamento; carcaça com 60 dias de congelamento. Dentre os fatores estudados apenas o tempo de vazio sanitário apresentou correlação estatisticamente significativa ($p=0,036$), inversa e moderada entre esta variável e o número de lotes positivos para *Salmonella*.

Abstract

The Brazilian poultry chain comprises several stages from creation to the slaughter and poultry processing. All these steps are complex and require specific technical actions to ensure the health of poultry and their meat products. Salmonella appears as the most important pathogen in relation to public health transmitted by poultry products and have to be controlled at all stages of creation and slaughter. The objective of this study was to identify the characteristics of breeding and

slaughterhouses that act on the detection and quantification of this pathogen at different stages of processing. 1071 samples were collected, and analyzed by two different methods for Salmonella isolation, conventional and mNMP. The total prevalence of Salmonella spp. was 1.02% (11/1071). Isolates were from: cloaca swabs ; transport cages after washing ; carcass after plucking ; carcass after washing before the pre-chilling ; chickens after first wash ; carcass after evisceration , before the final wash ; carcass after pre-chilling ; frozen carcass after 24 hours ; frozen carcass with 60 days freezing . Among the factors studied only the sanitary break period showed a statistically significant correlation ($p= 0.036$), inverse and moderate between this variable and the number of positive flocks for Salmonella.

Introdução

No Brasil, a avicultura emprega mais de 3,6 milhões de pessoas, direta e indiretamente, e responde por quase 1,5% do Produto Interno Bruto (PIB) nacional (UBABEF, 2013).

Estudos feitos pela União Brasileira de Exportadores de Frango (ABPA, 2014) indicam que a produção brasileira de carne de frango em 2013 chegou a 12,30 milhões de toneladas.

Com este desempenho o Brasil aparece como o terceiro maior produtor de frango de corte e primeiro maior exportador deste produto e se aproxima da China, hoje o segundo maior produtor mundial, cuja produção de 2013 teria somado 13,5 milhões de toneladas, abaixo apenas dos Estados Unidos, com 16,95 milhões de toneladas, conforme projeções do Departamento de Agricultura dos EUA-USDA (ABPA, 2014).

A produção industrial de animais e de alimentos de origem animal e o intercâmbio comercial intenso de animais e produtos derivados para o consumo humano tem favorecido a introdução e a disseminação de patógenos na cadeia alimentar (WHO, 2007).

Neste contexto, o risco da disseminação das doenças transmitidas por alimentos está vinculado a diversas razões, sejam pela adaptação microbiana, mudanças nos sistemas de produção de alimentos, hábitos alimentares da população, mudanças na criação de animais, processos produtivos e tecnologia de alimentos, globalização no comércio internacional, aumento das populações susceptíveis e demanda dos consumidores (CAC, 2007).

Bactérias do gênero *Salmonella* aparecem como um dos mais importantes patógenos mundialmente distribuídos, associado à carne de frango e de seus produtos derivados, sendo fundamental o controle deste patógeno na avicultura (POPPE, 2000).

Segundo Hans (2008), estes sistemas de controle visam abranger toda a cadeia produtiva, minimizando significativamente os riscos para o consumidor final. E para que seja efetivo, deve ser empregado método de análise de alimentos que sejam realmente eficientes.

Considerando que o abate consiste de uma linha na qual as carcaças são submetidas a vários processos onde pode haver o aumento ou redução da contaminação por *Salmonella* nas carcaças, a quantificação do patógeno nas amostras isoladas tem especial valor na análise de risco destas etapas (EFSA, 2010).

Referente à contaminação de carcaças de frango, Habib *et al.* (2012) relataram que o nível de contaminação do produto final está relacionado com características de cada planta frigorífica, processos tecnológicos empregados, gestão de qualidade e o padrão de higiene operacional mínimo das operações do abate, o que corrobora com a necessidade de avaliar os diversos sistemas de abate para empregar trabalhos específicos para cada situação. Marin *et al.* (2011) afirma que a prevenção da contaminação por *Salmonella* em frangos requer detalhado conhecimento dos fatores de risco associados com sua presença na cadeia produtiva.

O estudo e desenvolvimento de programas com medidas de controle de *Salmonella*, embasados no conhecimento da sua prevalência e seu comportamento quantitativo durante o processamento de abate de frangos de corte tem como objetivo melhorar o nível de segurança alimentar e fornecer subsídios para a análise de risco, ferramenta fundamental para auxiliar o delineamento de programas oficiais de controle deste patógeno. A competência para a determinação das metas de saúde pública e inocuidade é de responsabilidade do governo, devendo ser baseadas invariavelmente em ciência e considerar a realidade do país, sendo o impacto econômico e social elementos de relevante importância (ICMSF, 2006).

Este estudo teve por objetivo a avaliação das características de criação e de matadouro-frigoríficos e suas influências na detecção e quantificação de *Salmonella* spp. em diferentes etapas da linha de processamento de frangos de corte na região sul do Brasil.

Material e Métodos

Entre o período de janeiro de 2011 e janeiro de 2013 foram coletadas amostras de carcaças e *swabs* de frango de 21 lotes abatidos em sete matadouro-frigoríficos (três lotes por matadouro) sob Inspeção Federal localizados na região sul do Brasil. Para cada lote de aves avaliado foram coletadas amostras analíticas em 17 pontos, os quais representam diferentes etapas do fluxograma de abate de frangos de corte, em triplicata, sendo 51 amostras distintas por lote. Deste modo, como foram realizadas 21 coletas de 51 amostras, o total coletado foi de 1071 amostras durante o período experimental, analisadas por dois métodos diferentes para isolamento de *Salmonella* spp., convencional e mNMP, totalizando 2142 ensaios microbiológicos.

Os pontos determinados para coleta foram: *swabs* de cloaca; *swabs* das gaiolas antes da higienização; *swabs* das gaiolas após a higienização; frangos antes da escaldagem; frangos após a escaldagem; água da escaldagem; carcaça após a depenagem, antes da lavagem inicial; carcaça após a lavagem inicial; carcaça após evisceração, antes da lavagem final; carcaça após a lavagem final; água de abastecimento do *chiller*; água do pré-*chiller* e *chiller*; carcaça resfriada; carcaça congelada durante 24 horas; carcaça congelada durante 30 dias; carcaça congelada durante 60 dias.

As amostras coletadas foram acondicionadas em gelo reciclável e caixa isotérmica e processadas no Laboratório de Bacteriologia Veterinária da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Passo Fundo - UPF (RS).

Os isolados compatíveis com *Salmonella* foram tipificados pela técnica Microarray (Checktrace).

As amostras de *swabs* de cloaca constituíram-se de um *pool* de 50 *swabs* utilizados para amostrar 100 aves. A coleta foi realizada introduzindo o *swab* na cloaca da ave e posteriormente realizando movimentos giratórios no sentido horário. Foi utilizado um *swab* para cada duas aves. Após a coleta, os *swabs* foram acondicionados em frasco estéril contendo 50 mL de água peptonada 1% (*Buffered Peptone Water* 1,0%, HIMEDIA[®]) e transportadas sob refrigeração até o laboratório.

No laboratório cada *pool* passou por processo de homogeneização manual. Com o uso de pipeta de vidro estéril, do conteúdo do frasco de cada *pool*, foi recolhida uma alíquota de 17,5 mL e acondicionada em tubo de vidro estéril, sendo que deste volume

7,5 mL foi destinado à técnica de quantificação de *Salmonella* e os 10 mL restantes foram destinados ao método qualitativo tradicional de isolamento de *Salmonella*.

Para o processamento de *swabs* de gaiolas, as amostras foram coletadas com o uso de esponjas bacteriológicas e posterior adição de 50 mL de água peptonada 1,0%, e homogeneização manual.

Com o uso de pipeta de vidro estéril, do conteúdo do frasco de cada pool, foi recolhida uma alíquota de 17,5 mL e acondicionada em tubo de vidro estéril, sendo que deste volume 7,5 mL foi destinado à técnica de quantificação de *Salmonella* e os 10 mL restantes foram destinados ao método qualitativo tradicional de isolamento de *Salmonella*.

Cada amostra de água foi constituída de 100 mL, coletados de cada ponto amostrado e acondicionados em frascos plásticos estéreis contendo Tiosulfato de Sódio e transportadas em caixas isotérmicas e sob refrigeração. No Laboratório foi realizado o preparo da amostra para o pré-enriquecimento da seguinte forma: em um frasco estéril com tampa rosca, contendo 50 mL de água peptonada concentração tripla foi adicionada de forma asséptica, próximo a chama do bico de Bunsen, 100 mL da amostra, homogeneizando em seguida. Com o uso de pipeta de vidro estéril, do conteúdo do frasco de cada amostra, foi recolhida uma alíquota de 17,5 mL e acondicionada em tubo de vidro estéril, sendo que deste volume 7,5 mL foi destinado à técnica de quantificação de *Salmonella* e os 10 mL restantes foram destinados ao método qualitativo tradicional de isolamento de *Salmonella*.

As carcaças coletadas foram acondicionadas em embalagens plásticas estéreis, transportadas até o local de processamento em caixas isotérmicas, sob refrigeração. No laboratório, próximo a chama do bico de Bunsen, as embalagens contendo as carcaças foram abertas e foi realizada em cada carcaça a adição de 400 mL de água peptonada 1%, após foi realizada a rinsagem da amostra, pelo método de agitação e massagem manual pelo tempo de 2 minutos.

Após a rinsagem, com o uso de pipeta de vidro estéril, do conteúdo do frasco de cada pool, foi recolhida uma alíquota de 17,5 mL e acondicionada em tubo de vidro estéril, sendo que deste volume 7,5 mL foi destinado à técnica de quantificação de *Salmonella* e os 10 mL restantes foram destinados ao método qualitativo tradicional de isolamento de *Salmonella*.

Pesquisa de *Salmonella* spp. A metodologia de análise da presença de *Salmonella* spp. adotada para este trabalho foi com base na ISO 6579: 2002 (ANNEX D). Esta consta de uma etapa de pré-enriquecimento, seguida do enriquecimento seletivo e do isolamento das colônias em meio sólido seletivo.

A quantidade utilizada e a concentração variaram de acordo com cada categoria amostral. Para pools de *swabs* foram utilizados 50 mL de água peptonada 1,0% em cada pool; esponjas bacteriológicas foram utilizadas 50 mL de água peptonada 1,0% em cada esponja; amostras de água foram pré-enriquecidas com 50 mL de água peptonada em concentração tripla; carcaças foram pré-enriquecidas com 400 mL de água peptonada 1,0%.

Após o preparo das amostras para o pré-enriquecimento, foi retirada uma alíquota de 10 mL, acondicionada em tubos de vidro estéril, com tampa rosca. Após, o material foi incubado em estufa bacteriológica durante 16-20 horas a 37°C.

Após a incubação das amostras para o pré-enriquecimento, cada amostra foi repicada nos caldos seletivos, sendo 100 µL da amostra inoculados em tubo contendo 9,9 mL de caldo Rappaport Vassiliadis, e 1mL em cada tubo contendo 9 mL de caldo tetratonato e incubados durante 18-24 h em estufa bacteriológica a 42°C.

Após o enriquecimento seletivo das amostras foi realizado o plaqueamento das mesmas em agar Rambach (Merck®) e em Agar BGN (*Brilhant Green Novobiocina-DIFCO*®) suplementado com novobiocina. A semeadura das amostras nos meios sólidos foi realizado através da técnica por esgotamento. Em seguida, as placas foram incubadas por 18-24h em estufa bacteriológica a 37°C. Após o período de incubação foi realizada a seleção das colônias compatíveis e estas foram isoladas em agar Rambach, incubadas em estufa bacteriológica durante 18-24 h, a 37°C, para a obtenção de uma cultura pura.

As colônias típicas e suspeitas de *Salmonella* spp. foram avaliadas ainda através de suas características morfológicas e bioquímicas para comprovação do agente. Foram utilizadas a provas bioquímicas: TSI (*Triple Sugar Iron*), LIA (*Lysine Iron Agar*), SIM (*Sulfide- Indole- Motility*) e caldo ureia. Nas colônias que apresentaram perfil bioquímico compatível foi realizada sorologia com soro polivalente anti-O para *Salmonella*. Quando positivas, as amostras foram tipificadas pela técnica Microarray (Checktrace).

Quantificação de *Salmonella* spp. pelo método mNMP. Após o preparo das amostras para o pré-enriquecimento, foram transferidos 17,5 mL para tubo estéril, deste volume 7,5 mL foram destinados a técnica de quantificação por número mais provável miniaturizado (FRAVALO *et al.*, 2003). Com o auxílio de um pipetador foram transferidos 2,5mL para cada uma das três primeiras cavidades na primeira linha de uma microplaca de cultivo celular, sendo que destes 0,5 mL de cada cavidade foram transferidos para 2 mL de água peptonada 1,0%, previamente vertidos nas cavidades das linhas seguintes na mesma microplaca. Três diluições sucessivas foram realizadas da mesma maneira. A microplaca foi incubada para o pré-enriquecimento durante 16-20 h a 37°C. Após, as microplacas foram mantidas em agitação orbital por 3-5 minutos e, com o uso de pipetador multicanal, foram transferidos 20µL de cada poço para a cavidade correspondente em outra microplaca contendo 2mL de Rapaport Vassiliadis Semi Sólido (MSRV- *Rappaport-Vassiliadis Semisolid Modified*) em cada cavidade, incubando-se 24-48 h/42°C.

As cavidades onde foi observado viragem de cor do MSRV foram consideradas como crescimento positivo e foram confirmadas através da sementeira do conteúdo dos poços positivos em agar Rambach[®], incubadas em estufa bacteriológica durante 18-24 h, a 37°C, para a obtenção de uma cultura pura. As placas que apresentaram crescimento de colônias sugestivas de *Salmonella* foram confirmadas através das provas bioquímicas nos meios TSI (*Triple Sugar Iron*), LIA (*Lysine Iron Agar*), SIM (*Sulfide- Indole- Motility*) e caldo ureia e posteriormente sorologia com soro polivalente anti-O para *Salmonella*. Quando positivas, as amostras foram submetidas à tipificação.

Para cálculo de diluições seriadas não decimais foi utilizada uma fórmula simplificada de cálculo do número mais provável (NMP) de acordo com Thomas (1942): $NMP / g \text{ ou mL} = P / \sqrt{NT}$.

Sendo “P” o número de tubos positivos, “N” a soma da quantidade de amostra inoculada em todos os tubos negativos e “T” a soma da quantidade de amostra inoculada em todos os tubos. A aplicação desta fórmula foi comparada com os resultados obtidos através do MPN *calculator* (Cariale, sem data), programa que possibilita o cálculo dos resultados padronizados pelo volume de amostra por teste, número de tubos e mais de 3 diluições. Foi calculado o NMP por mL e os limites mínimos e máximos do intervalo de confiança a 95% de probabilidade (IC 95%).

Deste modo, foi utilizado o MPN *calculator* para finalizar os cálculos das combinações de tubos obtidas neste experimento, com combinação de tubos positivos em séries de 3 tubos, com quantidade inoculada de amostra de 1; 0,5; 0,1 e 0,02 mL em quatro diluições.

Coleta de dados do matadouro-frigorífico. No momento da coleta de amostras respectivas a cada lote, foram simultaneamente aferidos e registrados os seguintes fatores e características do processamento de cada abatedouro estudado e suas práticas de criação: Temperatura, pH e cloro da água de escaldagem, da água do pré-*chiller*, e *chiller*; estação do ano; tempo de dieta hídrica das aves; tempo entre a apanha e o abate; idade das aves ao abate; número de aves abatidas no dia; velocidade de abate; número de lotes alojados na mesma cama do aviário; tempo de vazão sanitário; densidade de criação (aves/m²); se o estabelecimento é habilitado para exportação com requisitos específicos; se o estabelecimento possui tendência de desvios no seu plano APPCC; se o estabelecimento possui tendência de desvios no seu plano PPHO; tipo de evisceração (manual/automática).

Análise estatística. Foram digitados os dados no programa Excel e posteriormente exportados para o programa SPSS versão 18.0 (SPSS, 2009) para análise estatística. Foram descritas as variáveis quantitativas pela mediana, o mínimo e o máximo. Para correlacionar variáveis quantitativas entre si foi utilizado o coeficiente de correlação de Spearman. Para comparar as variáveis quantitativas entre fatores com três ou mais categorias foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis e entre fatores com duas categorias pelo teste de Mann-Whitney. Para realizar a análise multivariável foi dicotomizada a variável número de lotes positivos assim como os fatores. Estes foram divididos em abaixo e acima da mediana para cada fator. Foi realizada a análise de Regressão de Poisson com Variância Robusta para estimar os valores das Razões de prevalência e os seus respectivos intervalos de confiança de 95% assim como para ajuste para potenciais fatores de confusão. Foi considerado um nível de significância de 5% para todas as comparações realizadas.

