UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Programa de Pós-Graduação em Ciências dos Alimentos
Área de Bromatologia

Avaliação da influência da etapa de salga do abate
Shechita na população de *Salmonella* sp e de micro-
organismos indicadores em carcaças de frango

Maria Fernanda Paiva Tavares

Dissertação para obtenção do grau de MESTRE

Orientador:
Prof^ª. Dr^ª. Maria Teresa Destro

São Paulo
2013

Maria Fernanda Paiva Tavares

Avaliação da influência da etapa de salga do abate
Shechita na população de *Salmonella* sp e de micro-
organismos indicadores em carcaças de frango

Comissão Julgadora
da
Dissertação para obtenção do grau de Mestre

Profª Drª Maria Teresa Destro
orientador/presidente

1º. examinador

2º. examinador

São Paulo, _____ de 2013.

A Deus, pois é com a fé que tenho nele que consegui realizar mais essa trajetória na minha vida.

A minha família que desde o primeiro momento esteve ao meu lado me apoiando e sempre acreditando nos meus sonhos.

“Quem acredita sempre alcança...”.

Renato Russo

Agradecimentos

À Profª Drª Maria Teresa Destro, pela oportunidade, pela orientação, paciência, compreensão, apoio, ensinamentos, puxões de orelha e amizade.

À Profª Drª Mariza Landgraf e Profª Drª Bernadette D. G. de M. Franco pelo apoio, ensinamentos e amizade.

À Profª Drª Lina Casale Aragon Alegro, a pessoa que me mostrou o caminho da vida acadêmica, sempre com muita dedicação, carinho, confiança, apoio, ensinamentos e acima de tudo com sua amizade que vai durar para a vida toda.

Aos amigos Vinicius Buccelli Ribeiro, Matheus de Souza Barbosa, Rafael Chacon Ruiz Martinez, Verena Capuano, Maria Crystina Igarashi, Isabela Brasileiro, Vanessa Bíscola, Patrícia da Silva Malheiros e Kátia Leani por todo ensinamento, paciência, ajuda prestada, conselhos, todos terão seus lugares reservados no meu coração, principalmente por me ajudarem a viver nessa cidade doida.

Aos colegas de laboratório de microbiologia de alimentos: Adriana, Ana Carolina, Anderson, Aline, Danielle, Diogo, Fabiana, Isabela, Janaína, Kátia Leani, Lúcia, Maria Crystina, Verena, Martha, Matheus, Patrícia, Priscila, Rafael, Rita, Slavi, Vinicius pelo convívio, amizade, pelos momentos agradáveis e troca de conhecimentos.

À Cleonice, Edilson e Mônica da secretaria do departamento, pela atenção e serviços prestados.

Ao Jorge e Elaine, da secretaria de Pós-graduação, pela atenção e serviços prestados.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão de bolsa de estudo.

Aos meus pais Maristela e Luiz, por todo apoio, incentivo, confiança e principalmente pelo amor.

Ao meu melhor amigo, companheiro e noivo Renato que mesmo longe me deu todo apoio, carinho, paciência e amor.

Aos meus irmãos Luiz Gustavo e João Vitor pelo apoio, amor e pela paciência.

As minhas amigas/irmãs Giulia Macarini e Camila Udiara que sonhadoras como eu saíram de Londrina e foram viver a loucura de São Paulo, sempre estando presente em todos os momentos da minha trajetória em São Paulo, sendo as melhores companhias dos finais de semana e feriados.

As minhas amigas Natália Ferraz, Paula Cordeiro, Adriele Massaro e Laís Bogo que mesmo longe sempre estiveram do meu lado me apoiando.

Enfim, espero que todos se sintam agradecidos. E se por acaso acabei injustamente esquecendo de citar alguém, peço desculpas e expresso o meu mais profundo agradecimento a você.

Sumário

LISTA DE FIGURAS	iii
LISTA DE TABELAS	iv
RESUMO	v
ABSTRACT	vi
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVO	15
3. MATERIAL E MÉTODOS	16
3.1 Obtenção de amostras	16
3.2 Preparo das amostras	17
3.3 Detecção e enumeração de <i>Salmonella</i> spp.	17
3.3.1 Detecção de <i>Salmonella</i> spp.	17
3.3.2 Enumeração de <i>Salmonella</i> spp.	20
3.4 Enumeração das populações de enterobactérias	22
3.5 Simulação do <i>melichah</i> em laboratório	23
3.5.1 Preparo do inóculo	23
3.5.2 Contaminação dos cortes de aves	24
3.6 Análise do teor de sódio (Na ⁺)	26
3.7 Análise estatística	27
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
4.1 Detecção e enumeração de <i>salmonella</i> spp.	30

4.2 Simulação do <i>melichah</i> em laboratório	33
4.3 Enumeração das populações de enterobactérias	35
4.4 Análise do teor de sódio (Na ⁺)	36
5. CONCLUSÃO	38
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	39

LISTA DE FIGURAS

		pg.
Figura	Representação esquemática do abate convencional e Shechita para	
1.	obtenção de carne de aves com indicação dos pontos de coleta das	
	carcaças de frango analisadas no presente	
	estudo.....	11
Figura	Representação esquemática das diferentes etapas envolvidas na	
2.	detecção de Salmonella spp. nas carcaças de frangos analisadas	
	neste estudo (método ISO	
	6579:2002).....	19
Figura	Representação esquemática das diferentes etapas envolvidas na	
3.	enumeração das populações de Salmonella spp. nas carcaças de	
	frangos analisadas neste estudo (método ISO/TS 6579-2:2002	
	(E)).....	21
Figura	Representação esquemática das diferentes etapas envolvidas na	
4.	enumeração das populações de enterobactérias presentes nas	
	amostras de carcaças de frangos analisadas neste	
	estudo.....	23
Figura	Representação esquemática da simulação do melichah realizada em	
5.	laboratório	26