Resultados e Discussão

Identificou-se *Salmonella* spp. em 57,1% dos matadouro-frigoríficos amostrados, ou seja, em quatro dos sete estabelecimentos obteve-se pelo menos um resultado positivo para o patógeno pesquisado. Foram isoladas 12 amostras de *Salmonella* spp. nos seguintes pontos: *swabs* de cloaca; esponja das gaiolas de transporte após lavagem; carcaça após a depenagem; carcaça após a lavagem, antes do pré-resfriamento; frangos após a primeira lavagem; carcaça após a evisceração, antes da lavagem final; carcaça após o pré-resfriamento; carcaça com 24 horas de congelamento; carcaça com 60 dias de congelamento.

No método quantitativo, o número mais provável miniaturizado (mNMP), possibilitou a quantificação e o isolamento de *Salmonella* em quatro amostras. Contudo, não foi possível realizar uma correlação entre os dois métodos, pois em apenas uma das amostras, um pool de *swabs* de cloaca na coleta 1 do abatedouro B, foi isolado *Salmonella* através dos métodos convencional e mNMP. Entretanto, constatou-se que um número maior de isolados foi obtido a partir do método convencional. Os pontos de amostragem, a técnica de isolamento e os sorovares identificados (*Salmonella* Anatum, *S. Agona*, *S. Bredeney*, *S. Brandenburg*, *S. Infantis*, *S. Schwarzengrund* e *S. Tennessee*) estão descritos na Tabela 1.

Tabela 1 - Sorovares detectados conforme a técnica de isolamento, ponto amostrado e abatedouro.

Abatedouro	Coleta	Resultado Swab a campo	Ponto de amostragem Positivado	Técnica de Isolamento	Sorovar
B	1	Negativo	<i>Swabs</i> de cloaca	Convencional	<i>S. Anatum</i> ¹
B	1	Negativo	<i>Swabs</i> de cloaca	NMP	<i>S. Anatum</i> ¹
B	1	Negativo	Carcaça após a depenagem	Convencional	<i>S. Brandenburg</i>
B	1	Negativo	Carcaça após a lavagem, antes do pré-resfriamento	Convencional	<i>S. Brandenburg</i>
E	3	Negativo	Esponja das gaiolas de transporte após lavagem	NMP	<i>Salmonella Agona</i> .
F	1	Negativo	Carcaça com 24 horas de congelamento	Convencional	<i>S. Tennessee</i>
G	1	Negativo	<i>Swabs</i> de cloaca	NMP	<i>Salmonella Bredney</i> e <i>Schwarzengrund</i> .
G	1	Negativo	Frangos após a primeira lavagem	Convencional	<i>Salmonella</i> sp.
G	1	Negativo	Carcaça após a evisceração, antes da lavagem final	Convencional	<i>Salmonella Bredney</i> .
G	1	Negativo	Carcaça após o pré-resfriamento	NMP	<i>Salmonella</i> sp.
G	2	Negativo	Esponja das gaiolas de transporte após lavagem	Convencional	<i>Salmonella Infantis</i> .
G	3	Negativo	Carcaça com 60 dias de congelamento	Convencional	<i>Salmonella</i> 1,4[5],12.

¹: Amostras de *Salmonella* Anatum, isoladas a partir do mesmo pool de *swabs* de cloaca, provenientes de técnicas de isolamento diferentes, convencional e NMP;

Analisando a Tabela 1, podemos observar que os matadouro-frigoríficos B, E, F e G foram positivos, ou seja, 4 dos 7 (57,1%) matadouro-frigoríficos coletados tiveram amostras positivas para *Salmonella* spp., com maior número de isolados no abatedouro G.

No abatedouro B, além do isolamento de *Salmonella* a partir dos *swabs* de carcaça, também houve isolamento a partir da carcaça após a depenagem e após a lavagem antes do pré-resfriamento. Estes resultados reforçam o apontado por Mead *et al.*(2010), os quais apontam as etapas de depenagem e evisceração como duas das etapas que oferecem risco de contaminação de carcaças.

Conforme dados obtidos no Global Foodborne Infections Network (GFN) Country Databank (WHO, 2013), pode-se verificar o relato da presença dos sorovares isolados em diferentes países e tipos de amostras. A *S. Tennessee* não está entre os principais sorovares associados a surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTAs), não havendo notificações pela GFN de isolamentos em humanos na América, apesar de haver dados de isolamento de humanos provenientes da Europa e do Japão. No Brasil, dados da GFN relatam isolamento de *S. Tennessee* de alimentos, sendo 203 amostras isoladas em 2002, 2007 e 2008. A *S. Brandenburg* tem relatos de isolamento no Brasil em humanos, com 3 isolados em 2004, mas não foi encontrada em amostras de alimentos ou animais.

A *S. Bredeney* não tem registro de isolamento em humanos no Brasil, já em alimentos, no ano de 2010 foram 114 isolados. Já a *S. Schwarzengrund* aparece com 163 isolados em alimentos e 12 isolados em humanos no ano de 2012 (WHO, 2013).

Em relação a *S. Anatum* no Brasil, em humanos já houve isolamento de 33 amostras, com 2 isolados em 2001, 8 em 2004, 15 em 2005, 2 em 2006 e 6 em 2007, em alimentos teve 456 isolados, sendo 28 em 2001, 32 em 2004, 36 em 2005, 53 em 2007, 171 em 2009 e 136 em 2010, e em animais com 437 amostras, com 21 isolados em 2001, 24 em 2003, 20 em 2004, 57 em 2005, 83 em 2006, 92 em 2007, 49 em 2008, 53 em 2009, 38 em 2010 (WHO, 2013).

Dentre os sorovares isolados neste estudo, a *S. Infantis* e *S. Agona* são as que aparecem com maior número de isolamentos em humanos, sendo que no ano de 2005 foram 129 isolados de *S. Agona*, e em 2012, 24 de *S. Infantis*. Já em alimentos, foram 62 isolados de *S. Agona* em 2012 e de 189 de *S. Infantis* no mesmo ano (WHO, 2013).

Considerando que, a partir de uma única unidade amostral, o *pool* de *swabs* de cloaca na coleta 1 do abatedouro B, houve o isolamento de *Salmonella* pelos dois

métodos utilizados, convencionamos que nosso total de amostras positivas foram 11, por haver este duplo isolamento de uma só amostra. Deste modo, a prevalência obtida de *Salmonella* spp. sobre o total de amostras analisadas foi de 1,02% (11/1071). Avaliando a prevalência frente aos métodos utilizados, obteve-se 0,37% (4/1071) de *Salmonella* spp através do mNMP e 0,74% (8/1071) de isolados utilizando o método convencional.

Foi possível realizar a quantificação *Salmonella* spp. em quatro amostras analisadas. Os resultados obtidos estão descritos na Tabela 2.

Tabela 2: Quantificação obtida através do método NMP miniaturizado.

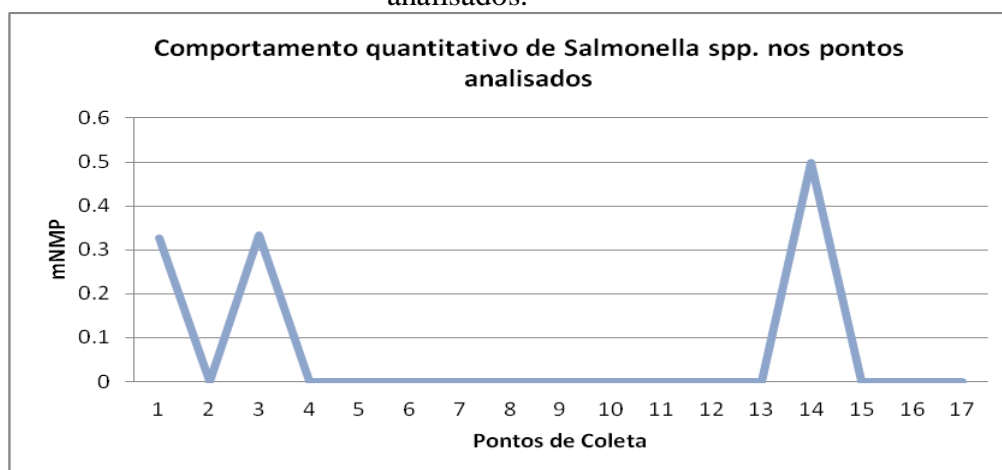
Abatedouro/Coleta	Ponto de amostragem	Resultados	Unidade	Sorovar
B/1	Swabs de cloaca	0,36	NMP/MI	S. Anatum
E/3	Esponja das gaiolas de transporte após lavagem	1,005 ¹	NMP/cm ²	S. Agona.
G/1	Swabs de cloaca	1,6	NMP/mL	S. Bredney e Schwarzengrund
G/1	Carcaça após o pré-resfriamento	1,5 ²	NMP/g	<i>Salmonella</i> sp.

¹: Resultado obtido através do cálculo pela área amostrada, NMP original pela combinação de poços: 0,13 NMP/mL

²: Resultado obtido através do cálculo pelo peso da carcaça, NMP original pela combinação de poços: 0,26 NMP/mL

Avaliando os diferentes pontos de coleta, foi possível quantificar *Salmonella* spp. em dois *pools* de *swabs* de cloaca, em uma esponja das gaiolas de transporte após a lavagem e em uma carcaça após o pré-resfriamento (Figura 1).

Figura 1. Comportamento quantitativo de *Salmonella* spp. nos pontos analisados.



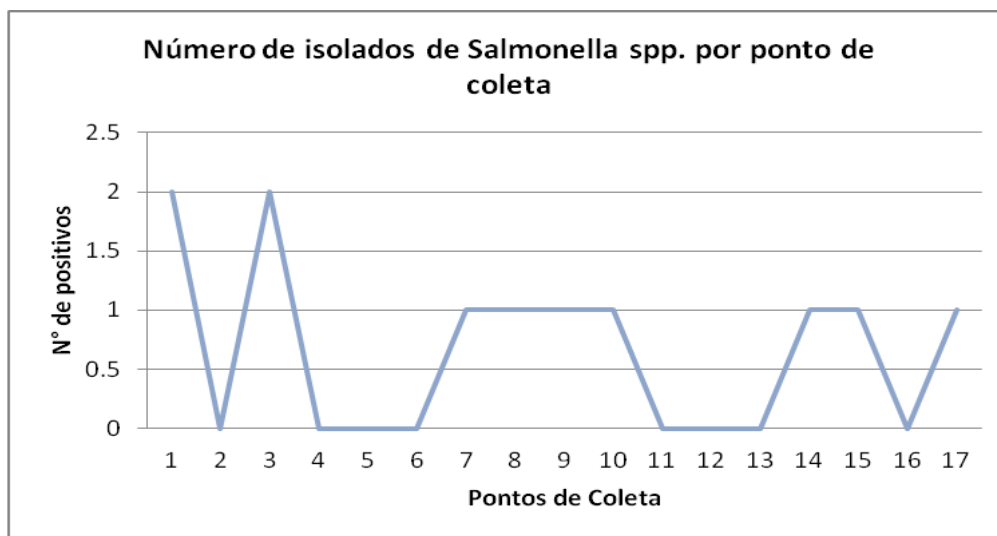
Legenda - 1. *Swab* de cloaca; 2. Esponja das gaiolas de transporte antes lavagem; 3. Esponja das gaiolas de transporte após lavagem; 4. Carcaças antes da escaldagem; 5. Água Escaldagem; 6. Carcaças após a escaldagem; 7. Carcaças após a depenagem; 8. Carcaças após a 1ª lavagem; 9. Carcaças após a evisceração, antes da lavagem final; 10. Carcaças após a lavagem, antes do pré-resfriamento; 11. Água do abastecimento; 12. Água Pré-chiller; 13. Água Chiller; 14. Carcaças após o pré-resfriamento; 15. Carcaças congeladas -12°C 24h; 16. Carcaças congeladas -12°C 30 dias; 17. Carcaças congeladas -12°C 60 dias.

Para realização do gráfico da Figura 1 foi realizada a média, e convencionou-se a divisão dos resultados obtidos no mNMP por três, que foi o número de amostras coletas por ponto. Para o ponto *swab* de cloaca, onde se obteve dois resultados de mNMP, após a realização da média pelo número das amostras foi feita a média do ponto de coleta, somando os resultados e dividindo por dois.

Os resultados obtidos mostram a necessidade de se utilizar simultaneamente um método de isolamento qualitativo em complementação a um método quantitativo, visto que, quando este patógeno estiver presente em quantidade inferior a 0,13 NMP/g ou mL, o método qualitativo convencional demonstrou-se mais eficaz para a detecção de *Salmonella* spp.

Na Figura 2 podemos observar que as etapas onde houve presença de *Salmonella* variaram entre os matadouro-frigoríficos, sendo que apenas em dois deles houve a detecção no mesmo ponto, no *swab* de cloaca e nas gaiolas de transporte das aves.

Figura 2. Número de isolados de *Salmonella* spp. por ponto de coleta.



Legenda - 1. *Swab* de cloaca; 2. Esponja das gaiolas de transporte antes lavagem; 3. Esponja das gaiolas de transporte após lavagem; 4. Carcaças antes da escaldagem; 5. Água Escaldagem; 6. Carcaças após a escaldagem; 7. Carcaças após a depenagem; 8. Carcaças após a 1ª lavagem; 9. Carcaças após a evisceração, antes da lavagem final; 10. Carcaças após a lavagem, antes do pré-resfriamento; 11. Água do abastecimento; 12. Água Pré-chiller; 13. Água Chiller; 14. Carcaças após o pré-resfriamento; 15. Carcaças congeladas -12°C 24h; 16. Carcaças congeladas -12°C 30 dias; 17. Carcaças congeladas -12°C 60 dias.

Esta observação vem de encontro com a avaliação de risco de *Salmonella* em frangos de corte editada pela FAO/WHO (FAO/WHO, 2002) que descreve cada etapa do processamento de aves pode aumentar ou diminuir a prevalência de *Salmonella* na carcaça de frango, sendo provável que cada etapa do abate seja similar em todas as

regiões do mundo, porém a mudança na carga microbiana de cada etapa pode diferir, dependendo dos equipamentos, tecnologias e práticas de higiene empregadas.

A diferença nos resultados quanto ao isolamento de *Salmonella* spp. nas diversas etapas do processamento de aves nos estabelecimentos estudados, assim como apontado pelos autores Von Ruckert *et al.* (2009), deve-se também há possível variação de padrões de higiene entre os diferentes matadouro-frigoríficos de aves.

Referente aos parâmetros temperaturas, pH e cloro da água de escaldagem, tanque de pré-*chiller* e *chiller*, todos estes foram aferidos e estiveram dentro do padrão preconizado pela legislação conforme a Portaria 210 do MAPA (Brasil, 1998), sem diferença estatisticamente significativa entre os matadouro-frigoríficos amostrados.

Conforme preconizado pela legislação, a água utilizada no processamento de aves não pode ser hiperclorada, com exceção da água dos tanques de pré-resfriamento que tem como limite 5 ppm de cloro (BRASIL, 1998). Já a temperatura da água dos pré-*chiller* e *chiller* tem como limite 16° e 4°C respectivamente, enquanto o pH deve ficar dentro do limite de 6,5 a 9.

Na Tabela 3 estão apresentadas as características de criação e do abatedouro registradas e analisadas frente o resultado de pesquisa de *Salmonella* spp.

O resultado de lote positivo ou negativo a campo não apresentou diferença significativa ($p>0,05$) sobre o resultado de presença de *Salmonella* nas diferentes etapas do abate. Fato que pode estar associado à realização dos testes a campo em fase inicial da criação da ave. Conforme a FAO/WHO (FAO/WHO, 2009), a amostragem a campo deve ser realizada o mais próximo possível do carregamento das aves para o abate.

Outra possibilidade é a falha na amostragem de *swab* a campo, ou falha na execução do mesmo, que pode levar a falsos negativos e comprometer a continuidade de controle do patógeno na cadeia de aves, uma vez que não permitirá que haja a programação deste lote para que seja abatido no final do turno.

Conforme o Ofício Circular Conjunto DSA/DIPOA número 01/2009 (BRASIL, 2009), aditado pelo Ofício Circular Conjunto DSA/DIPOA número 01/2010 (BRASIL, 2010) que trata dos procedimentos para monitoramento de estabelecimentos de frangos de corte e perus para salmoneloses aviárias, todos os estabelecimentos de frango de corte e de perus que fornecem matéria prima para matadouro-frigoríficos habilitados para exportação, devem realizar coleta de materiais (amostras de fezes, ou *swab* de arrasto) para exame bacteriológico para salmonelose a cada quatro meses.

Tabela 3: Características de criação e do processamento por abatedouro.

MF	RSC	EAC	TDH (h)	TAP (h)	IAA(d)	NAA	VA (aves/h)	NLA	TVS (d)	DC (a/m ²)	EU	APPCC	PPHO	EA	NP
A	Neg.	Inverno	6	6	33	71000	3900	1	30	14,5	N	N	S	N	0
A	Neg.	Primavera	6	6	34	44000	3900	1	30	14,5	N	N	S	N	0
A	Neg.	Verão	12	12	34	43076	5300	4	32	15	N	N	S	N	0
B	Neg.	Primavera	5	9	32	371567	7000	4	12	15	S	S	S	S	3
B	Neg.	Primavera	5	10	35	401071	7000	5	16	15,5	S	S	S	S	0
B	Neg.	Verão	4	4,5	32	373612	7000	4	12	15	S	S	S	S	0
C	Neg.	Verão	8	11	44	54259	5300	4	32	15	N	N	S	N	0
C	Neg.	Verão	8	6	49	59700	5300	4	10	12	N	N	S	N	0
C	Neg.	Outono	8	8	42	55000	5300	4	20	12	N	N	S	N	0
D	Neg.	Verão	6	5	43	177500	10000	2	15	11,5	S	N	N	S	0
D	Pos.	Verão	6	5	43	166793	10000	13	15	11,5	S	N	N	S	0
D	Neg.	Outono	6	6,5	43	166000	10000	4	31	15	S	N	N	S	0
E	Neg.	Verão	10	10	43	127664	7980	4	20	10	N	N	S	S	0
E	Neg.	Outono	11	10	42	125533	7980	4	14	10	N	N	S	S	0
E	Neg.	Outono	12	9	48	129036	7980	3	15	10	N	N	S	S	1
F	Neg.	Outono	10	10	35	120000	9600	4	16	15	N	N	N	S	1
F	Neg.	Outono	10	9	34	130000	9600	4	16	15	N	N	N	S	0
F	Neg.	Outono	8	10	35	148791	9600	4	16	15	N	N	N	S	0
G	Neg.	Inverno	10	8	42	224923	5500	10	9	12	S	N	S	N	4
G	Neg.	Primavera	9	7	44	231328	5500	11	17	12	S	N	S	N	1
G	Neg.	Primavera	4	4	45	227185	5500	3	11	14	S	N	S	N	1

Legenda – MF. Abatedouro; RSC. Resultado de *swab* a campo; EAC. Estação do ano na coleta; TDH. Tempo da dieta hídrica aplicada no lote; TAP. Tempo entre a apanha das aves e o abate; IAA. Idade das aves no abate; NAA. Número de aves abatidas; VA. Velocidade de abate; NLA. Número de aves alojadas na mesma cama; TVS. Tempo de vazio sanitário; DC. Densidade de criação das aves; EU. Habilitação exportação para Europa; APPCC. Histórico de desvios de APPCC; PPHO. Histórico de desvios de PPHO; EA. Evisceração automática; NP. Número de amostras positivas para salmonela; N. não; S. sim; Neg. Negativo; Pos. Positivo

Desta forma, todos os estabelecimentos são amostrados, porém nem todos os lotes encaminhados ao abate possuem laudo de análise específico, ou seja, se porventura o lote for encaminhado para o abate sem ter sido amostrado ainda dentro do período de quatro meses, o laudo de outro lote alojado dentro deste mesmo período embasa o *status* sanitário daquele lote para *Salmonelose* spp.

Conforme os resultados deste presente estudo, podemos considerar necessário que todos os lotes enviados ao abate apresentem laudo específico embasado com teste realizado neste próprio lote, promovendo um aumento considerável das garantias da informação sobre a positividade ou negatividade do lote que chega para ser abatido, e consequentemente proporcionando o correto encaminhamento destas aves no momento da chegada ao matadouro-frigorífico.

Em estudo realizado por Franz *et al.* (2012), houve correlação significativa ($p < 0,05$) entre a prevalência de *Salmonella* a campo e na chegada do mesmo lote de aves ao abatedouro, sendo as coletas a campo feitas no período final da criação, próximas ao momento da apanha das aves e encaminhamento para o abate.

No presente estudo houve dois resultados de positividade no *swab* de cloaca das aves na chegada do lote no abatedouro, apesar do resultado negativo a campo destes mesmos lotes, indicando que lotes negativos a campo podem estar positivos na chegada ao abatedouro. Conforme relatado por Hinton *et al.* (2000), o jejum alimentar aplicado é um dos fatores que pode influenciar a multiplicação do patógeno. Durante o período sem alimentação há uma mudança da flora do ingluvío das aves e o pH é alterado de ácido para próximo do neutro, situação que favorece o desenvolvimento destas bactérias e a contaminação durante o transporte e consequentemente a necessidade de uma higienização adequada das gaiolas de transporte.

A presença de *Salmonella* em *swab* de gaiola de transporte de aves após a higienização em dois dos estabelecimentos amostrados demonstra que esta etapa constitui-se em um dos pontos críticos onde deve ser aplicada uma correta ação de limpeza e desinfecção, pois desvios podem repercutir diretamente no nível de biossegurança da cadeia de produção. Conforme Corry *et al.* (2002), cuidados com a escolha do desinfetante, modo e dosagem de aplicação são fundamentais, além do cuidado com a possível presença de biofilmes.

Slader *et al.*, (2002) reportaram que a não eliminação total da matéria orgânica na superfície das gaiolas após o procedimento de lavagem também contribui como barreira protetora para bactérias. O material fecal residual presente nas gaiolas de

transporte de aves tem sido identificado como um fator chave na contaminação de carcaças, segundo estudos de Heyndrickx *et al.* (2007), e melhorias no processo de lavagem de gaiolas são necessárias (TINKER, BURTON, & ALLEN, 2005). Conforme Mead *et al.* (2010), é necessário o cuidado especial de higiene com todo o equipamento utilizado na apanha das aves e gaiolas de transporte de aves vivas para evitar a contaminação do lote.

Outro fator que pode desencadear a positividade dos lotes é o aumento do estresse das aves quando estas são movimentadas na fase de apanha e transporte associado fatores como as condições dos veículos, tempo de viagem, temperatura e condições da estrada, que aumentará a excreção fecal podendo provocar um aumento na contaminação cruzada (ACMSF, 1996; FAO/WHO, 2009). Durante o transporte, as aves são acondicionadas em gaiolas que são colocadas uma acima das outras, sendo que as fezes caem da gaiola de cima para a de baixo.

Analisando a influência da estação do ano sobre os resultados positivos para salmonela nos lotes amostrados, observou-se variação entre os achados, porém sem relação estatística significativa ($p>0,05$), sendo que três lotes positivos foram amostrados na primavera, dois no outono e um no inverno. Em análise feita por Pieskus *et al.* (2008) sobre a distribuição de *Salmonella* em amostras de fezes de frangos durante as diferentes estações do ano foi indicado que o período de maior prevalência foi a primavera (45,5%), onde a porcentagem de amostras infectadas no inverno (16,7%), verão (24%) e outono (12,9%) foram menores.

O fator tempo entre a apanha da ave na granja e o seu abate, assim como o tempo de dieta hídrica não apresentaram correlação estatisticamente significativa ($p>0,05$) neste estudo, sendo que este tempo variou entre quatro a doze horas entre os lotes amostrados.

Também ao analisarmos as variáveis: idade das aves no abate, número de lotes alojados na mesma cama do aviário, número de aves abatidas no dia da coleta e velocidade de abate, individualmente através da correlação de Spearman frente ao número de lotes positivos, não houve resultado estatisticamente significativo ($p>0,05$).

O tempo de vazio sanitário, que variou de 9 a 32 dias entre as produções amostradas, com mediana de 16 dias, conforme a análise de correlação de Spearman apresentou correlação estatisticamente significativa ($p=0,036$), inversa e moderada entre esta variável e o número de lotes positivos, ou seja, o tempo de vazio sanitário menor que 16 dias influenciou na positividade do lote para o patógeno pesquisado.

Conforme Oliveira, J.R. *et al.*, (2010) considera-se vazio sanitário o período em que a instalação permanece vazia e os processos de limpeza e desinfecção são realizados. O vazio sanitário permite a destruição de certos organismos não atingidos pela desinfecção, mas que se tornam sensíveis à ação dos agentes físicos naturais como: aumento da temperatura, ventilação e incidência de sol, permitindo a secagem das instalações. O tempo de vazio sanitário varia com o tipo de criação, status sanitário da propriedade e a programação dos novos lotes.

Segundo Ferreira (2008), dentre as ações de biossegurança na criação de frangos, após a higienização deve-se deixar o aviário fechado durante um período mínimo de 10 dias e antes do recebimento de novos animais deve ser feita uma nova desinfecção. Namata *et al.* (2009) descreve que medidas sanitárias como o tempo de vazio sanitário reduzem os fatores de risco para prevalência e persistência de *Salmonella* nos lotes. Os mesmos autores citam que no caso de lotes positivos para este patógeno, o tempo de vazio sanitário após a retirada das aves do aviário deve ser de no mínimo seis semanas para que haja a redução do risco de contaminação do próximo lote a ser alojado no mesmo ambiente.

Ainda, conforme Berchieri e Macari (2000), a salmonelose, entre outras enfermidades, podem atacar severamente áreas com criações avícolas em que foram realizadas limpeza e desinfecção de forma inadequada, ou não foram realizadas. Não só a efetiva aplicação dos procedimentos de limpeza e desinfecção são importantes, mas também o controle de sua eficácia (BARKER *et al.*, 2003; WALES *et al.*, 2007).

As características dos matadouros-frigoríficos: estabelecimento exportador para países com exigências específicas; estabelecimento com tendência de desvio no seu programa APPCC; estabelecimento com tendência de desvio no seu programa PPHO; e tipo de evisceração automática, sobre a prevalência de lotes positivos para *Salmonella* não apresentaram correlação significativamente estatística ($p > 0,05$) com o número de lotes positivos.

As características observadas também foram analisadas em conjunto através de análise multivariável de Poisson. A primeira análise envolveu o número de aves alojadas e o tempo de vazio sanitário, as quais não obtiveram significância estatística. Porém na análise de regressão de Poisson para estimar as razões de prevalência, observamos que aqueles lotes que foram alojados em camas já submetidas a mais de 4 lotes anteriormente alojados, tiveram 1,86 vezes maior chance de positivar para *Salmonella* quando comparado com aqueles lotes alojados em camas submetidas a

menos de 4 lotes anteriormente alojados, porém não houve significância estatística ($p>0,05$) para este resultado, o que pode ter ocorrido devido ao número reduzido de resultados positivos da amostragem para esta análise.

Analisando em conjunto a idade das aves no abate e densidade de criação, assim como a análise de multivariáveis envolvendo o número de lotes alojados, tempo de vazio sanitário, idade das aves no abate, e densidade de criação, estas não apresentaram correlação estatisticamente significativa ($p>0,05$) quando em referência ao número de lotes com algum resultado positivo.

O mesmo aconteceu para a análise do número de aves abatidas e velocidade do abate em conjunto, quando estas variáveis não demonstraram correlação estatística ($p>0,05$) com o número de lotes positivos.

Também não houve correlação estatística ($p>0,05$) na análise de multivariáveis estudando os estabelecimentos com histórico de desvios de PPHO em conjunto com o sistema de evisceração automático, assim como quando analisadas as variáveis histórico de desvios de PPHO, número de aves abatidas no lote e velocidade do abate.

Referente às etapas do abate, a detecção de *Salmonella* na carcaça após a etapa de depenagem observada em um dos estabelecimentos reforça o entendimento que este ponto é um dos mais implicados em contaminação da carcaça. A depenadeira consiste em discos rotatórios com a presença de dispositivos alongados de borracha (“dedos de borracha”) que quando não devidamente higienizados permitem que organismos permaneçam aderidos no equipamento, favorecendo a formação de biofilmes (ACSMF, 1996). Conforme Mead (2010) e Lillard, (1989), o processo de depenagem provoca a disseminação de material orgânico presente na superfície da carcaça carreando também microrganismos possivelmente presentes que podem aderir na máquina depenadeira, principalmente se fixando em ranhuras dos “dedos de borracha” do equipamento, sendo a contaminação cruzada uma ocorrência inevitável.

As depenadeiras são difíceis de higienizar, e a manutenção da estrutura do equipamento deve ser mantida constantemente, pois a substituição dos “dedos de borracha” avariados é necessária para evitar o aumento de contaminação, devido a permissão de entrada de microrganismos nas ranhuras e vilosidades, proporcionando maior contaminação cruzada (MEAD, 2010).

Após a etapa de depenagem, há um chuveiro de lavagem que marca a divisão entre a área suja e a área limpa do abate. Conforme a Portaria 210 do MAPA (BRASIL,

1998), apesar da exigência deste chuveiro, não há parâmetros definidos a serem seguidos em relação a sua vazão e pressão. Conforme os resultados deste estudo foi observada a presença de *Salmonella* em carcaça após ter sido submetida a esta lavagem, o que conduz ao entendimento que há necessidade de ajustes ou definição de parâmetros para esta etapa que poderiam levar a obtenção de entrada de carcaças com sua superfície não contaminada na área de evisceração. Segundo Lillard (1990), a remoção de bactérias da superfície de carcaça de aves torna-se difícil quando estas apresentam-se firmemente aderidas aos tecidos epiteliais.

Podemos indicar que esta primeira lavagem deve ser considerada como um PC, assim como a etapa de evisceração, pois o controle do índice de contaminação da carcaça nestas duas etapas pode contribuir de forma significativa na eficácia do monitoramento e verificação dos PCCs, uma vez que auxiliariam na prevenção a sobrecarga de possíveis desvios no PCC.

Outro ponto observado com grande potencial de contaminação é a etapa de evisceração. No presente estudo uma das presenças do patógeno foi após a evisceração antes da lavagem final. Como este processo envolve a exposição das vísceras, durante sua manipulação pode haver a ruptura das mesmas provocando vazamento do conteúdo gastrointestinal e contaminação da superfície da carcaça.

Conforme apontado pela FAO/WHO (2002), este tipo de problema pode ocorrer com certa frequência uma vez que os equipamentos utilizados para a evisceração não são flexíveis aos diferentes tamanhos das aves. Este problema pode ser minimizado com a utilização de evisceradoras que separam as vísceras em bandejas após sua remoção, evitando o contato com a carcaça.

A etapa de evisceração envolve uma série de máquinas automatizadas; e mesmo quando o processo é manual, a utilização de equipamentos se faz presente. Esta etapa pode contribuir consideravelmente para o aumento da prevalência de *Salmonella* (SARLIN *et. al.*, 1998; CARRASCO *et. al.*, 2011).

Segundo o estudo de Rodrigues *et. al.* (2008), as operações de eventração e evisceração devem ser criteriosamente consideradas num plano APPCC de abate de frangos, devido à maior probabilidade de contaminação fecal nessa fase. Por isso, o rigoroso controle da higiene ambiental da respectiva área e equipamentos e a minimização das ocorrências de rompimento de vísceras devem ser implementados para o sucesso do plano APPCC.

Os pontos críticos de controle para perigo biológico, PCCs, estipulados pelo MAPA para o abate de frangos são dois: a etapa de revisão de carcaças (realizada após a evisceração e antes da passagem pelo chuveiro final), na qual o limite crítico é tolerância zero para a presença de contaminação visível na superfície da carcaça, e a etapa de resfriamento, na qual a carcaça precisa reduzir sua temperatura até no máximo +4°C em quatro horas (BRASIL, 2006);

Os resultados positivos de *Salmonella* nas carcaças amostradas após a evisceração antes da passagem pelo chuveiro final induzem a necessidade de atenção nos procedimentos de evisceração que envolve regulagem de máquinas evisceradoras e treinamento de colaboradores que trabalham nas linhas de evisceração. Além da elaboração criteriosa de um plano APPCC, os seus pré-requisitos como boas práticas de fabricação, envolvendo um responsável treinamento de colaboradores da produção, e o Procedimento Padrão de Higiene Operacional, que cobre a limpeza e desinfecção do estabelecimento são fundamentais no sistema de gerenciamento de segurança alimentar (MEAD, 2010).

A observação de presença de *Salmonella* na carcaça após a lavagem final antes da carcaça adentrar no sistema de pré-resfriamento colabora com as afirmações de Lillard (1990b) quando este autor descreveu que o sistema de lavagem pode aumentar ou diminuir a prevalência do patógeno, dependendo da aderência da bactéria na superfície da carcaça assim como o tipo de lavagem utilizado, que deve evitar a contaminação cruzada.