LISTA DE TABELAS

	pg.
Tabela 1. Padrões e ciclos de amostragem para <i>Salmonella</i> em carcaças de frango nos EUA, EU e Brasil.....	8
Tabela 2. Valores médios obtidos para o peso (Kg) e a temperatura (°C) das carcaças de frango obtidas em cada um dos períodos de amostragem.....	29
Tabela 3. Populações (NMP/g) médias de <i>S. Typhimurium</i> , <i>S. Enteritidis</i> e <i>S. Infantis</i> obtidas em diferentes etapas, através da simulação do <i>melichah</i> em laboratório.....	34
Tabela 4. Valores obtidos para a análise de teor de sódio (Na ⁺) em sobrecoxa de frango <i>kosher</i> simulado em laboratório.....	37

RESUMO

TAVARES, M.F.P. **Avaliação da influência da etapa de salga do abate *Schechita* na população de *Salmonella* sp e de micro-organismos indicadores em carcaças de frango.** 2013. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, 2013.

Um importante micro-organismo causador de doenças de origem alimentar, presente em animais e no homem, é a *Salmonella* spp. Sua presença no intestino, na pele e entre as penas das aves pode levar à contaminação das carcaças no momento do abate. Pode ocorrer também a contaminação do próprio ambiente de abate, dos manipuladores além da contaminação cruzada entre os animais. Apesar de o Brasil ser um grande produtor de aves, pouco se sabe sobre a influência de abates realizados sob preceitos religiosos na qualidade microbiológica das carcaças produzidas. Dentre os abates religiosos está o abate *Schechita* que se diferencia do abate convencional pela não realização da escalda antes da depenagem das aves, bem como a utilização do *melichah* – que tem como uma de suas etapas a aplicação a seco de cloreto de sódio nas carcaças, seguida de sua lavagem. O presente estudo tem por objetivo avaliar a influência do *melichah* sobre a ocorrência de *Salmonella* e sobre a população de enterobactérias em carcaças de frangos. Para tanto, foram avaliadas 318 carcaças de aves, sendo 159 obtidas antes da etapa de salga e 159 após a dessalga, coletadas em um abatedouro sob fiscalização do Serviço de Inspeção Federal do MAPA. As carcaças foram submetidas ao enxágue com solução salina e o caldo resultante transportado ao laboratório da FCF-USP para análise. Também se determinou o peso das carcaças; aferiu-se a temperatura das mesmas e o teor de cloro livre na água do tanque de dessalga. A detecção da presença de *Salmonella* spp. foi realizada conforme a metodologia ISO 6579:2002, enquanto que sua enumeração foi realizada segundo a técnica do Número Mais Provável Miniaturizado (ISO/TC 34/SC 9, N 988, 2009). A enumeração de enterobactérias foi realizada empregando-se placas de Petrifilm EB (3M®) incubadas a 37°C/ 24h, segundo recomendação do fabricante. *Salmonella* spp. foi encontrada em somente uma (0,6%) amostra de carcaça antes da salga. Nessa amostra a população do patógeno foi de 41 NMP/g e a de enterobactérias foi de 4 log UFC/g. A população média de enterobactérias nas amostras foi de 3,21±0,79 log UFC/g antes da salga e de 3,15±0,63 log UFC/g após a salga, indicando que não houve diferença significativa ($p<0,05$) entre ambas. Na simulação do *melichah* em laboratório observou-se que a redução do patógeno foi significativa, mostrando a influência da etapa de salga sobre esse micro-organismo.

Palavras-chave: *Salmonella* sp, kosher, enterobacterias, *melichah*.

ABSTRACT

TAVARES, M.F.P. **Evaluation of the influence of salting step of *Shechita* slaughter in the detection of *Salmonella* sp and indicator microorganism in chicken carcasses.** 2013. Dissertação (Mestrado) – Faculty of Pharmaceutical Science, University of São Paulo, 2013.

Salmonella spp is an important foodborne pathogen for animals and human beings. The microorganism is found in the intestine, skin, and bird's feathers and is able to contaminate carcasses during slaughtering process. The environmental contamination, as well the food handlers, and cross contamination with animals are also possible. Although Brazil is a major poultry producer, little is known about the influence of slaughter performed under religious precepts on the microbiological quality of the produced carcasses. Among the religious slaughters, the *Schechita* is different from the conventional ones due to the performance of the scalding step before poultry defeathering, and also due to the use of *melichah*, by which sodium chloride is applied on the carcasses, followed by a washing procedure. The present study aims to evaluate the influence of *melichah* on the occurrence of *Salmonella* and on the enterobacteria populations in chicken carcasses. A total of 318 poultry carcasses were evaluated – 159 were obtained before salting step and 159 after it, all collected from a slaughterhouse monitored by the Federal Inspection Service of MAPA. The carcasses were rinsed with sodium chloride solution and this solution was taken to the laboratory of FCF-USP for analysis. The carcasses were weighed, their temperature was assessed and the amount of free chloride in the desalting tanks water was determined. The detection of *Salmonella* was done according to the methodology ISO 6579:2002, whereas its enumeration was performed by the use of the Miniaturized Most-Probable-Number technique (ISO/TC 34/SC 9, N 988, 2009). The enumeration of enterobacteria populations was done by the use of Petrifilm EB (3M®) and incubation at 37°C/ 24h, according to the manufacturer instructions. *Salmonella* spp. was found in only one sample (0.6%) of a carcass before salting step. In this sample, the pathogen population was determined as 41 MPN/g, whereas the counts obtained for enterobacteria were 4 log CFU/g. The average enterobacteria populations found in the samples were 3.21±0.79 log CFU/g before salting and 3.15±0.63 log CFU/g after it, indicating that there was not a statistically significant difference between them ($p < 0.05$). During *melichah* simulation done in the laboratory, the reduction in the pathogen counts observed was significant, which demonstrates the influence of the salting step on this microorganism.