Em todos os matadouros-frigoríficos estudados o sistema de pré-resfriamento foi feito por imersão em água em tanques com sistema de entrada da carcaça contracorrente. E das amostras positivas para *Salmonella*, uma foi detectada na carcaça após esta etapa.

Ao analisarmos o comportamento quantitativo do patógeno, esta carcaça na saída do *chiller* foi a que apresentou a maior contagem pelo método mNMP (0,5 NMP), fato que reforça a identificação desta etapa como um ponto específico do abate que requer o constante monitoramento de suas variáveis como temperatura, vazão de renovação de água, cloração e tempo de permanência da carcaça dentro do sistema.

No Brasil, conforme a Portaria 210 do MAPA de 1998 (BRASIL, 1998), que trata sobre a inspeção de carne de aves, a utilização de cloro na água de abastecimento do sistema de pré-resfriamento (*chiller*) só pode ser feita no máximo de 5ppm, e

considerando que os estabelecimentos amostrados são exportadores e atendem a requerimentos específicos, a concentração máxima de cloro permitida foi de 2ppm.

O pré-resfriamento da carcaça de frango a +4°C ou menos supõe que haja garantia que nenhuma *Salmonella* presente será capaz de se multiplicar. Esta etapa inclui a imersão da carcaça em água refrigerada. Como a água utilizada no sistema de pré-resfriamento é constantemente renovada, o acúmulo de bactérias deve ser mínimo. Porém, uma vez que um grande número de carcaças adentra o mesmo sistema e de forma contínua, as chances de ocorrer contaminação cruzada são aumentadas. Sendo assim, a água do sistema de pré-resfriamento em imersão é o principal fator a ser considerado na transmissão de *Salmonella* entre aves e entre lotes (JAMES *et al.*, 1992; LILLARD, 1990a; SARLIN *et al.*, 1998).

No estudo realizado por Costa e Carvalho (2001), quando elaboraram um plano de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle para uma linha de produção de frango inteiro congelado de um abatedouro, determinaram que a etapa de pré-resfriamento de carcaças nos *chillers* são pontos críticos de controle (PCC), salientando a importância da existência do monitoramento da temperatura, cloração e renovação da água do sistema.

Cason *et al.* (2000), afirmaram que o risco de contaminação cruzada na etapa de resfriamento por imersão tem grande chance de ocorrer, e é mais importante no caso das bactérias patogênicas, as quais são geralmente encontradas em baixas contagens e em poucas carcaças.

Analisando os resultados do presente estudo em conjunto com a Circular 668 do MAPA (BRASIL, 2006), afirma-se a necessidade de identificação da etapa de revisão de carcaças como PCC, assim como a etapa de pré-resfriamento, uma vez que se houver a presença de *Salmonella* nestes pontos, não haverá outra etapa em que seja possível uma intervenção para eliminação deste perigo.

Conforme a Tabela 1, o abatedouro F apresentou uma detecção de *Salmonella* em carcaça amostra após o período de 24 horas de congelamento, e o abatedouro G também obteve uma presença do patógeno em carcaça de frango após 60 dias de congelamento.

Este dado é importante, pois apesar das baixas temperaturas poderem exercer danos a célula bacteriana, foram identificadas duas amostras positivas para *Salmonella*, indicando risco potencial de resistência das mesmas mesmo em condições de temperaturas abaixo de -18°C (temperatura máxima do produto congelado amostrado),

e mesmo após o período de sessenta dias sob estocagem nestas condições. A presença de *Salmonella* em amostras de carcaças de frango congeladas foi observada em estudos realizados no Reino Unido por Roberts (1982); já em Portugal, estudo de Bernardo & Machado (1989) mostraram 60,5% de positividade em carcaças congeladas; e nos Estados Unidos, Izat *et al.* (1991) obtiveram uma variação de 17 a 50% de positividade em três marcas comerciais analisadas.

Em estudos de Dominguez & Schaffner (2009), foi relatado que a *Salmonella* pode sobreviver em produtos cárneos de frango mesmo estes sendo mantidos estocados sob temperaturas de congelamento a -20°C. E de acordo com Santos *et al.*(2000), a carcaça de frango mesmo congelada, pode veicular *Salmonella* para os seres humanos.

Considerando-se que grande parte da comercialização de frangos no Brasil é de carcaças congeladas, principalmente para atendimento do mercado externo (exportação), estes resultados de positividade do patógeno no produto congelado são bastante significativos, e devem ser considerados na elaboração de medidas de controle e detecção de *Salmonella*. Cabe lembrar que para a presença de *Salmonella* no produto final em muitos países para os quais o Brasil exporta, o critério é *Salmonella* zero, sendo que sua detecção gera o impedimento da entrada da carga amostrada no país de destino gerando notificações internacionais que podem interferir nos acordos sanitários bilaterais, gerando altos custos para a empresa exportadora.

Os resultados do presente estudo conduzem a necessidade de adoção de cuidados que objetivam o controle da disseminação de *Salmonella* ainda na criação das aves. E devido ao risco de exposição ao patógeno não poder ser eliminado, todos os lotes de aves vivas devem ser testados ao redor de duas semanas anterior ao abate, reforçando o já recomendado por Mead *et al.* (2010), sendo esta uma medida de controle muito importante e que merece atenção na sua execução. Este teste permite que qualquer lote positivo seja abatido em separado, resultando em maior controle sobre a presença do patógeno na carcaça de frango.

Conclusão

Atualmente existe uma padronização nos procedimentos adotados pelos estabelecimentos de criação e de abate de frangos, não havendo diferenças significativas na prevalência de *Salmonella* entre os estabelecimentos habilitados para

mercados específicos e os habilitados para os países que aceitam a legislação de inspeção brasileira sem condições adicionais.

Os estabelecimentos amostrados estão dentro do preconizado pela legislação brasileira, demonstrando que as diretrizes do serviço oficial conduzem a obtenção de produtos avícolas de qualidade, com baixa prevalência de *Salmonella*.

Os resultados deste estudo nos permitem concluir que o não embasamento do *status* sanitário para *Salmonella* de cada lote específico encaminhado ao abate favorece a não correlação entre o resultado a campo e aquele obtido no momento da chegada das aves na plataforma de recepção para o abate.

Dentre as características estudadas, podemos afirmar que o tempo de vazio sanitário apresentou correlação com a positividade de lotes abatidos, sendo que os lotes alojados em estabelecimentos que sofreram vazio sanitário inferior a 16 dias tenderam a positivar para *Salmonella*. Confirmando ser esta uma importante medida de biossegurança a ser adotada.

Referências bibliográficas

ABPA 2014. Associação Brasileira de Proteína Animal. Relatório Anual UBABEF 2014. Disponível, em: http://www.ubabef.com.br/files/publicações/8ca705e70f0cb110ae_d67d29c8842.pdf. Acesso em set. 2014.

ACMSF – Advisory Committee on the Microbiological Safety of Food. 1996. Report on Poultry Meat. Londres: HMSO.

BERNARDO, F. M. A. & MACHADO, J. C. C. Prevalência de *Salmonella* em carcaças de frango em Portugal. Perspectiva epidemiológica em humanos. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**. 84 (489): 31-45. 1989.

BARKER, J.; NAEENI, M.; BLOOMFIELD, S.F. The effects of cleaning and disinfection in reducing *Salmonella* contamination in a laboratory model kitchen. **Journal of Applied Microbiology**. v.95, p.1351-1360. 2003.

BERCHIERI, J.A., MACARI, M. Doenças das aves. FACTA, Campinas, São Paulo, 490 p. 2000.

BRASIL 1998. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Portaria nº 210 de 10 de novembro de 1998. Regulamento Técnico da Inspeção Tecnológica e Higiênico-sanitária de carne de aves. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 26 de novembro de 1998.

BRASIL 2006. Circular nº668/2006 de 19 setembro de 2006. Diretrizes para Preparação de Plano APPCC (HACCP) para o processo de abate de aves. Coordenação

Geral de Programas Especiais (CGPE). Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal (DIPOA). Secretaria de Defesa Agropecuária (SDA). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Brasília, DF. 2006.

BRASIL 2009. Ofício Circular Conjunto DSA/DIPOA nº 01/2009. Secretaria de Defesa Agropecuária (SDA). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Brasília, DF. 15 de jan, 2009.

BRASIL 2010. Ofício Circular Conjunto DSA/DIPOA número 01/2010. Secretaria de Defesa Agropecuária (SDA). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Brasília, DF. 26 de fev, 2010.

CARRASCO, E. et al., Cross-contamination and recontamination by Salmonella in foods: A review, Food Research International (2011), doi:10.1016/j.foodres.2011.11.004

CASON, J.A.; HINTON, A; INGRAM, K.D. Coliform, *Escherichia coli*, and *Salmonellae* concentrations in a multiple-tank, counterflow poultry scalding. Journal of Food Protection, v. 63, n.9, p.1184-1188, 2000.

CAC - CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. 2007. Principles and guidelines for the conduct of microbiological risk management (MRM) CAC/GL 63-2007.

CAVADA, C.A.; CARDOSO, F. M.; SCHIMDT, V. Comparison of three methods for Salmonella SP. Quantification in wast water. *Acta Scientiae Veterinariae*. 2010. V.38, p.17-23. 2010.

CORRY, J.E.L., ALLEN, V.M., HUDSON, W.R., BRESLIN, M.F., DAVIES, R.H., 2002. Sources of *Salmonella* on broiler carcasses during transportation and processing: modes of contamination and methods of control. *J. Appl. Microbiol.* 92, 424-432. 2002.

COSTA, P.S.; CARVALHO, A.L.T. Análise de perigos e pontos críticos de controle na linha de produção de frango inteiro congelado. 6º Congresso Brasileiro de Higienistas de Alimentos – resumos, 2001.

DONLAN, R.M.; COSTERTON, J. M.. Biofilms: Survival Mechanisms of Clinically Relevant Microorganisms. *Clinical Microbiology Review*. V.15, p. 167-193. 2002.

DOMINGUEZ, S.A., SCHAFFNER, D.W. Survival of *Salmonella* in processed chicken products during frozen storage. *J. Food. Prot.* 72(10), 2088-92, 2009.

EFSA – European Food Safety Authority. Analysis of the baseline survey on the prevalence of Campylobacter in broiler batches and of Campylobacter and Salmonella on broiler carcasses in the EU, 2008, Part A: Campylobacter and Salmonella prevalence estimates. *EFSA JOURNAL*, p.99, 2010.

FAO/WHO – Food and Agriculture Organization and World Health Organization. 2002. Risk assessment of Salmonella spp. In eggs and broiler chickens. *Microbiological Risk Assessment Series*, n.1 (interpretive summary) and 2. FAO, Roma, e WHO, Geneva.

FAO/WHO. Salmonella and Campylobacter in chicken meat: meeting report. **Microbiological Risk Assessment Series**, n° 19. Rome. 56 p. 2009.

FERREIRA, H.C. O desafio da limpeza e desinfecção de galpões na avicultura. In: Conferência APINCO 2008 de ciência e tecnologia avícolas. Anais. P.199-203, 2008.

FRANZ, E.; van der FELS-KLERX, H.J.; THISSEN, J; van ASSELT, E.D. Farm and slaughterhouse characteristics affecting the occurrence of *salmonella* and *campylobacter* in the broiler supply chain. **Poultry Science**. N.91:2376-2381. 2012.

FRAVALO, P., HASCOET, Y., Le FELLIC, M., QUEGUMER, S., PETTON, J, SALVAT, G. 2003. Convenient method for rapid and quantitative assessment of *Salmonella* enteric contamination: the mini-MSRV MPN technique. **Journal of Rapid Methods and Automation in Microbiology**. 11(2): 81– 88.

HABIB, I.; DE ZUTTER, L.; VAN HUFFEL, X.; GEERAERD, A. H.; UYTENDAELE, M. Potential of *Escherichia coli* as a surrogate indicator for postchill broiler carcasses with high *Campylobacter* counts. **Food Control**. v.25, p. 96-100. 2012.

HANS, F., 2008. **Tese de Doutorado**: Desenvolvimento de métodos para quantificação direta de *Salmonella* sp. por PCR-tempo real e por transcriptase reversa-PCR-tempo real. 2008. 155p. Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, Universidade de São Paulo, SP.

HEYNDRICKX, M.; VANDEKERCHOVE, D.; HERMAN L.; ROLLER I.; GRIJSPEERDT, K; De ZUTTER, L.; Routes of *Salmonella* contamination of poultry meat: epidemiological study from hatchery to slaughterhouse. **Epidemiol. Infect.** 129: 253-265. 2002.

HEYNDRICKX, M; HERMAN, L.; VLAES, L.; BUTZLER, J. P.; WILDEMAUWE, C.; GODARD, C.; DE ZUTTER, L. Multiple typing for the epidemiological study of the contamination of broilers with *Salmonella* from the hatchery to the slaughterhouse. **Journal of Food Protection**. v. 70, p. 323-334. 2007.

HINTON, A.; BUHR, R.J.; INGRAM, K.D. Physical, chemical and microbiological changes in the crop of broiler chickens subjected to incremental feed withdrawal. **Poultry Science**, v.79: 212-218. 2000.

ICMSF - INTERNATIONAL COMMISSION OF MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS. 2006. A Simplified Guide to Understanding and Using Food Safety Objectives and Performance Objectives. Disponível em: <https://www.icmsf>. Acesso em: 26 de setembro de 2011.

ISO 6579:2002 – ANNEX D. Microbiology of food and animal feeding stuffs. Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp. **International Organization for Standardization**, Geneva, Switzerland. 2002.

IZAT, A.L.; KOPEK, J.M.; MCGINNIS, J.D. Research note: incidence, number and serotypes of *Salmonella* on frozen broiler chickens at retail. **Poultry Science**, n.70, p.1438-1440, 1991.

JAMES, W. O.; WILLIAMS, W.O.; PRUCHA, J. C.; JOHNSTON, R.; & CHRISTENSEN, W. Profile of selected bacterial counts and *Salmonella* prevalence on raw poultry in a poultry slaughter establishment. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, 200, 57-59. 1992.

LILLARD, H. S. Factors affecting the persistence of *Salmonella* during the processing of poultry. **Journal of Food Protection**. 52: 829-832. 1989.

LILLARD, H. S. Effect on broiler carcasses and water of treating chiller water with chlorine or chlorine dioxide. **Poultry Science**, 59, 1761-1766. 1990a

LILLARD, H. 1990b. The impact of commercial processing procedures on the bacterial contamination and cross-contamination of broiler carcasses. *Journal of Food Protection*, 53:202-204.

MEAD, G.; LAMMERDING, A. M.; COX, N.; DOYLE, M. P.; HUMBERT, F.; KULIKOVSKIY, A.; PANIN, A.; NASCIMENTO, V. P.; WIERUP, M. Scientific and technical factors affecting the setting of salmonella criteria for raw poultry: a global perspective. **Journal of Food Protection**. vol.73, n. 8, p.1566-1590, 2010.

MARIN, C.; BALASCH, S.; VEGA, S.; LAINEZ, M. Sources of *Salmonella* contamination during broiler production in Eastern Spain. **Preventive Veterinary Medicine**, v.98, p. 39-45. 2011.

NAMATA, H.; WELBY, S.; AERTS, M.; FAES, C.; ABRAHANTES, J. C.; IMBERECHTS, H.; VERMEERSCH, K.; HOOYBERGHS, J.; MÉROC, E.; MINTIENS. Identification of risk factors for the prevalence and persistence of *Salmonella* in Belgian broiler chicken flocks. **Preventive Veterinary Medicine**. V.90,p.211-222. 2009.

OLIVEIRA, D. C. V. DE; FERNANDES JR, A.; KANENO, R.; SILVA, M. G.; ARAUJO JR, J. P.; CIRONE SILVA, N. C.; MORES RALL, V. L. Ability of *Salmonella* spp. to Produce Biofilm Is Dependent on Temperature and Surface Material. **Foodborne Pathogens And Disease**, V. 11, N. 6, P. 478-483, JUN 2014.

OLIVEIRA, J.R.; MARQUES, E. A.; TONACO, I. A.; DUARTE, N. F. Biossegurança e vazio sanitário das instalações zootécnicas. **PUBVET**, Londrina, V. 4, N. 7, Ed. 112, Art. 754, 2010.

PIESKUS, J.; KAZENIAUSKAS, E.; BUTRIMAITE-AMBROZEVICIENE, C.; STANEVICIUS, Z.; MAURICAS, M.. *Salmonella* incidence in broiler and laying hens with the different housing systems. **The Journal of Poultry Science**, n.45, p. 227-231, 2008.

POPPE, C. *Salmonella* infections in the domestic fowl, p. 107-132. In WRAY; C. & WRAY, A., *Salmonella* in domestic animals. Ed. CABI, Wallingford, Oxford, 2000.

ROBERTS T. Factors contributing to outbreaks of food poisoning in England and Wales 1970-1979. *Journal of Hygiene*. 89: 491-498. 1982.

RODRIGUES, L. B.; SANTOS, L. R. DOS; RIZZO, NATALIE, N.; TAGLIARI, V.Z.; OLIVEIRA, AMAURI P. DE.; TRENHAGO, G.; RODIGHIERI, S.C.; TAGLIETTI, R.M.; DICKEL, E. L.; NASCIMENTO, V. P. DO. Avaliação da Hidrofobicidade e da formação de biofilmes em poliestireno por *Salmonella* Heidelberg isoladas de abatedouro avícola. *Acta Scientiae Veterinariae*. Vol. 37, n.3, p.225-230. <http://hdl.handle.net/10183/20888> . 2009.

RODRIGUES, A. C. A.; PINTO, P. S. A.; VANETTI, M. C. D.; BEVILACQUA, P. D.; PINTO, M. S.; NERO, L. A. Análise e monitoramento de pontos críticos no abate de frangos utilizando indicadores microbiológicos. *Ciência Rural*, v.38, n.7, p.1948-1953. 2008.

RUSSELL, S.M. 2003. Desinfection of poultry carcasses during scalding and immersion chilling. *Turkeys*,v.51,p. 5-8. 2003

SANTOS, D.M.S.; BERCHIERI JUNIOR, A.; FERNANDES, S.A.; TAVECHIO,A.T.; AMARAL, L.A. *Salmonella* em carcaças de frango congeladas. *Pesquisas Veterinárias Brasileiras*. N.20,v.1, p.39-42, jan/mar, 2000.

SARLIN, L. L; BARNHART, E. T.; CALDWELL, D.J.; MOORE, R. W.; BYRD, J. A.; CALDWELL, D.Y. Evaluation of alternative sampling methods for salmonella critical control point determination of broiler processing. *Poultry Science*, 77, 1253-1257. 1998.

SLADER, J., DOMINGUE, G., JORGENSEN, F., McALPINE, K., OWEN, R.J., BOLTON, F.J., HUMPHREY, T.J. Impact of transport crate reuse and of catching and processing on *Campylobacter* and *Salmonella* contamination of broiler chickens. *Appl. Environ. Microbiol.* 68: 713-719. 2002.

SLADER, J.; DOMINUE, G.; JORGENSEN, F.; McALPINE, K.; OWEN, R.J.; BOLTON, F.J.; HUMPHREY, T.J. 2002. Impact of transport crate reuse and of catching and processing on *Campylobacter* and *Salmonella* contamination of broiler chickens. *App. Environ. Microbiol.* v.68, 713-719.

SPSS Inc. Released 2009. PASW Statistics for Windows, Version 18.0. Chicago: SPSS inc.

THOMAS, H. A. 1942. Bacterial densities from fermentation tube tests. *Journal of the American Water Association*. 34:572-576.

TINKER, D.B., BURTON, C. H., & ALLEN, V. M., Catching, transporting and lairage of live poultry, p. 153-173. In G.C. Mead (ed.), *Food safety control in the poultry industry*. Woodhead Publishing, Cambridge. 2005.

UBABEF - União Brasileira de Avicultura. Relatório Anual UBABEF 2013. Disponível em: <<http://www.abef.com.br/ubabef/exibenoticiaubabef.php?notcodigo=3293>> .Acesso em outubro de 2013.

VON RUCKERT, D.A.S.; PINTO, P.S.A.; SANTOS, B.M.; MOREIRA, M.A.S.; RODRIGUES, A.C.A. Pontos críticos de controle de Salmonella spp. no abate de frangos. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.61, n.2, p.326-330, 2009.

WALES, A.; BRESLIN, M.; CARTER, B.; SAYERS, R.; DAVIES, R. A longitudinal study of environmental Salmonella contamination in caged and free-range layer flocks. **Avian Pathology**. v.36, p.187-197. 2007.

WHO – WORLD HEALTH ORGANIZATION 2013. The Global Foodborne infections network key activities – Country Databank. Disponível em <http://www.who.int/gfn/activities/en/>. acessado em: dezembro de 2014.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION 2007. Food safety and foodborne illness. 2007. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs237/en/>>. acessado em: janeiro de 2013.

4. CAPÍTULO II

Sistema de lavagem de carcaças e controle de *Salmonella* spp. em matadouros-frigoríficos de frangos de corte

Sistema de lavagem de carcaças e controle de *Salmonella* spp. em abatedouros de frangos de corte ¹

(Artigo a ser submetido para a Revista de Pesquisa Veterinária Brasileira)

ABSTRACT.- Isolan L.W., Perdoncini G., Todeschini B., Santos L.R., Guahyba A.S., Depner R. & Nascimento V.P., 2015. [**Carcass wash system and *Salmonella* spp. controls in poultry slaughterhouses.**] Sistema de lavagem de carcaças e controle de *Salmonella* spp. em abatedouros de frangos de corte. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 00(0):00-00. Centro de Diagnóstico e Pesquisa em Patologia Aviária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Av. Bento Gonçalves 8824, Porto Alegre, RS 91540-000, Brazil. E-mail: leonardo.isolan@agricultura.gov.br

The data of the Pathogen Reduction Program (PRP) for *Salmonella* spp. in broiler carcasses were evaluated before and after the implementation of carcasses washing system. A total of 2692 carcasses prior to system installation and 1940 after installation were sampled, totaling 4632 samples in five slaughterhouses under Federal Inspection in southern Brazil. The parameters pressure and volume of water flow used in the washing system were collected to assess the influence of these variables on the results for *Salmonella* spp. Prior to installation of the washers 156 carcass were positive for *Salmonella* spp. and after installation 83 carcass resulted positive, with a significant difference ($p < 0.05$ / OR 1.4) on the overall results. Two of the five evaluated slaughterhouses showed a prevalence decrease of *Salmonella* spp. in the sampled carcasses after installing the washer. However, in three establishments there was no significant difference after installing this system. As higher is the water flow better is the action of the washing system, while only the water pressure increased was not enough to act on the pathogen in the sampled carcasses.

INDEX TERMS: broiler carcasses, PRP, *Salmonella*, slaughterhouses, washing system

RESUMO.- Avaliou-se os dados do Programa de Redução de Patógenos (PRP) para *Salmonella* spp. em carcaças de frango de corte antes e após a implantação do sistema de lavagem de carcaças. Foram amostradas 2692 carcaças antes da instalação do

sistema e 1940 após a instalação, totalizando 4632 amostras em cinco abatedouros sob Inspeção Federal no sul do Brasil. Também foram coletados os valores de pressão e de volume de água dos lavadores de carcaças para avaliar a influência destas variáveis nos resultados para pesquisa de *Salmonella* spp. Anteriormente a instalação dos lavadores obteve-se 156 resultados positivos para *Salmonella* spp. e após a instalação 83 resultados positivos, com diferença significativa ($p < 0,05$ / OR 1,4) entre os resultados gerais. Em dois dos cinco abatedouros avaliados houve redução na positividade para *Salmonella* spp. nas carcaças amostradas após a instalação do lavador. Entretanto, em três estabelecimentos não houve diferença significativa após a instalação deste sistema. Quanto maior a vazão de água melhor a ação do lavador, enquanto que somente o aumento da pressão de água do sistema de lavagem não foi suficiente para agir sobre o patógeno nas carcaças amostradas.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Abatedouros, carcaças de frango, PRP, *Salmonella*, sistema de lavagem

INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior exportador mundial de carne de frango, seguido pelos Estados Unidos (ABPA, 2014), o que reflete a aplicação de técnicas avançadas e reconhecidas de manejo, bem como da tecnologia de abate com qualidade higiênico-sanitário, garantindo a comercialização dos produtos brasileiros em mais de 150 países.

Entretanto, no cenário da avicultura mundial, *Salmonella* spp é um dos mais importantes patógenos associados à carne de frango e seus derivados (BRYAN & DOYLE, 1995; BORSOI et al., 2010).

A legislação vigente no Brasil rege as medidas aplicáveis no processamento de aves e consta no Regulamento Técnico da Inspeção Tecnológica e Higiênico-Sanitária de Carne de Aves (BRASIL, 1998). Também visando a qualidade higiênico sanitária dos produtos de origem animal, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento do Brasil (MAPA) instituiu diversos programas de controle, onde destacam-se o Sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) (BRASIL, 2006), implantado gradativamente nos estabelecimentos sob Serviço de Inspeção Federal (SIF), e o Programa de Redução de Patógenos (BRASIL, 2003), que contempla a análise laboratorial sistemática de carcaças de frangos e perus para a pesquisa de

Salmonella spp. nos matadouros frigoríficos de aves registrados junto SIF (VON RUCKERT et al., 2009).

O Regulamento Técnico para aves proíbe a entrada de carcaças com qualquer tipo de contaminação visível no sistema de pré-resfriamento ou pré-chiller (BRASIL, 1998). Já a Circular 668 (BRASIL, 2006) estabelece as diretrizes para a elaboração do APPCC, apresentando um plano genérico para o processamento de aves, no qual o Ponto Crítico de Controle Biológico 1 (PCC 1B) deve ser posterior a etapa de revisão das carcaças na evisceração. O limite crítico deste ponto é a tolerância zero para contaminação externa e interna visível por conteúdo gastrointestinal e/ou biliar nas carcaças. Entretanto, não há definição da forma de execução da ação corretiva a ser aplicada para a eliminação das contaminações em casos de desvios deste PCC.

Já a Resolução n° 04 do MAPA (Brasil, 2011) autoriza o emprego de um sistema de lavagem de carcaças no abate de aves para remover a contaminação por conteúdo gastrointestinal visível nas superfícies internas e externas das carcaças, anterior a etapa de pré-resfriamento, como uma alternativa a prática do refile. O refile é uma operação manual de retirada da contaminação visível da carcaça com o auxílio de facas, onde a porção removida é descartada, o que gera perda de proteína associada à prejuízos econômicos para a indústria avícola, além da depreciação da carcaça inteira, que é desclassificada como tal.

O sistema de lavagem de carcaças é utilizado em plantas processadoras de aves nos Estados Unidos, como um chuveiro final na linha de evisceração, objetivando o atendimento das diretrizes governamentais, que determinam tolerância zero para contaminação fecal em carcaças que entram no sistema de resfriamento (USDA, 1998). No Canadá e países membros da Comunidade Europeia o sistema de lavagem de carcaças também é aceito, bem como em organismos internacionais como o *Codex Alimentarius* (Codex Alimentarius, 2011; CFIA 2013).

Neste trabalho são relatados os primeiros resultados sobre a ocorrência de *Salmonella* spp. em carcaças de frango antes e após a implantação do sistema de lavagem de carcaças em cinco abatedouros de aves com Serviço de Inspeção Federal no sul do Brasil.

MATERIAL E MÉTODOS

Utilizou-se os resultados para pesquisa de *Salmonella* spp. em carcaças de frango amostradas após a etapa de pré-resfriamento por imersão, conforme preconizado pelo Programa de Redução de Patógenos na Instrução Normativa 70 (Brasil, 2003) em cinco abatedouros sob Inspeção Federal no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. Os resultados compilados compreenderam o período de seis meses de coletas do PRP realizados antes e após a instalação do lavador de carcaças, autorizado pela Resolução número 04 (Brasil, 2011). O período exato relativo aos resultados de cada estabelecimento variou conforme a data de aprovação e instalação do chuveiro nos referidos abatedouros, mas sempre compreendendo seis meses antes e após a instalação do lavador. Os estabelecimentos foram identificados pelas letras A, B, C, D e E, sendo que em todos o lavador está instalado na etapa de revisão de carcaças, após o Departamento de Inspeção Final (DIF) e imediatamente antes do monitoramento do PCC1B.

Os resultados do PRP foram obtidos no banco de dados do Serviço de Inspeção de Produtos de Origem Animal da Superintendência Federal do MAPA, no estado do Rio Grande do Sul, e analisados por meio do teste de análise de variância e correlação com o programa SPSS versão 20.0 (IBM, 2011).

Também foram coletados os valores de pressão e de volume de água dos lavadores de carcaças para avaliar a influência destas variáveis nos resultados para pesquisa de *Salmonella* spp.

RESULTADOS

Foram amostradas 2692 carcaças de frango antes da instalação do sistema de lavagem de carcaça e 1940 após a instalação, totalizando 4632 amostras. Anteriormente a instalação dos lavadores obteve-se 156 resultados positivos para *Salmonella* spp. e, após a instalação, 83 resultados positivos, com diferença significativa ($p < 0,05$ / OR 1,4) entre os resultados gerais (Tabela 1).

Com a lavagem de carcaças houve redução significativa ($p < 0,05$) nos resultados positivos para *Salmonella* spp. nos matadouros frigoríficos A e E, enquanto que nos estabelecimentos B, C e D, apesar de haver aumento do número de positivos, este não

foi significativo estatisticamente ($p > 0,05$) para os resultados do PRP antes e após a instalação do sistema de lavagem de carcaças.

Os valores de pressão e volume de água dos lavadores de carcaças instalados nos abatedouros estudados constam da Tabela 2 .

DISCUSSÃO

Com o sistema de lavagem de carcaças houve redução estatisticamente significativa na positividade para *Salmonella* spp. em dois abatedouros, enquanto que em 3 abatedouros não houve diferença significativa nos resultados anteriores e posteriores a instalação deste sistema, apesar do registro de aumento na ocorrência do patógeno nestes estabelecimentos. Northcut *et al.* (2003) relatou que o sistema de lavagem de carcaças comercial reduziu a contagem total de bactérias em uma planta amostrada, enquanto que não obteve o mesmo resultado em outras duas.

A eficiência da lavagem de carcaça está atrelada a diversos fatores como o tipo de equipamento de lavagem utilizado, pressão e volume de água, tempo de exposição da carcaça, velocidade de abate e direcionamento dos jatos de água. Conforme Lillard (1989), as aves chegam aos abatedouros com bactérias aderidas a pele, que não são facilmente removidas por lavagem com água, concordando com Thomas e McMeekin (1982), que observaram que lavagens contínuas com água podem remover bactérias a cada processamento, mas concluem que não é possível melhorar significativamente a qualidade microbiológica das carcaças pelo aumento do número de lavagens, uma vez que as bactérias já se encontram firmemente aderidas à pele.

Na Tabela 2 estão descritas as diferenças entre os lavadores de cada estabelecimento. A variação na pressão de água na saída dos bicos de aspersão variou entre 3,1 Kgf/cm² e 16,3 Kgf/cm², enquanto a vazão de água variou de 0,4 até 1,5 L por carcaça, evidenciando que não há padronização entre os lavadores instalados.

Na correlação entre a variável vazão de água e o percentual de redução de carcaças de frango positivas para *Salmonella* spp., observa-se que houve correlação positiva, ou seja, quanto maior a vazão de água utilizada no sistema de lavagem de carcaças, menor a ocorrência deste patógeno.

Já na avaliação da variável pressão de água não houve correlação entre esta e os percentuais de redução de *Salmonella* spp., o que corrobora com os achados de Smith (2005), ao relatar que a baixa pressão de água, além da economia de água, não

comprometeria a ocorrência do patógeno, embora cada abatedouro deva conduzir seus próprios testes antes de reduzir a pressão de suas lavadoras.

A utilização de duas aspersões de água a 17°C com pressão de 196 e 1.471 kPa gerou redução de cerca de 0,9 log UFC/ml de enterobactérias, *Pseudomonas* spp. e *Staphylococcus* spp. (ESCUDERO-GILETE et al.,2005).

Assim, quando o objetivo das lavagens for a redução do número de carcaças positivas para *Salmonella* spp., não podemos considerar a variável pressão de água sem associar com a vazão. Esta observação é válida para analisar os resultados nos abatedouros com aumento na ocorrência do patógeno, já que nestes estabelecimentos a pressão elevada associada a pouca quantidade de água pode ter possibilitado maior dispersão da matéria orgânica na superfície da carcaça. Este material, ao invés de ser carregado para o sistema de drenagem da água residual do lavador, como aconteceria com uma boa vazão, pode ter sido espalhado dentro do sistema, ficando aderido ao equipamento ou ser disseminado para outras carcaças, provocando contaminação cruzada. De acordo com os autores Bolder (1997) e Hugas & Tsigarida (2008), altas pressões podem facilitar a formação de aerossóis que propiciam a dispersão bacteriana.