Key-words: *Salmonella* sp, kosher, enterobacterias, *melichah*.

1. INTRODUÇÃO

Salmonella spp. é uma bactéria entérica responsável por graves infecções de origem alimentar e está amplamente difundida na natureza, sendo um dos principais agentes envolvidos em surtos registrados em vários países. Observa-se que a partir da década de 70 tem ocorrido um aumento acentuado e contínuo do número de casos vinculados a determinados sorotipos os quais variam geograficamente (Maijala et al., 2005; Cardoso & Tessari, 2008).

As bactérias do gênero *Salmonella* pertencem à família Enterobacteriaceae. São bastonetes Gram-negativos, não formadores de esporos, anaeróbios facultativos, produtores de catalase mas não de oxidase; não fermentam lactose, sacarose ou salicina, porém a glicose e outros monossacarídeos podem ser fermentados com produção de gás, reduzem nitrato a nitrito e não produzem citocromo oxidase (Holt et al., 1994; Koneman et al., 1997; Forbes et al., 2002; Martínez, 2006). A maioria das bactérias do gênero *Salmonella*, com exceção da *Salmonella* Gallinarum e *Salmonella* Pullorum, são móveis através de flagelos peritríquios (Holt et al., 1994).

As salmonelas são mesófilas, sendo 35 °C a 37 °C a temperatura ótima para o seu desenvolvimento. No entanto, alguns sorovares são capazes de se multiplicar em temperaturas mais elevadas (≤ 54 °C), enquanto outros têm propriedades psicotróficas, podendo se multiplicar em temperaturas de refrigeração de 2 °C (24h - 48h) a 4 °C (≤ 10 dias). São sensíveis ao calor e são destruídas a 60 °C, em 15-20 minutos (D'Aoust & Maurer, 2007; Ferreira & Campos, 2008).

Como verificado também para outros micro-organismos, a atividade de água (a_w) afeta diretamente o desenvolvimento desse patógeno. Embora o

limite mínimo de a_w para o seu desenvolvimento seja de 0,94, sua sobrevivência pode ocorrer por períodos superiores a um ano em alimentos que possuem baixo valor de a_w , como chocolate, pimenta do reino, manteiga de amendoim e gelatina em pó. O pH ótimo para o seu desenvolvimento é ao redor da neutralidade (6,5 - 7,5), sendo que valores de pH acima de 9,0 e abaixo de 4,0 são geralmente bactericidas. Os efeitos bactericidas ou bacteriostáticos do pH dependem da natureza química do ácido, utilizado para a acidificação. Entre ácidos orgânicos, os ácidos acético e propiônico são mais inibitórios do que os ácidos láctico e cítrico, comumente empregados na acidificação de alimentos. As salmonelas são capazes de se adaptar ao pH ácido, sobrevivendo bem nessas condições. Essas bactérias não toleram concentrações de sal superiores a 9,0%, porém há estudos que mostram que alguns sorotipos de *S. enterica* são capazes de se adaptar a mudanças na pressão osmótica do ambiente (Foster & Spector, 1995; Winfield & Groiman, 2003). O nitrito é inibitório e seu efeito é acentuado pelo pH ácido (D' Aoust & Maurer, 2007; Jay, 2005; Holt et al., 1994).

O gênero *Salmonella* é composto por duas espécies: *S. enterica* e *S. bongori*. Cerca de 2.610 sorovares estão relacionados à espécie *S. enterica*, sendo 1.547 *S. enterica* subsp. *enterica*, 513 *S. enterica* subsp. *salamae*, 100 *S. enterica* subsp. *arizonae*, 341 *S. enterica* subsp. *diarizonae*, 73 *S. enterica* subsp. *houtenae*, 13 *S. enterica* subsp. *indica*, e a espécie *S. bongori* apresenta 23 sorovares (Guibourdeche et al., 2010). Em 2004 foi proposta a inclusão de uma terceira espécie denominada *S. subterranea*, isolada de sedimento coletado na região aquífera de Oak Ridge nos Estados Unidos que apresenta 96,4% de similaridade com a *Salmonella bongori* e 96,3% de

similaridade à *Enterobacter cloacae*, porém de acordo com o WHO Collaborating Center for Reference and Research on *Salmonella*, esta espécie pertence ao gênero *Salmonella*, tendo sido inserida como pertencente a espécie bongori (Shelobolina et al., 2004; D'Aoust & Maurer, 2007; Grimont & Weill, 2007).

A sorotipagem de acordo com o esquema de classificação Kauffman-White é um método amplamente utilizado para a caracterização inicial dos isolados de *Salmonella* e baseia-se na variabilidade antigênica dos antígenos somáticos (O), de natureza polissacarídica e presentes na parede celular do micro-organismo, flagelares (H) de natureza proteica e antígenos capsulares (Vi) de natureza polissacarídica (Popoff & Le Minor, 2005; Bale et al., 2007; Grimont & Weill, 2007; Loureiro et al., 2010).