Os resultados entre os abatedouros e lavadores avaliados permitem inferir que o melhor controle do patógeno foi obtido quando o sistema de lavagem tinha vazão de 1,5L/carcaça e pressão de 3,1 Kgf/cm². Entretanto, necessita-se mais estudos que visem a definição de parâmetros de volume, pressão e direcionamento dos jatos de água para a lavagem de carcaça, combinados com o tempo mínimo de exposição no sistema, a fim de padronizar o método e otimizar os resultados do mesmo. Von Rückert et al. (2009) e Saba et al. (2010) citam que à medida que a pressão e a vazão aumentam, aumenta também a descontaminação das carcaças.

A lavagem de carcaças iniciou no Brasil em 2011 como uma alternativa a prática de refile de carcaças com contaminação gastrointestinal visível, onde retira-se com faca e descarta-se a contaminação aparente. Com um sistema de lavagem com vazão e pressão adequadas poderia se remover além da contaminação visível, Backes e Stefani (2013) reportaram que a contaminação visual nas carcaças não teria relação com a contagem total de mesófilos ou presença de *Salmonella* spp, ou seja, carcaças com contaminação visível não necessariamente estariam contaminadas com *Salmonella* spp. Da mesma forma, carcaças sem contaminação aparente podem estar contaminadas com *Salmonella* spp.

Franchin, Battistella e Vieira (2010) relataram que a lavagem das carcaças em conjunto com as Boas Práticas de Fabricação (BPF) e a implantação de programa de APPCC eficiente resultam em um controle microbiológico seguro. Do mesmo modo, Venturini, Sarcielli e Silva (2007) afirmaram que a lavagem de carcaças pode ser incluída como operação de rotina no processo de abate para redução da contagem microbiana.

Porém, Gill (2004) observou que tanto a lavagem quanto o refile podem não ser efetivos na redução de bactérias, pois a descontaminação sem adição de antimicrobianos não seria eficiente, sendo assim necessário que se evitasse a contaminação,

O refile demanda maior atividade dos colaboradores do setor, o que representa aumento de funcionários nesta linha e interfere no fluxo do processo, gerando manipulação extra da carcaça com a retirada das mesmas, pendura em nórea e posterior retorno ao processo, o que pode ser considerado uma desvantagem, somada a possibilidade de contaminação cruzada por possíveis descuidos higiênicos durante esta prática (DEPNER, 2014). O autor cita também que o sistema de lavagem de carcaças e a prática de refile são equivalentes do ponto de vista microbiológico, em consonância com Franchin et al. (2007), que realizou estudos semelhantes.

A contaminação fecal visível é geralmente oriunda do rompimento das vísceras e, como a lavagem é feita imediatamente após a evisceração, poderia não haver tempo suficiente para fixação das bactérias na pele das carcaças. Segundo Backes e Stefani (2013), as bactérias introduzidas na carcaça durante a evisceração seriam fracamente aderidas a pele porque o processo de aderência é condicionado ao tempo.

Além da demanda por recursos humanos, os custos do refile são ampliados pelo descarte direto da porção contaminada da carcaça. Esta parte afetada, mesmo quando pequena e bem localizada, envolve um corte maior do que o necessário em função da velocidade na execução do refile, gerando perdas que repercutem nos custos de produção. Também, toda a carcaça que sofreu refile será desclassificada para embalagem como carcaça inteira, o que pode ser considerado como mais uma desvantagem do refile em relação a lavagem de carcaças.

No presente estudo, mesmo que o lavador tenha demonstrado ação no controle de *Salmonella* spp., ocorreram resultados positivos para a bactéria após a lavagem, o que permite concluir que o lavador é uma ferramenta de controle mas não uma solução definitiva para o problema, pois mesmo com a eliminação da contaminação visual da

carcaça verificou-se a persistência do patógeno após a lavagem. Também, quanto maior a vazão de água melhor a ação do lavador, dado que somente o aumento da pressão de água do sistema de lavagem foi insuficiente na redução de *Salmonella* nas carcaças amostradas.

Desta forma podemos concluir que o sistema de lavagem tem vantagens do ponto de vista operacional ao evitar os desperdícios atribuídos à prática do refile, porém não elimina o risco da presença de *Salmonella* na carcaça de frango.

REFERÊNCIAS

ABPA 2014. Associação Brasileira de Proteína Animal. Relatório Anual UBABEF 2014. Disponível em <<http://www.ubabef.com.br/files/publicações/8ca705e70f0cb110aed67d29c8842.pdf>>. Acesso em set. 2014.

BACKES R.G. & STEFANI, L.M. 2013. Redução microbiana em carcaças de frango de corte: estudo comparativo do refile e lavagem. Anais do XIV Simpósio Brasil Sul de Avicultura, Chapecó, SC, p. 34-56. (Resumo)

BOLDER, N.M. Decontamination of meat and poultry carcasses. 1997. Trends in Food Science & Technology, n. 8, p. 221-227.

BORSOI A.; MORAES, H.L.S.; SALLE, C.T.P. & NASCIMENTO V.P.N. 2010. Número mais provável de *Salmonella* isoladas de carcaças de frango resfriadas. Ciência Rural 40:2338-2342.

BRASIL 1998. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Portaria nº 210 de 10 de novembro de 1998. Regulamento Técnico da Inspeção Tecnológica e Higiênico-sanitária de carne de aves. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 26 de novembro de 1998.

BRASIL 2003. Ministério da Agricultura Pecuária e do Abastecimento. Programa de Redução de Patógenos em Carcaças de Frangos e Perus – *Salmonella* spp. Instrução Normativa da Secretaria de Defesa Agropecuária n.70, 06 de outubro de 2003.

BRASIL 2006. Circular n°668/2006 de 19 setembro de 2006. Diretrizes para Preparação de Plano APPCC (HACCP) para o processo de abate de aves. Coordenação Geral de Programas Especiais (CGPE). Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal (DIPOA). Secretaria de Defesa Agropecuária (SDA). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Brasília, DF. 2006.

BRASIL 2011. Resolução n° 04 de 4 de outubro de 2011. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal (DIPOA). Secretaria de Defesa Agropecuária (SDA). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Diário Oficial da União, Brasília, DF, 26 de outubro de 2011.

BRYAN F.L. & DOYLE M.P. 1995. Health risks and consequences of *Salmonella* and *Campylobacter jejuni* in raw poultry. J. Food Protect. 58:323-344.

CFIA - Canadian Food Inspection Agency. Chapter 19 – Poultry Inspection Programs, 19.4 Dressing Procedures, 19.4.1.5 Application of a Water Film during Evisceration Procedures. Disponível em: <http://www.inspection.gc.ca/english/fssa/meavia/man/ch19/table19e.shtml>. Acessado em 10/07/2014.

CODEX ALIMENTARIUS. CAC/GL 78-2011. “Guidelines for the control of *Campylobacter* and *Salmonella* in chicken meat”. Disponível em: <http://www.codexalimentarius.org/standards/list-of-standards/>. Acesso em 05 de outubro de 2014.

DEPNER R.F.R., LUCCA V., POTTER L., ISOLAN L.W. & LOVATO M. 2014. Implantação da lavagem de carcaças como método de remoção da contaminação gastrointestinal nos abatedouros de aves do RS. Anais do IV AVISULAT, Porto Alegre, RS, (Resumo)

ESCUADERO-GILETE M.L., GONZALEZ-MIRET M.L. & HEREDIA, F.J. 2005. Multivariate study of the decontamination process as a function of time, pressure and quantity of water used in washing stage after evisceration in poultry meat production. J. Food Eng. 69:245-251.

FRANCHIN P.R., STEINMULLER A., DEGENHARDT R., STOFELS I., NUNES J.G., DAVILA P., NALIN G., GARZIEIRA R. & OLIARI P.J. 2007. Eficiência da lavagem de carcaças de frango com contaminação fecal aparente, comparada ao corte das áreas afetadas para redução de contagem bacteriana. *Hig. Aliment.* 21:106-111.

FRANCHIN P.R., BATTISTELLA P.M.D. & VIEIRA C.R. 2010. Evaluation of multi-sequential interventions with water to reduce microbial loading as applied to chicken carcasses during slaughtering - a review. *Worlds Poult Sci J.* 66:203-214.

GILL C.O. 2004. Visible contamination on animals and carcasses and the microbiological condition of meat. *J. Food Protect.* 67:413-419.

HUGAS M. & TSIGARIDA E. 2008. Pros and cons of carcass decontamination: The role of the European Food Safety Authority. *Meat Sci.* 78:43-52.

LILLARD H.S. 1989. Factors Affecting the Persistence of *Salmonella* during the Processing of Poultry. *J. Food Protect.* 52:829-832.

NORTHCUTT J.K. 2003. Effect of commercial bird washers on broiler carcass microbiological characteristics. *Journal Appl. Poult. Res.* 12:435-438.

SABA R.Z., BURGER K.P. & ROSSI Jr O.D. 2010. Pressão e temperatura da água de lavagem na população microbiana da superfície de carcaças bovinas. *Cienc. Rural.* 40:1987-1992.

SMITH D.P., NORTHCUTT J.K. & MUSGROVE M.T. 2005. Microbiology of Contaminated or Visibly Clean Broiler Carcasses Processed with an Inside-Outside Bird Washer. *Inter. J. Poult. Sci.* 4:955-958.

IBM Corp. Released 2011. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 20.0. Armonk, NY: IBM Corp.

THOMAS C.J. & McMEEKIN T. 1982. Effect of water immersion on the microtopography of the skin of chicken carcasses. *J. Sci. Food Agri.* 33:549-554.

USDA - United States Department of Agriculture. 1998. Food Safety and Inspection Service (FSIS). FSIS clarifies and strengthens enforcement of zero tolerance standard for visible fecal contamination of poultry. Disponível em: <http://www.fsis.usda.gov/Oa/background/zerofcl.htm?redirecthttp=true>.

VENTURINI K.S., SARCIELLI M. & SILVA L.C. Características da Carne de Frango. Boletim Técnico - PIE-UFES: 01307 - Editado: 2007.

VON RUCKERT D.A.S., PINTO P.S.A., SANTOS B.M., MOREIRA M.A.S. & RODRIGUES A.C.A. Pontos críticos de controle de *Salmonella* spp. no abate de frangos. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., v.61, n.2, p.326-330, 2009.

Tabela 1. Positividade para *Salmonella* spp. antes e após a instalação do sistema de lavagem de carcaças em cinco abatedouros sob Inspeção Federal

Abatedouro	Período de coleta de amostras	Nº de análises	Amostras positivas	Porcentagem de positividade (%)
A	Antes da instalação	613	30 ^a	4,89
	Após a instalação	509	12 ^b	2,36
B	Antes da instalação	353	24 ^a	6,79
	Após a instalação	208	21 ^a	10,09
C	Antes da instalação	123	04 ^a	3,25
	Após a instalação	136	10 ^a	7,35
D	Antes da instalação	1071	66 ^a	6,16
	Após a instalação	540	40 ^a	7,40
E	Antes da instalação	532	32 ^a	6,01
	Após a instalação	547	00 ^b	0,00

^{a,b} : Letras iguais na mesma coluna e para o mesmo abatedouro indicam valores sem diferenças estatísticas

Tabela 2. Valores de pressão e volume de água dos lavadores de carcaças instalados nos abatedouros estudados

Abatedouro	Pressão da água (Kgf/cm ²)	Vazão de água (L/carcaça)
A	4,0	1,5
B	4,5	1,0
C	16,3	1,5
D	10,0	0,4
E	3,1	1,5

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS E CONCLUSÃO

O objetivo desta tese foi analisar as características do processo de criação e do abate de frangos e suas associações com a detecção e quantificação de *Salmonella* spp. nas dezessete etapas do processamento em matadouros-frigoríficos registrados no Serviço de Inspecção Federal no Estado do Rio Grande do Sul. Os pontos determinados para coleta foram: *swabs* de cloaca; *swabs* das gaiolas antes da higienização; *swabs* das gaiolas após a higienização; frangos antes da escaldagem; frangos após a escaldagem; água da escaldagem; carcaça após a depenagem, antes da lavagem; carcaça após depenagem, depois da lavagem; carcaça após evisceração, antes da lavagem; carcaça após a lavagem final; água de abastecimento do *chiller*; água do pré-*chiller* e *chiller*; carcaça resfriada; carcaça congelada durante 24 horas; carcaça congelada durante 30 dias; carcaça congelada durante 60 dias. Além disso, foram analisados os resultados do Programa de Redução de Patógenos *Salmonella* (PRP) nos matadouros-frigoríficos de aves do Estado do Rio Grande do Sul antes e após a instalação do Sistema de lavagem de carcaças de frango conforme a Resolução 04 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) de 2011.

As características (variáveis) estudadas em cada abatedouro foram: Temperatura, pH e cloro da água de escaldagem, da água do pré-*chiller*, e *chiller*; Estação do ano; Tempo de dieta hídrica das aves; Tempo entre a apanha e o abate; Idade das aves ao abate; Número de aves abatidas no dia; Velocidade de abate; Número de lotes alojados na mesma cama do aviário; Tempo de vazio sanitário; Densidade de criação (aves/m²); Se o estabelecimento é habilitado para exportação com requisitos específicos; Se o estabelecimento possui tendência de desvios no seu plano APPCC; Se o estabelecimento possui tendência de desvios no seu plano PPHO; Tipo de evisceração (manual/automática).

Os resultados obtidos mostraram uma prevalência de 1,02% de *Salmonella* spp. sobre o total de amostras analisadas (1071); considerando que a partir de uma única unidade amostral, o *pool* de *swabs* de cloaca na coleta 1 do abatedouro B, houve o isolamento de *Salmonella* pelos dois métodos utilizados, convenciamos que nosso total de amostras positivas foram 11, por haver este duplo isolamento de uma só amostra. Já na análise da prevalência frente aos métodos utilizados, obteve-se 0,37% (4/1071) de *Salmonella* spp. através do mNMP e 0,74% (8/1071) de isolados utilizando

o método convencional. O que indica a necessidade de se utilizar simultaneamente um método de isolamento qualitativo em complementação a um método quantitativo.

Não houve diferença estatística entre a prevalência do patógeno nas diferentes etapas do processamento; e no estudo das características de criação e processo, apenas a variável tempo de vazio sanitário apresentou correlação estatisticamente significativa ($p=0,036$), inversa e moderada entre esta variável e o número de lotes positivos.

Frente aos resultados do PRP, observou-se que houve redução estatisticamente significativa ($p<0,05$) da prevalência de *Salmonella* spp. em dois dos matadouros-frigoríficos amostrados após a instalação do chuveiro de lavagem de carcaça, enquanto nos outros três ocorreu o aumento na prevalência, porém sem diferença significativa estatisticamente, podendo estar associada ao baixo número de positivos. Com isto, recomenda-se que o sistema de lavagem de carcaças seja estudado de forma mais detalhada, realizando-se testes microbiológicos qualitativos e quantitativos, testando-se também o tempo de exposição da carcaça à lavagem para obtermos dados suficientes para embasar sua regulamentação.

As limitações deste estudo foram derivadas principalmente da pequena prevalência de *Salmonella* nos pontos e carcaças amostradas. E os resultados observados podem não ser representativos para outras indústrias localizadas em outros estados brasileiros, embora as práticas de manejo sejam as mesmas de forma geral.

Com isto os resultados deste trabalho mostram que apesar da existência de diferenças entre os sistemas de processo e abate de frangos, há um denominador comum entre aqueles matadouros-frigoríficos que aplicam as normas preconizadas pelo Serviço de Inspeção Federal e conseqüentemente a divergência na detecção e quantificação de *Salmonella* pode estar em pequenos detalhes, merecendo uma atenção especial aos controles aplicados no processo de criação e manejo. Este aspecto é importante para a elaboração de novas diretrizes de fiscalização, que deverá abordar todos os elos da cadeia de produção, não se limitando apenas ao interior dos matadouros-frigoríficos.

Estes achados ajudarão para a compreensão do comportamento do patógeno *Salmonella* no processo de aves, e fornecerá informações importantes para a formulação e atualização de programas de controle de *Salmonella*, trazendo benefícios para a indústria avícola no Estado do Rio Grande do Sul.