A ocorrência de enfermidades transmitidas por alimentos (ETA) vem aumentando de modo significativo em todo o mundo, devido a vários fatores incluindo o crescente aumento das populações, a existência de grupos populacionais vulneráveis ou mais expostos, o processo de urbanização desordenado e a necessidade de produção de alimentos em grande escala (EFSA, 2007). Entre as ETA, as salmoneloses são as mais importantes, sendo consideradas um problema de saúde pública, onde os surtos causados por esse grupo de micro-organismos vêm aumentando consideravelmente no mundo todo. Nos Estados Unidos, estima-se que ocorram cerca de 42.000 casos de salmonelose por ano envolvendo surtos de ETA em humanos. Entre os anos de 2008 e 2012, os surtos de salmonelose naquele país foram causados por diversos tipos de alimentos, como ovos, carne moída, frango

kosher, atum, manteiga de amendoim, melões cataloupes, pimentas vermelha e preta e hambúrguer de peru (United States, 2012). Já na União Européia foram relatados 99.020 casos de salmonelose em 2010 (EFSA, 2012) e no Brasil entre 2000 e 2011 foram identificados 1.660 surtos causados por *Salmonella*, sendo que 19 deles ocorreram no ano de 2011 (Brasil, 2011).

As síndromes causadas por *Salmonella* em humanos podem ser divididas em três grupos de acordo com o quadro clínico apresentado: febre tifóide causada por *S. Typhi*; febres entéricas (ou paratifóides), causadas por *S. Paratyphi* (A, B, C) e enterocolites e/ou salmoneloses, causadas pelas demais *Salmonella* spp. (Jay, 2005).

- a) Febre tifóide: só acomete humanos e, normalmente, é causada pela ingestão de água e alimentos contaminados com o material fecal humano. De gravidade variável, os sintomas aparecem, em geral, em 14 dias e são caracterizados por septicemia, febre alta, diarreia, vômitos, letargia, dor abdominal, cefaléia e erupções cutâneas, apresentando duração de uma a oito semanas e taxa de letalidade em torno de 10%. Alguns indivíduos podem se tornar portadores, excretando a bactéria durante meses (Jay, 2005; Franco & Landgraf, 2008).
- b) Febre entérica: é muito semelhante à febre tifóide, embora os sintomas clínicos sejam mais brandos (Franco & Landgraf, 2008). Geralmente ocorre septicemia, febre, vômitos e diarreia, com duração máxima de três semanas. Também acomete seres humanos, sendo igualmente transmitida pela ingestão de água e alimentos contaminados (Jay, 2005).
- c) Enterocolites e/ou salmoneloses: são as infecções de origem alimentar mais frequentes (Laconcha et al., 2000; Lopalco, et al., 2000). Os sintomas da infecção em humanos surgem entre 12 a 14 horas após a ingestão do alimento contaminado e incluem

náuseas, vômitos, diarreias, dores abdominais, dor de cabeça e calafrios. Esses sintomas são geralmente acompanhados por fraqueza, fadiga muscular, febre moderada e sonolência, os quais persistem por 2 a 3 dias (Jay, 2005).

De modo geral, a salmonelose é uma infecção de baixa mortalidade, porém de alta morbidade, constituindo um importante problema socioeconômico em vários países do mundo, principalmente nos desenvolvidos. Segundo Jay (2005), o índice de mortalidade está diretamente relacionado com a idade do indivíduo infectado: 5,8% no primeiro ano de idade, 2% entre 1 a 50 anos e 15% entre pessoas com mais de 50 anos. Em média 4,1% dos indivíduos envolvidos vão a óbito. Dados do United States (2012) referem que o grau de mortalidade da febre tifoide é de 10%, comparado com menos de 1% com as demais salmoneloses.

Dentre os sorovares mais frequentemente encontrados nos EUA destacam-se: *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium* e *S. Newport* (United States, 2010). Particularmente no Brasil, a maior frequência de isolados em aves pertence às espécies *S. Enteritidis* e *S. Typhimurium* (Silva & Duarte, 2002). A importância da *Salmonella* como patógeno humano tem se tornado ainda maior devido ao surgimento de isolados multirresistentes a antibióticos de importância clínica. Apesar de não haver consenso, esses isolados parecem ter sido selecionados pelo uso indiscriminado de antibióticos em doses sub-terapêuticas, como promotores de crescimento ou agentes profiláticos, na produção intensiva de animais (Ângulo et. al., 2000; Swartz, 2002; Antunes et. al., 2003; D'Aoust, 2007).

O habitat da maioria dos sorovares de *Salmonella* é o trato gastro-intestinal de animais, como mamíferos, répteis e até mesmo insetos, porém as aves são um dos mais importantes reservatórios capaz de introduzir a *Salmonella* na cadeia alimentar humana (Cardoso & Tessari, 2008). Alguns sorovares têm seu habitat limitado, sendo denominados hospedeiros específicos, como os sorovares Typhi e Paratyphi A para seres humanos, Abortusovis para ovelhas, Gallinarum e Pullorum para aves e Choleraesuis para suínos (Loureiro et al., 2010). A partir do trato gastro-intestinal de animais, a *Salmonella* pode contaminar o ambiente, as águas e os alimentos. *Salmonella* é o patógeno mais frequentemente encontrado em carne de aves, ovos e suínos (Bailey et al., 2010).