5.1 Conclusões Finais

- O lavador de carcaça é uma ferramenta de controle, mas não uma solução definitiva para a descontaminação de carcaças;
- Quanto maior a vazão de água melhor a ação do lavador de carcaças;
- Não houve diferenças significativas na prevalência de *Salmonella* entre os estabelecimentos habilitados para mercados específicos e os habilitados para os países que aceitam a legislação de inspeção brasileira sem condições adicionais;
- Os estabelecimentos amostrados estão dentro do preconizado pela legislação brasileira, demonstrando que as diretrizes do serviço oficial conduzem a obtenção de produtos avícolas de qualidade, com baixa prevalência de *Salmonella*.
- O não embasamento do *status* sanitário de cada lote de aves encaminhado ao abate favorece a não correlação entre o resultado a campo e o obtido no momento da chegada das aves na plataforma de recepção para o abate;
- O tempo de vazio sanitário apresentou correlação com a positividade de lotes abatidos, confirmando ser esta uma importante medida de biossegurança a ser adotada.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABPA 2014. Associação Brasileira de Proteína Animal. Relatório Anual UBABEF 2014. Disponível em: <http://www.ubabef.com.br/files/publicações/8ca705e70f0cb110aed67d29c8842.pdf>. Acesso em set. 2014.

ARSENAULT, J., LETELLIER, A., QUESSY, S., NORMAND, V., BOULIANNE, M., 2007. Prevalence and risk factors for *Salmonella* spp. and *Campylobacter* spp. caecal colonization in broiler chicken and turkey flocks slaughtered in Quebec, Canada. **Prev. Vet. Med.** 81, 250-264, 2007.

BACKES, R. G. Utilização da lavagem de carcaças para redução microbiana após a evisceração de frangos de corte. 2013, 59f. **Dissertação** (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade do Estado de Santa Catarina. Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, Lages, 2013.

BAILEY, J. S.; STERN, N. J.; FEDORKA-CRAY, P.; CRAVEN, S. E.; COX, N. A.; COSBY, D. E.; LADELY, S.; MUSGROVE, M. T. Sources and movement of *Salmonella* through integrated poultry operations: a multistate epidemiological investigation. **Journal of Food Protection**, n.64, p.1690-1697. 2001.

BATZ, M. B.; DOYLE, M. P.; MORRIS, J. G.; PAINTER, J.; SINGH, R.; TAUXE, R. V.; TAYLOR, M. R.; LO FO WONG, D. M. A. Attributing illness to food. **Emerg. Infect. Disease**. N. 11, p.993-999. 2005.

BELI, E., TELO, A., DURAKU, E. *Salmonella* serovars isolated from chicken meat in Albania. **International Journal of Food Microbiology**, n. 71, p. 263-266. 2001.

BERCHIERI JÚNIOR, A.; FREITAS NETO, O. C. Salmoneloses. In: BERCHIERI JÚNIOR, A., et al. (2009). **Doenças das Aves**. Campinas: Fundação APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas (FACTA). Cap. 4.1, p. 185-195. 2009.

BILGILI, S.F.; WALDROUP, A.L.; ZELENKA, D.; MARION, J.E. Visible Ingesta on Prechill Carcasses does not affect the microbiological quality of broiler carcasses after immersion chilling. **J. Appl. Poult. Res.** n.11, p.233-238. 2002.

BLODGETT, R.J; GARTHRIGHT, W.E. Several MPN models for serial dilutions with suppressed growth at low dilutions. **Food Microbiology.** n.15, p.91-99, 1998.

BORSOI, A. **Dissertação de Mestrado:** Ocorrência, Contagem e Resistência Antimicrobiana de *Salmonella* isoladas de carcaça de frangos resfriadas e pesquisa de Salmonella em Galpões de Frangos de Corte. Porto Alegre: UFRGS, Faculdade de Veterinária, PPGCV, 2005. 78p.

BORSOI, A.; MORAES, H.L.S.; SALLE, C.T.P.; NASCIMENTO. Número mais provável de *Salmonella* isoladas de carcaças de frango resfriadas. **Ciência Rural** v.40, n.11, p.2338-2342, nov, 2010.

BOYEN, F., HAESEBROUCK, F., MAES, D., VAN IMMERSEEL, F., CATELLE, R. AND PASMANS, F. Non-typhoidal *Salmonella* infections in pigs: A closer look at epidemiology, pathogenesis and control. **Veterinary Microbiology** 130(1-2): 1-19. 2008.

BRACKETT, R.E.; SCHUMAN, J.D.; BALL, H.R.; SCOUTEN, A.J. Thermal inactivation kinetics of *Salmonella* spp. Within intact eggs heated using humidity-controlled air. **Journal of Food Protection**, v. 64, p. 934-938, 2001.

BRANCO, J. A. D. Manejo pré-abate e perdas decorrentes do processamento de frango de corte. In: Conferência APINCO de ciência e tecnologia avícolas, 2004, Santos, SP. **Anais...** Campinas: FACTA, 2004. V.2, p.129-142. 2004.

BRASIL 1998. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Portaria nº 210 de 10 de novembro de 1998. Regulamento Técnico da Inspeção Tecnológica e Higiênico-sanitária de carne de aves. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 26 de novembro de 1998.

BRASIL 2003. Ministério da Agricultura Pecuária e do Abastecimento. Programa de Redução de Patógenos em Carcaças de Frangos e Perus – *Salmonella* spp. **Instrução Normativa da Secretaria de Defesa Agropecuária n.70**, 06 de outubro de 2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n. 78, de 3 de novembro de 2003. Aprova as Normas Técnicas para Controle e Certificação de Núcleos e Estabelecimentos Avícolas como livres de *Salmonella* Galinarum e de *Salmonella* Pullorum e Livres ou Controlados para *Salmonella* Enteritidis e para *Salmonella* Typhimurium. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, Seção 1, Pág. 3. 05 de novembro de 2003.

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

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

BRASIL 2006. Circular nº668/2006 de 19 setembro de 2006. Diretrizes para Preparação de Plano APPCC (HACCP) para o processo de abate de aves. Coordenação Geral de Programas Especiais (CGPE). Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal (DIPOA). Secretaria de Defesa Agropecuária (SDA). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Brasília, DF. 2006.

BRASIL 2011. Resolução nº 04 de 4 de outubro de 2011. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal (DIPOA). Secretaria de Defesa Agropecuária (SDA).

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 26 de outubro de 2011.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Divulgação dos resultados de monitoramento microbiológico e controle de *Salmonella* spp. Em carcaças de frango e perus, conforme o programa de redução de patógenos instituído pela instrução normativa SDA/MAPA n.70/2003; 2010. **Nota Técnica**. Disponível em: <HTTP://www.agricultura.gov.br/animal/produto-final>, acesso em 10/09/2012.

BRYAN, F.L; DOYLE, M.P. Health risks and consequences of *Salmonella* and *Campylobacter jejuni* in raw poultry. **Journal of Food Protection**, v.58, n.3, p.323-344, 1995.

CAC - CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. 2007. Principles and guidelines for the conduct of microbiological risk management (MRM) CAC/GL 63-2007.

CAMARGO, M.; PIEDADE, A. R. Qualidade em agroindústrias de alimentos: *Estudo de caso sobre a prática da qualidade na empresa Céu Azul Alimentos de Itapetininga, SP*. Disponível em: <http://www.revistasapere.inf.br/index.php?option=com_content&view=article&id=7:sapere-2-2&catid=7:edicoes&Itemid=8>. Acesso em: 17 out 2012.

CAMPBELL, D.F.; JOHNSTON, R.W.; WHEELER, M.W.; NAGARAJA, K.V.; SZYMANSKI, C.D.; POMEROY, B.S. Effect of the evisceration and cooling process on the incidence of *Salmonella* in uncontrolled environments. **Poultry Science**, n.63, p.1069-1072, 1984.

CAMPOS, L.C. *Salmonella* In: TRABULSI, L.R. et al., **Microbiologia**. 5 ed. São Paulo: Atheneu, 2008. p. 329-338, 2008.

CAPITA, R.; ALVAZER-ASTORGA, M.; ALONSO-CALLEJA, C.; MORENO, B.; GARCIA-FERNANDEZ, M.C.. Occurrence of *Salmonella* in retail carcasses and their products in Spain. **International Journal of Food Microbiology**, n.81, p.169-173, 2003.

CARDINALE, E., TALL, F., GUEYE, E.F., CISSE, M., SALVAT, G., 2004. Risk factors for *Salmonella enterica* subsp. *enterica* infection in Senegalese broiler-chicken flocks. **Prev. Vet. Med.** 63, 151-161.

CARRAMIÑANA, J.J. *Salmonella* incidence and distribution of serotypes throughout processing in a Spanish poultry slaughterhouse. **Journal of Food Protection**, v.60, n.11, p.1312-1317, 1997.

CASON, J.A., & HINTON, A. Jr., Coliforms, Escherichia coli, Campylobacter, and Salmonella in a counterflow poultry scalding tank with a dip tank. **International Journal of Poultry Science**. 5:846-849. 2006.

CAVANI, R. **Tese de Doutorado**. Comparação da carga microbiana e mapeamento de salmonelas (PCR) em águas de pré-resfriamento por imersão de carcaças de frangos em diferentes jornadas de trabalho. Jaboticabal, SP. Programa de Pós Graduação de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. 2012, 129 p.

CDC-2013. Centers for Disease Control and Prevention. Subject: Reports of Selected *Salmonella* Outbreak Investigations. (2010-2013). Accessed Jun 2013. <http://www.cdc.gov.salmonella/outbreaks.html>. 2013.

COBURN, T.A.; GRASSL, G. A.; FINLAY, B.B. Salmonella, the host and disease: a brief review. **Immunology Cell Biology**. v.85, p.112-118. 2007.

CODEX ALIMENTARIUS. Code of hygienic practice for meat (CAC/RCP 58-2005). **Joint FAO/WHO Food Standards Program**, FAO, Rome. 2005.

COLLA, F. L. ; RODRIGUES, LAURA B. ; PILOTTO, FERNANDO ; DICKEL, ELCI LOTAR ; NASCIMENTO, VLADIMIR PINHEIRO DO ; SANTOS, LUCIANA RUSCHEL DOS . Miniaturized most probable number for the enumeration of *Salmonella* sp in artificially contaminated chicken meat. **Revista Brasileira de Ciência Avícola / Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 16, p. 45-48, 2014.

COOLARD, J. M.; BERTRAND, S.; DIERICK, K.; GODARD, C.; WILDEMAUWE, C.; VERMEERSCH, K.; DUCULOT, J. F. V. A. N. I.; PASMANS, F.; IMBERECHTS, H.; QUINET, C. Drastic decrease of *Salmonella enteritidis* isolated from humans in Belgium in 2005, shift in phage types and influence on foodborne outbreaks. **Epidemiological Infection**. p.1-11. 2007.

CORRY, J.E.L., ALLEN, V.M., HUDSON, W.R., BRESLIN, M.F., DAVIES, R.H., 2002. Sources of *Salmonella* on broiler carcasses during transportation and processing: modes of contamination and methods of control. **J. Appl. Microbiol.** 92, 424-432.

CORTEZ, A.L.L. **Tese de Doutorado**. Disseminação de bactérias dos gêneros *Campylobacter* e *Salmonella* em linhas de abate de aves. 80p.,Jaboticabal, SP. Programa de Pós Graduação de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. 2006, 80 p.

COX, J.M; FLEET, G.H. New directions in the microbiological analysis of foods. In: **Foodboune Microorganisms of Public Health Significance, 6th edition ed. Hocking, A.D. et al.** p,103-162. Sydney: Australian Institute of Food Science and Technology. 2003.

COX, N.A.; RICHARDSON, L.J.; CASON, J.A. Comparison of neck skin excision and whole carcass rinse sampling methods for microbiological evaluation of broiler carcasses before and after immersion chilling. **Journal of Food Protection**. N.73: p.76-980. 2010.

CUI, S.; GE, B.; ZHENG, J.; MENG, J.. Prevalence and antimicrobial resistance of *Campylobacter* spp. and *Salmonella* serovars in organic chickens from Maryland retail stores. **Applied and Environmental Microbiology**, n. 71, p. 4108-4111, 2005.

CURIALE, M. MPN Calculator, Build 23. Disponível através dos sites <http://members.ync.net/mcuriale/mpn/index.html> e <http://www.prise-pcp.org/FichiersComplementaires/cd/2006/practical-exercises/practical-exercises.html>

DAVIES, R.H.; BRESLIN, M. Observations on *Salmonella* contamination of commercial laying farms before and after cleaning and disinfection. **Veterinary Research**. v.152, p.283-287. 2003.

DICKEL, E.L. **Tese de Doutorado**: Utilização da técnica microbiológica convencional, reação em cadeia pela polimerase (PCR) e ensaio imunoenzimático (ELISA) no monitoramento de *Salmonella* em carcaças de frango para o controle higiênico-sanitário do processo de abate. 2004.. 137f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, RS. 2004.

DOMÍNGUEZ, C.; GÓMEZ, I.; ZUMALACÁRREGUI, J.. Prevalence of *Salmonella* and *Campylobacter* in retail chicken meat in Spain. **International Journal of Food Microbiology**, n. 72, p. 165-168, 2002.

DOMINGUEZ, S.A., SCHAFFNER, D.W. Survival of *Salmonella* in processed chicken products during frozen storage. **J. Food. Prot.** 72(10), 2088-92, 2009.

EC – European Cominnion. Comission Regulation N. 646/2007 of the European Parliament and of the Council of 12 June 2007 implementing Regulation (EC) N. 2160/2003 as regards a Community target for the reduction of the prevalence of *Salmonella enteritidis* and *Salmonella thyphimurium* in broilers and repealing Regulation (EC) N. 1091/2005. **Official Journal of the European Union** 2003, L 151/21. 16.06.2007.

EFSA – European Food Safety Agency. Opinion of the Scientific Panel on Biological hazards on a request from the Comission related to the use of antimicrobials for the control of *Salmonella* in poultry. **The EFSA Journal**, 115, p.1-76. 2004

EFSA – European Food Safety Authority. Analysis of the baseline survey on the prevalence of *Campylobacter* in broiler batches and of *Campylobacter* and *Salmonella* on broiler carcasses in the EU, 2008, Part A: *Campylobacter* and *Salmonella* prevalence estimates. **EFSA JOURNAL**, p.99, 2010.

EUZEBY, J.P. Revised *Salmonella* nomenclature: designation of *Salmonella enterica* (ex Kauffman and Edwards 1952) Le Minor and Popoff 1987 sp. Nov., nom. Rev. as the neotype species of the genus *Salmonella* Lignieres 1900 (Approved Lists 1980), rejection of the name *Salmonella choleraesuis* (Smith 1894) Weldin 1927 (Approved Lists 1980), and conservation of the name *Salmonella typhi* (Shroeter 1886) Warren and Scott 1930 (Approved Lists 1980). Request for an opinion. **International Journal of Systematic of Bacteriology**, p. 927-930, 1999.

FAO/WHO – Food and Agriculture Organization and World Health Organization. 2002. Risk assessment of *Salmonella* spp. In eggs and broiler chickens. **Microbiological Risk Assessment Series**, n.1 (interpretive summary) and 2. FAO, Roma, e WHO, Geneva. 2002.

FRANCHIN, P.R.; BATTISTELLA, P.M.D.; VIEIRA, C.R. Evaluation of multi-sequential interventions with water to reduce microbial loading as applied to chicken carcasses during slaughtering - a review. **World's Poultry Science Journal**, v. 66, p.203-214, 2010.

FRANZ, E.; van der FELS-KLERX, H.J.; THISSEN, J; van ASSELT, E.D. Farm and slaughterhouse characteristics affecting the occurrence of *salmonella* and *campylobacter* in the broiler supply chain. **Poultry Science**. N.91:2376-2381. 2012.

FRAVALO, P., HASCOET, Y., Le FELLIC, M., QUEGUMER, S., PETTON, J, SALVAT, G. 2003. Convenient method for rapid and quantitative assessment of *Salmonella* enteric contamination: the mini-MSRV MPN technique. **Journal of Rapid Methods and Automation in Microbiology**. 11(2): 81– 88.

FSIS/USDA. (2008). **Improvements for poultry slaughter inspection. Appendix C** – literature review of the poultry slaughter process. Disponível em: http://www.fsis.usda.gov/OPPDE/NACMPI/Feb2008/Slaughter_Appendix_C.pdf
Acessado em: 02 de novembro de 2013.

GAST, R.K. Paratyphoid Infection, In: SAIF, Y.M. *et al.* **Diseases of Poultry**, ed. 12, p.382-386, 2008.

GOODRIDGE, C.; GOODRIDGE, L.; GOTTFRIED, D.; EDMONDS, P; WYVILL, J.C. A rapid most-probable-number-based enzyme-linked immunosorbent assay for the detection and enumeration of *Salmonella* Typhimurium in poultry waste-water. **Journal of Food Protection**. n.66, p. 2302-2306, 2003.

GORDON, J.C.; MORISHITA, T.Y. Cleaning and Disinfection of Poultry Facilities. **Veterinary Preventive Medicine**, Ohio State University Fact Sheet, Columbus, 2002.