A transmissão de *Salmonella* pode ocorrer de várias formas e, portanto, sua epidemiologia é bastante complexa (Hinton, 1988). Acredita-se que a *Salmonella* Enteritidis seja transmitida verticalmente de ovários e ovidutos infectados para os ovos de frangas de postura. Outra via proposta é a contaminação da casca do ovo com o micro-organismo, pelo contato com as fezes quando o ovo passa pela cloaca (Mine, 2005).

Segundo Kottwitz et al. (2008), a capacidade de transmissão transovariana e horizontal de *S. Enteritidis* para os ovos resultou em ampla disseminação e persistência desse sorovar na indústria avícola. Como a *Salmonella* é excretada nas fezes, o micro-organismo é facilmente disseminado no ambiente.

A transmissão horizontal ocorre geralmente por via fecal-oral pelo consumo de água e ingestão de ração contaminadas (Jay, 2005). As rações e suas matérias primas, principalmente as de origem animal, apresentam quase

sempre, elevadas taxas de contaminação por *Salmonella* sp. Gama, Berchieri Jr. e Fernandes (2003) isolaram *Salmonella enterica* cepa rugosa em fezes de poedeiras comerciais e atribuíram a infecção ao consumo de ração contaminada.

As aves infectadas podem excretar 10^8 células de *Salmonella* por grama de fezes (Bryan & Doyle, 1995), sendo que o micro-organismo pode infectar além do próprio lote de aves, lotes vizinhos sem que os animais apresentem sintoma da doença (Pereira et al. 1999).

A presença de *Salmonella* spp. no intestino, na pele e entre as penas das aves pode causar contaminação das carcaças no momento do abate e de seu processamento. Além disso, pode ocorrer a contaminação do próprio ambiente de abate, dos manipuladores ou mesmo contaminação cruzada com outras aves (Humphrey et al., 1988).

O ambiente de abate pode ser uma fonte importante na disseminação de *Salmonella*, pois uma vez instalada a contaminação pelo micro-organismo na indústria, a remoção é dificultada devida à sua capacidade em formar biofilmes (Joseph et al., 2001), e de se multiplicar a baixas temperaturas (D'Aoust, 1991).

O *Food Safety and Inspection Service* (FSIS) dos EUA publicou, em 1996, o Programa de Redução de Patógenos e de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) para a indústria avícola. O Programa estabeleceu quatro requisitos: 1. desenvolvimento, descrição e implementação de procedimentos de operação e padrões de sanitização (PPHO); 2. testes regulares de amostras para verificar a adequação dos processos de controle, prevenção e remoção de contaminação fecal; 3. estabelecimento de padrões

de redução de *Salmonella* e 4. desenvolvimento e implantação de sistema de APPCC. Nesse programa foi estabelecida a tolerância para *Salmonella* em carcaças de frango no país, com aceite de 12 positivas (20%) para 51 carcaças analisadas (Tabela 1) (Billy, 2002).

Em nosso país o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento do Brasil (MAPA) estabeleceu, em 2003, um plano pioneiro chamado “Programa de Redução de Patógenos – Monitoramento microbiológico e controle de *Salmonella* spp. em carcaças de frangos e perus” (IN 70) (Brasil, 2003) com o objetivo de realizar um monitoramento constante do nível de contaminação por esse patógeno em estabelecimentos de abate de aves. Nesse programa a cada 51 carcaças analisadas quanto à presença de *Salmonella*, se aceita 12 carcaças positivas ou 20% de positividade (Tabela 1).

A União Européia também possui um programa de avaliação de *Salmonella* em carcaças de frango, porém com tolerância menor a contaminação, sendo que de 50 carcaças analisadas, sete (14%) podem se mostrar positivas (Comunidade Econômica Européia – CEE, 2007) (Tabela 1).

Tabela 1. Padrões e ciclos de amostragem para *Salmonella* em carcaças de frango nos EUA, UE e Brasil.

País	Padrão (% de amostras positivas para <i>Salmonella</i>)	Número de amostras testadas por ciclo	Número máximo de amostras positivas aceitável
EUA ¹	20	51	12
UE ²	14	50	7
Brasil ³	20	51	12

Fontes: ¹Billy (2002); ²CEE (2007); ³Brasil (2003b).

Os resultados obtidos pelo Programa Nacional de Monitoramento da Prevalência e da Resistência Bacteriana em Frango no Brasil (PREBAF), um programa coordenado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária, mostram que de 2004 a 2006, 3,03% das 2710 carcaças obtidas no varejo de diversos estados apresentaram o patógeno. Um total de 250 cepas foi submetido à análise de caracterização antigênica, chegando-se a 18 sorovares isolados, destacando-se maior frequência para *S. Enteritidis* (48,8% das cepas), seguindo de *S. Infantis* (7,6%), *S. Typhimurium* (7,2%), *S. Heidelberg* (6,4%), *S. Mbandaka* (4,8%) e 15 (5,2%) cepas caracterizadas como *Salmonella* sp. (ANVISA, 2008).

Estudo realizado na Europa entre outubro de 2005 e setembro de 2006 em frangos de corte, três semanas antes do abate, mostrou uma prevalência média de 23,7% de aves positivas para *Salmonella* (EFSA, 2007).

Arsenault et al. (2007) estudaram a incidência e os fatores de risco associados à *Salmonella* em 82 lotes de frangos de corte de quatro abatedouros do Canadá, tendo sido analisadas 30 aves por lote. Os autores verificaram que o patógeno estava presente em 21,2% das carcaças analisadas, e que o principal fator de risco foi a presença da bactéria no intestino dos animais.