GUIBOURDENCHE, M; MIKOLEIT, P.R.M.; FIELDS, P.; BOCKEMU, J.; GRIMONT, P.A.D.; WEILL, F.X. Supplement 2003 e 2007 (N°47) to the White-Kauffmann-Le Minor scheme. **Research in Microbiology**, n. 161, p. 26-29, 2010.

HALD, T., VOSE, D., WEGENER, H.C., KOUPEEV, T., 2004. A Bayesian approach to quantify the contribution of animal-food sources to human salmonellosis. **Risk Anal.** 24, 225-269.

HANS, F., 2008. **Tese de Doutorado**: Desenvolvimento de métodos para quantificação direta de *Salmonella* sp. por PCR-tempo real e por transcriptase reversa-PCR-tempo real. 2008. 155p. Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, Universidade de São Paulo, SP.

HAMPHREY, T. J. *Salmonella*, stress responses and food safety. **Science and Society**. V.2, n.6, p.504-509. 2004.

HEYNDRIKX, M.; VANDEKERCHOVE, D.; HERMAN L.; ROLLER I.; GRIJSPEERDT, K; & De ZUTTER, L.; Routes of *Salmonella* contamination of poultry meat: epidemiological study from hatchery to slaughterhouse. **Epidemiol. Infect.** 129: 253-265. 2002.

HINTON Jr, A. Bacteria recovered from whole-carcass rinsates of broiler carcasses washed in a spray cabinet with lauric acid-potassium hydroxide. **Poultry Science**, v.8, n.11, p.1022-1027, 2009.

HOGUE, A.T.; WHITE, P. L.; HEMINOVER, J. A. Pathogen reduction and hazard analysis and critical control point (HACCP) systems for meat and poultry. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v.14, n.1, 1998. p.151-164

HUMPREY, T.; ALLEN, V. Poultry transport crate hygiene. **Food Standards Agency Project ZB 00033**. 2002.

ICMSF - INTERNATIONAL COMMISSION OF MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS. 2006. A Simplified Guide to Understanding and Using Food Safety Objectives and Performance Objectives. Disponível em: <https://www.icmsf>. Acesso em: 26 de setembro de 2011.

ISOLAN, L.W. **Dissertação de Mestrado**: Estudo da eficiência da etapa de pré-resfriamento por imersão em água no controle da qualidade microbiológica das carcaças de frango. Porto Alegre: UFRGS, Faculdade de Veterinária, PPGCV, 2007. 81p.

IZAT, A.L.; KOPEK, J.M.; MCGINNIS, J.D. Research note: incidence, number and serotypes of *Salmonella* on frozen broiler chickens at retail. **Poultry Science**, n.70, p.1438-1440, 1991.

JAMES, W.O.; WILLIAMS, W.O.; JR., PRUCHA, J.C.; JOHNSTON, R.; CHRISTENSEN, W. Profile of selected bacterial counts and Salmonella prevalence on raw poultry in a poultry slaughter establishment. **Journal of the American Veterinary Medical Association**. N.200, p.57-59. 1992.

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

LIMAWONGPRANEE, S.; HAYASHIDANI, H.; OKATANI, A. T.; ONO, K.; HIROTA, C.; KANEKO, K.; OGAWA, M. Prevalence and persistence of Salmonella in broiler chicken flocks. **J. Vet. Med. Sci.** 61 (3), p. 255-259, 1998.

MACHADO, S.C.A. Aplicação de métricas de gerenciamento de risco microbiológico (MRM) na gestão da cadeia produtiva e a importância de dados quantitativos. *In: Anais do XIII Simpósio Brasil Sul de Avicultura e IV Brasil Sul Poultry Fair* – Chapecó, p.27-32, 2012.

MACIEL, J.M.; CARVALHO, H.H.C.; WIEST, J.M.; MAJOLO, C.; FRODER, H. The effect of the chiller tank on the decrease of indicator microorganisms on poultry carcasses in two slaughterhouses in the Rio Grande do Sul state, Brazil. **International Journal of Microbiological Research** 3 (1): 07-11, 2012.

MALHEIROS, P.S.. **Dissertação de Mestrado**: Avaliação da Cinética de Crescimento, resistência ácida e resistência térmica de Salmonella Enteritidis envolvida em surtos de alimentares ocorridos no Rio Grande do Sul e comparação com outros sorovares. 2007, p. 81. Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos (PPGCTA)- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, RS.

MARIN, C.; BALASCH, S.; VEGA, S.; LAINEZ, M. Sources of Salmonella contamination during broiler production in Eastern Spain. **Preventive Veterinary Medicine**, v.98, p. 39-45. 2011.

MATA, G.M.S.C. **Dissertação de Mestrado**: Comparação de métodos para pesquisa de Salmonella sp. e Listeria sp. e avaliação microbiana e físico-química em queijo minas artesanal. 2009, p.110. – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

MEAD, G.; THOMAS, N.L. The bacteriological condition of eviscerated chickens processed under controlled conditions in a spin chilling system and sampled by two different methods. **Brazilian Poultry Science**. v.16, 517-526. 1973.

MEAD, G. Microbiological quality of poultry meat: a review. **Brazilian Journal of Poultry Science**. V.6, n.3, P. 135-142. Sep. 2004

MEAD, G.; LAMMERDING, A. M.; COX, N.; DOYLE, M. P.; HUMBERT, F.; KULIKOVSKIY, A.; PANIN, A.; NASCIMENTO, V. P.; WIERUP, M. Scientific and

technical factors affecting the setting of salmonella criteria for raw poultry: a global perspective. **Journal of Food Protection**. vol.73, n. 8, p.1566-1590, 2010.

MIKOLAJCZYK, A.; RADKOWSKY, M.. *Salmonella* spp. On chicken carcasses in processing plants in Poland. **Journal of Food Protection**, n.65, p. 1475-1479, 2002.

MOTA, C.C.S. Toxinfecção alimentar por *Salmonella enteritidis*. Relato de um surto em Curitiba – PR, Brasil/Julho de 1981. **Revista Higiene Alimentar**. Vol. 2. nº3. Setembro de 1983.

NADVORNY, A.; FIGUEIREDO, D. M. S. SCHMIDT, V. Ocorrência de *Salmonella* sp. em surtos de doenças transmitidas por alimentos no Rio Grande do Sul em 2000. **Acta Scientiae Veterinariae**, Porto Alegre, v. 32, n. 1, p.47-51, 2004.

NAMATA, H.; WELBY, S.; AERTS, M.; FAES, C.; ABRAHANTES, J. C.; IMBERECHTS, H.; VERMEERSCH, K.; HOOYBERGHS, J.; MÉROC, E.; MINTIENS. Identification of risk factors for the prevalence and persistence of *Salmonella* in Belgian broiler chicken flocks. **Preventive Veterinary Medicine**. V.90,p.211-222. 2009.

NASCIMENTO, V.P.; SILVA, A. B. Controle de qualidade de produtos de origem avícola: programas de monitorização em salmonelas. In: **Anais do IV Ciclo de Conferências da AVE**. Porto Alegre (RS), p. 33-34. 1994.

NASCIMENTO, V. P. Salmonelose aviárias: uma revisão. In: **SIMPÓSIO DE PRODUÇÃO DE MATRIZES DE CORTE, 1.**, 1995, Chapecó. Anais. Chapecó: Associação Catarinense de Avicultura, 1995. p. 51-61.

NASCIMENTO, V. P. Monitorização em *Salmonella*. **Revista Sanidade Avícola**. Porto Alegre. Disponível em <URL:<http://www.avisite.com.br>> Acesso em 10 fev. 2012.

NASCIMENTO, V.P.; SANTOS, L.R.; RODRIGUES, L.B.; LANDINEZ, M.P.; PERDONCINI, G.; SIERRA, Y.M.; BORSOI, A. Exigências internacionais na

qualidade microbiológica da carne de frangos para exportação. *In: Anais do XIII Simpósio Brasil Sul de Avicultura e IV Brasil Sul Poultry Fair* – Chapecó, p.33-38, 2012.

ONO, K; YAMAMOTO, K. Contamination of meat with *Campylobacter jejuni* in Saitama, Japan. **International Journal of Food Microbiology**. n.47, p.211-219. 1999.

PAVIC,A; GROVES, P.J.; BAILEY, G.; COX, J.M. A validated miniaturized MPN method, based on ISO 6579:2002, for the enumeration of *Salmonella* from poultry matrices. **Journal of Applied Microbiology**. n.109, p.25-34, 2010.

PIESKUS, J.; KAZENIAUSKAS, E.; BUTRIMAITE-AMBROZEVICIENE, C.; STANEVICIUS, Z.; MAURICAS, M.. *Salmonella* incidence in broiler and laying hens with the different housing systems. **The Journal of Poultry Science**, n.45, p. 227-231, 2008.

PIRES, S. M.; EVERS, E. G.; VAN PELT, W.; AYRES, T.; SCALLAN, E.; ANGULO, F. J.; HAVELAAR, A.; HALD, T. Attributing the human disease burden of foodborne infections to specific sources. **Foodborne Pathogen Diseases**. N. 6, p. 417-424, 2009.

PISSOL, A.D.; DE OLIVEIRA, D.; TONIAZZO, G.; VALDUGA, E.; CANSIAN, R. L. The effect of water pressure and chlorine concentration on microbiological characteristics of spray washed broiler carcasses. **Poultry Science Journal**. v.1, n.2, p: 63-77. 2013.

POPOFF, M. Y. Supplement 2000 (n°44) to the Kauffman-White scheme. **Rev. Microbiol.**, v.152, p. 907-909, 2001.

POPPE, C. *Salmonella* infections in the domestic fowl, p. 107-132. In WRAY; C. & WRAY, A., **Salmonella in domestic animals**. Ed. CABI, Wallingford, Oxford, 2000.

PUI, C.F.; WONG, W.C.; CHAI, L.C.; TUNUNG, R.; JEYALETCHUMI, P.; NOOR HIDAYAH, M.S.; UBANG, A.; FARINAZLEEN, M.G.; CHEAH, Y.; SON, R.

Review Article Salmonella: A foodborne pathogen. **International Food Research Journal**, v. 18, p. 465-473, 2011.

RASSCHAERT, G.; HOUF, K.; GODARD, C.; WILDEMAUWE, C.; PASTUSZCZAK-FRAK, M.; DE ZUTTER, L. (2008) Contamination of carcasses with Salmonella during poultry slaughter. **Journal of Food Protection**, 71 (1), 146-152.

RODRIGUES, A. C. A.; PINTO, P. S. A.; VANETTI, M. C. D.; BEVILACQUA, P. D.; PINTO, M. S.; NERO, L. A. Análise e monitoramento de pontos críticos no abate de frangos utilizando indicadores microbiológicos. **Ciência Rural**, v.38, n.7, p.1948-1953. 2008.

RODRIGUES, D. 2011. Perspectivas atuais e falhas no diagnóstico antigênico de *Salmonella* spp: importância no reconhecimento dos sorovares circulantes, emergentes e exóticos. Anais “**Seminário internacional sobre Salmonellosis aviar**”. ALA-UBABEF. Rio de Janeiro 28-30 de junho de 2011.

SALDIVAR, R. J. Do we really know how to clean and disinfect animal facilities? **Texas A&M University**. Texas, EUA, 2001.

SALES, R.O.; PORTO, E. Disseminação bacteriana. Principais patógenos e higienização no abate de frangos: uma revisão. **Revista Científica de Produção Animal**, v.1, p. 211-226. 1999.

SANTOS, D.M.S.; BERCHIERI JUNIOR, A.; FERNANDES, S.A.; TAVECHIO, A.T.; AMARAL, L.A. *Salmonella* em carcaças de frango congeladas. **Pesquisas Veterinárias Brasileiras**. n.20,v.1, p.39-42, jan/mar, 2000.

SARGEANT, J. M.; RAMSINGH, B.; WILKINS, A.; TRAVIS, R. G.; GAVRUS, D.; SNELGROVE, J. W. Constraints to microbial food safety policy: opinions from stakeholder groups along the farm to fork continuum. **Zoonoses Public Health**. N.54, p.177-133, 2007.

SARLIN, L.L.; BARNHART, E.T.; CALDWELL, D.J.; MOORE, R.W.; BYRD, J.A.; CALDWELL, D.Y.; CORRIER, D.E.; DELOACH, J.R.; HARGIS, B.M. 1998. Evaluation of Alternative Sampling Methods for Salmonella Critical Control Point Determination at Broiler Processing. **Poultry Science**, n.77, p.1253-1257, 1998.

SCHLUNDT, J., TOYOFUKU, H., JANSEN, J., HERBST, S.A., 2004. Emerging food-borne zoonoses. **Rev. Sci. Technol.** 23, 513-533.

SCNEPF, M.; BARBEAU, W.E. Survival of *Salmonella* Typhimurium in roasting chickens cooked in a microwave, convection microwave and convention electric oven. **Journal of Food Protection**, v.9, p. 245-252, 1989.

SHARMA, V.D. Salmonella contamination on foods of animal origin. **In: Salmonella and salmonellosis Symposium**, p. 137-138, França, 1992.

SHINOHARA, N.K., BARROS, V.B.DE, JIMENEZ, S.M.C; MACHADO, E. de. E. C. L; DUTRA, R. A. F; LIMA FILHO, J.L.de. Salmonella spp. , importante agente patogênico veiculado em alimentos. **Ciência & Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v. 13, n. 5, set/out. 2008.

SILVA, J.A. Microrganismos patogênicos em carne de frango. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, n.58, out. 1998.

STERZO, E.V.; VARZONE, J.R.M.; FERRARI, R. Salmoneloses aviarias. **Ensaio e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde**. Vol.XII, n.2, 2008.

SVS. Análise Epidemiologica dos Surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos no Brasil. Brasil, 2008. Disponível em:

<http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/surtos_dta_15.pdf>. Acesso em : nov. 2011.

TESSARI, E.N.C.; CARDOSO, A.L.S.P.; KANASHIRO, A.M.I.; STOPPA, G.F.Z.; LUCIANO, R.L.; CASTRO, A.G.M. Ocorrência de Salmonella spp. em carcaças de

frangos industrialmente processadas, procedentes de explorações industriais do Estado de São Paulo, Brasil. **Ciência Rural**. Santa Maria. V.38, n.9, p. 2557-2560, dez., 2008.

UBABEF - União Brasileira de Avicultura. Relatório Anual UBABEF 2013. Disponível

em: <<http://www.abef.com.br/ubabef/exibenoticiaubabef.php?notcodigo=3293>>

.Acesso em outubro de 2013.

USDA (United States Department of Agriculture) (2013) Progress report on Salmonella and Campylobacter testing of raw meat and poultry products, 1998-2012. http://www.fsis.usda.gov/wps/wcm/connect/8d792eef_f44d_4ccb_8e25_ef5bdb4c1dc8/Progress_Report_Salmonella_Campylobacter_CY2012.pdf?MOD=AJPERES. Acessado em 27 de julho de 2014.

VALCHEVA, R.; BELOPOPSKA, P.; MATEVA.; HRISTOVA, T.; DASKALOV. H. Distribution and serological typing of salmonella spp. Isolates from broiler carcasses in Bulgaria. **Bulgarian Journal of Veterinary Medicine**. V.14, n.1, p. 31-38. 2011.

VARNAM, A.H.; EVANS, M.G.; Foodborne Pathogens: An Illustrated text. Wolfe Publishing Ltd., London, 1991.

WARRIS, P.D.; WILKINS, L. J.; BROWN, S. N.; PHILLIPS, A. J.; ALLEN, V. Defaecation and weight of the gastrointestinal tract contents after feed and water withdrawal in broilers. **British Poultry Science**. N.45. p,61-66. 2004.

WEGENER, H. C.; HALD, T.; WONG, D. L. F.; MADSEN, M.; KORSGAARD, H.; BAGER, F.; GERNER-SMIDT, P.; MOLBAKT, K.. *Salmonella* control programs in Denmark. **Emerging Infectious Diseases**, v. 9, n.7, July 2003.

WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO. Food safety and foodborne illness. 2007. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs237/en/>>. Acesso em: janeiro de 2012.

ZHAO, C.; GE, B.; VILLENA, J.; SUDLER, R.; YEH, E.; ZHAO, S.; WHITE, D.G.; WAGNER, D.; MENG, J. Prevalence of *Campylobacter* spp., *Escherichia coli*, and *Salmonella* serovars in retail chicken, turkey, pork, and beef from the greater Washington, D.C., area. **Applied and Environmental Microbiology**, Baltimore, v. 67, n.12, p.5431-5436, 2001.