Entre 1998 e 2003, White et al. (2007) analisaram 47.090 amostras de carcaças de frango relacionadas com o programa americano de redução de patógenos, e destas, 5.251 (11,2%) foram positivas para *Salmonella*.

Alguns abates de animais seguem preceitos religiosos, sendo os mais conhecidos o abate *Shechita*, o *Halal* e o *Jhatka*.

O abate *Halal* é utilizado para obtenção de carne para pessoas da fé islâmica, e o animal é sacrificado através de um corte único na traqueia e, no caso das aves, emprega-se a etapa de escaldagem das carcaças; o *Jhatka* que realiza a decapitação do animal através de um único golpe de espada ou machado para a retirada total de sua cabeça, é realizado para obter carne para os devotos do siquismo; já o *Shechita* é realizado para pessoas que seguem o judaísmo (Gomide et al., 2006).

No abate *Shechita* o atordoamento das aves antes da degola não é permitido sendo que cada animal é decapitado de forma manual pelo *shochet*, pessoa devidamente treinada e qualificada, que corta as duas artérias carótidas e as veias jugulares com uma faca devidamente afiada (*chalaf*). A ave é então pendurada de cabeça para baixo para que ocorra a sangria (Barnett et al., 2007).

Diferentemente do processo convencional e dos outros tipos de abate para obtenção da carne, no abate *Shechita* além de não ocorrer a insensibilização do animal também não é realizada a etapa de escalda antes da depenagem. Isso pode levar a uma remoção menos efetiva das penas, pois essa etapa é realizada à seco além de causar uma maior necessidade de manipulação das aves. Outra diferença é a realização de cortes adicionais nas asas e no pescoço para a drenagem de sangue. Adicionalmente, no abate *Shechita* é realizado um processo religioso, feito por um rabino, conhecido como *melichah* que consiste na imersão da carcaça em água por 30 minutos, seguida por salga a seco com sal grosso de granulometria definida, o qual

permanece em contato com as carcaças durante uma hora à temperatura ambiente; a seguir, as carcaças são submetidas a três imersões consecutivas em água (Regenstein e Chaudry, 2001; Roça, 2002). O *melichah* ocorre logo após a saída das carcaças do *chiller*. O produto assim obtido é denominado *kosher*.

Na Figura 1 estão apresentadas as representações esquemáticas dos abates convencional e *Shechita*.

Figura 1. Representação esquemática do abate convencional e *Shechita* para obtenção de carne de aves com indicação dos pontos de coleta das carcaças de frango analisadas no presente estudo

Assim como nos abates convencionais, os abates religiosos também estão sujeitos às regulamentações do MAPA, obedecendo aos mesmos padrões de qualidade (Brasil, 1998). Entretanto, face à escassez de estudos

sobre o assunto, não se pode afirmar que essas carcaças apresentam, ou não, qualidade microbiológica equivalente às produzidas pelas práticas constantes na portaria nº 210 do MAPA (Brasil, 1998).

Estudos relacionados com o abate *Shechita* indicam que a salga após a sangria pode ser benéfica para a qualidade microbiológica do produto. Hajmeer et al. (1999) observaram que a aplicação de cloreto de sódio em carcaça bovina proveniente de abate *Shechita* é capaz de reduzir a contaminação bacteriana por *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, coliformes e micro-organismos aeróbios. Já no estudo conduzido por Oscar (2007) concluiu-se que a salga associada ao enxágüe reduz a persistência de *Salmonella* sp. na pele de frangos. Nesse trabalho verificou-se ainda que a persistência é sorotipo-dependente, com *Salmonella* Typhimurium e *Salmonella* Kentucky apresentando comportamentos semelhantes, e *Salmonella* Hadar sendo o sorotipo mais sensível.

Segundo Regenstein e Regenstein (2001) o processo de imersão em água e salga do abate *Shechita* mostra-se positivo sobre os patógenos presentes na carne. O *United States Department of Agriculture* (USDA) (apud Regenstein; Regenstein, 2001) reconheceu que esse processo reduz a frequência de *Campylobacter* sp. Porém, atualmente são poucos os estudos que avaliam a influência dos abates religiosos nas populações de micro-organismos em carcaças de animais.

Em carcaças de frangos, identificam-se três grupos de micro-organismos que podem constituir a população microbiana: aqueles pertencentes à microbiota inicial da pele da ave; aqueles pertencentes à microbiota transitória,

que podem estar na pele e nas penas no momento do abate; e aqueles adquiridos durante o processo de abate (ICMSF, 2005). Essa contaminação microbiana consiste principalmente de bactérias mesófilas, sendo os gêneros mais comumente encontrados: *Achromobacter*, *Aerobacter*, *Alcaligenes*, *Bacillus*, *Corynebacterium*, *Escherichia*, *Flavobacterium*, *Lactobacillus*, *Micrococcus*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Listeria*, *Campylobacter* e *Salmonella* (Tompkin, McNamara e Acuff, 2001).

Uma maneira de se avaliar a eficiência de um processo na redução da microbiota de um alimento e avaliando-se a presença de micro-organismos indicadores. Micro-organismos indicadores são bactérias utilizadas para refletir a qualidade microbiológica dos alimentos em relação à sua vida útil ou à segurança, indicando a possível presença de patógenos alimentares (Jay, 2005).

Os principais micro-organismos indicadores da qualidade higiênico sanitária de alimentos são as enterobactérias, que são bacilos gram-negativos, estão amplamente distribuídos no ambiente, estando também presentes no trato intestinal de animais de sangue quente. Não são formadores de esporos; são capazes de fermentar a lactose com produção de gás e se multiplicam em meios com sais biliares. Dentro deste grupo encontram-se os micro-organismos pertencentes aos gêneros *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Edwardsiella*, *Hafnia*, *Salmonella*, *Serratia*, *Proteus*, *Morganella*, *Providencia*, *Yersinia*, *Erwynia* e *Klebsiella* (Quinn et al., 2005; Ferreira et al., 2008). Porém, alguns representantes desse grupo como *Citrobacter*, *Klebsiella* e *Enterobacter* não têm como habitat primário o trato gastro-intestinal de animais de sangue

quente, podendo ser encontrados, não apenas nas fezes como também em outros ambientes como vegetais e solo onde são capazes de persistir por um período superior ao de bactérias patogênicas de origem intestinal como *Salmonella* e *Shigella*.

A contagem total dos micro-organismos mesófilos também é utilizada para avaliação da qualidade higiênico-sanitária do produto, aceitabilidade organoléptica, adesão do abatedouro às boas práticas de fabricação e, também, como um indicador da segurança microbiológica do alimento. Populações elevadas desses micro-organismos em um estabelecimento podem indicar sanitização inadequada, bem como problemas no controle de processo ou de ingredientes (Morton, 2001).

2. OBJETIVO

Avaliar a influência da etapa de salga (*melichah*) do abate *Schechita* na população de *Salmonella* spp. e de micro-organismos da família *Enterobacteriaceae*.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Obtenção de amostras

Um total de 318 amostras de carcaça de frango foram coletadas entre os meses de Março e Novembro de 2011 em um abatedouro localizado na cidade de São Paulo. Esse estabelecimento realiza, em média, o abate do tipo *Schechita* de 2000 aves por dia, sob inspeção do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

As carcaças de frango foram coletadas imediatamente antes da etapa de salga do *melichah*, após a imersão em água (Ponto 1) e após dessalga completa das carcaças (Ponto 2), tendo sido coletadas 159 amostras em cada ponto. Na figura 1 pode-se verificar os pontos do processo onde foram realizadas as coletas.

A coleta de amostras foi realizada pela técnica de enxágue, de acordo com Miyagusku et al. (2003). As carcaças foram acondicionadas em embalagens plásticas contendo 500 mL de solução salina esterilizada (NaCl 0,85% p/v), sendo a seguir massageadas durante 2 minutos, retornando imediatamente à linha de processamento. O caldo obtido foi transportado ao Laboratório de Microbiologia de Alimentos da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP em caixa isotérmica contendo gelo reciclável.

Todas as carcaças amostradas foram pesadas e tiveram suas temperaturas aferidas com a utilização de termômetro tipo espeto imediatamente depois retornadas para a linha de abate. Além disso, em todas as coletas foi verificada a temperatura da sala de salga, pela leitura de termômetro do próprio frigorífico localizado na região externa da sala. Também

foram registrados os níveis de cloro e pH da água utilizada nos tanques de dessalga, os quais são empregados como controle interno da empresa.

3.2. Preparo das amostras

As amostras obtidas no item 3.1 foram transferidas para frascos esterelizados (Nalgene[®]) e centrifugadas por 15 min a 1000 xg na temperatura de 5 °C (Centrífuga Sorvall Instruments, RC-5B, rotor GSA, Dupont, EUA). O sobrenadante foi desprezado e o *pellet* foi ressuspendido em 50 mL de solução salina (NaCl 0,85% p/v).

3.3. Detecção e enumeração de *Salmonella* spp.

3.3.1. Detecção de *Salmonella* spp.

A detecção da população de *Salmonella* spp. foi realizada empregando-se a metodologia indicada na ISO 6579:2002 com modificações.

Alíquotas de 1 mL das suspensões obtidas foram pré-enriquecidas em 9 mL de água peptonada tamponada (APT) e incubada a 37 °C por 18 h. Após esse período, foi realizado o enriquecimento seletivo onde 0,1 mL do cultivo foram adicionados a 10 mL de caldo Rappaport-Vassiliadis (caldo RV, Oxoid) e incubado a 41,5 °C por 24 h. Outra alíquota de 1 mL foi adicionada a 10 mL de caldo Muller-Kauffman tetrathionato/novobiocina (MKTTn caldo, Merck) e incubada a 37 °C por 24 h. Os caldos foram semeados superficialmente em placas contendo ágar xilose-lisina desoxicolato (XLD, Merck) e ágar manitol lisina cristal violeta verde brilhante (MLCB, Oxoid), as quais foram incubadas a 37 °C por 24h, para isolamento do micro-organismo. As colônias típicas apresentam coloração avermelhada com o centro preto. As colônias

características de *Salmonella* spp. foram submetidas aos testes bioquímicos clássicos, com semeadura em ágar triplice açúcar ferro (TSI) e ágar lisina ferro (LIA) e ágar uréia e incubação a 37 °C por 24 h. A seguir, foi realizada avaliação sorológica empregando-se soro polivalente (Probac). Na Figura 2 encontra-se a representação esquemática da metodologia empregada.

Os resultados foram expressos como presença ou ausência de *Salmonella* spp. por carcaça.

Figura 2 – Representação esquemática das diferentes etapas envolvidas na detecção de *Salmonella* spp. nas carcaças de frangos analisadas neste estudo (método ISO 6579:2002).

3.3.2. Enumeração de *Salmonella* spp.

A enumeração das populações de *Salmonella* spp. foi realizada a partir das amostras obtidas conforme item 3.2 empregando-se a técnica do número mais provável miniaturizado (ISO/TS 6579-2:2002(E)), descrita a seguir.

A etapa de pré-enriquecimento foi realizada em microplacas com 12 cavidades. Para isso, 2,5 mL obtidos a partir do inóculo (descrito no item 3.2) foram submetidos a diluições seriadas nas proporções 1:5 (v/v) em 2 mL de APT. Após incubação a 37 °C por 24 h procedeu-se a etapa de enriquecimento seletivo em meio Rapaport-Vassiliadis semi-sólido modificado (MRSV, Merk), também realizada em microplacas contendo 12 cavidades. Para isso, 20 µL de cada amostra pré-enriquecida em ATP foram adicionados a 2 mL do meio MRSV, seguindo-se nova incubação a 41,5 °C por 24/48 h. As cavidades que apresentaram alteração de cor, de azul escuro para azul mais claro, foram consideradas suspeitas e uma alíquota do crescimento foi estriada em placas contendo ágar XLD e incubadas a 37 °C por 24 h. Para a confirmação da presença do gênero *Salmonella* colônias características foram submetidas aos mesmos testes previamente apresentados (3.3.1) bioquímicos clássicos empregando-se ágar triplice açúcar ferro (TSI), ágar lisina ferro (LIA) e ágar uréia. Os cultivos identificados como *Salmonella* foram submetidos à avaliação sorológica, empregando-se soro polivalente (Probac).

Para calcular o NMP/g utilizou-se uma calculadora digital disponível na World Wide Web, disponível em: <http://www.i2workout.com/mcuriale/mpn/index.html>.

Os resultados foram expressos em NMP/g levando-se em consideração o peso das carcaças.

Figura 3 – Representação esquemática das diferentes etapas envolvidas na enumeração das populações de *Salmonella* spp. nas carcaças de frangos analisadas neste estudo (método ISO/TS 6579-2:2002(E)).

3.4. Enumeração das populações de *Enterobacteriaceae*

A partir da suspensão apresentada no item 3.2 foi realizada a enumeração das populações de enterobactérias, com o emprego de placas Petrifilm™ *Enterobacteriaceae Count* (EB).

Para cada amostra obtida, foram realizadas quatro diluições seriadas sucessivas (10^{-1} a 10^{-4}) e alíquotas de 1 mL foram semeadas nas placas de Petrifilm EB que foram incubadas a 37 °C por 24 h. A seguir foi realizada a enumeração de colônias com coloração avermelhada circundadas por halo amarelo e que produziram gás. Foram consideradas as placas com 15 a 150 colônias, segundo indicações do fabricante. Na Figura 4 está representada a metodologia empregada para a enumeração das populações de enterobactérias nas amostras avaliadas.

Os resultados obtidos foram expressos em log UFC/g, levando-se em consideração a diluição empregada e o peso da amostra.

Figura 4 – Representação esquemática das diferentes etapas envolvidas na enumeração das populações de enterobactérias presentes nas amostras de carcaças de frangos analisadas neste estudo.

3.5. Simulação do *melichah* em laboratório

3.5.1 Preparo do inóculo

Foram realizadas curvas de multiplicação para estudar o comportamento de *S. Typhimurium* ATCC 14028, *S. Enteritidis* ATCC 13076 e *S. Infantis*, gentilmente cedida pelo Instituto Adolfo Lutz de São Paulo, ao longo do tempo. Para isso as cepas foram semeadas por esgotamento em placas contendo Brain Heart Infusion Agar (BHI agar), que foram incubadas a 37 °C por 24 h. Uma colônia isolada foi transferida para um erlenmeyer contendo 100 mL de caldo BHI, o qual foi mantido a 37 °C por 14 h. A partir da primeira hora, alíquotas de 1 mL foram retiradas, submetidas à diluição decimal seriada e inoculadas por profundidade em BHI agar. O mesmo procedimento foi repetido com intervalos de uma hora, até a décima quarta hora. As placas foram incubadas a 37 °C por 24 h. Procedeu-se a contagem das colônias nas placas que apresentaram entre 20 e 200 colônias. Os resultados foram transferidos

para o programa Excel para obtenção da curva. Esse procedimento foi repetido três vezes para obtenção de uma curva média de multiplicação.

Para o preparo do inóculo, cada cepa foi submetida ao procedimento descrito anteriormente ficando incubadas por 10 h, afim de obter cultivo no início da fase estacionária da curva de multiplicação bacteriana. Uma alíquota de 1 mL foi submetida à diluição decimal para a obtenção de uma população de aproximadamente 10^7 UFC/mL.

3.5.2 Contaminação dos cortes de aves

Foram adquiridas no varejo sobrecoxas de frango convencional resfriadas. A cada ensaio foram utilizados dez sobrecoxas, sendo uma controle negativo e nove que foram contaminadas superficialmente com 0,1 mL do cultivo preparado conforme em 3.5.1, de modo a obter aproximadamente 10^6 UFC/ peça. Os cortes foram deixados em repouso por 15 minutos em capela de fluxo laminar e uma peça foi submetida à técnica de enxágue (Miyagusku et al., 2003) empregando 100 mL de solução salina (NaCl 0,85% p/v). Foram realizadas diluições decimais seriadas consecutivas e uma alíquota de 1 mL de cada diluição foi submetida à técnica de número mais provável miniaturizado (ISO/TS 6579-2:2002 (E)), conforme descrita no item 3.3.2.

As outras oito amostras foram transferidas para um recipiente de aço inoxidável estéril contendo água potável gelada, e foram mantidas nesse recipiente durante 30 minutos, para simular a imersão em água realizada no *melichah*. A temperatura da água foi mantida entre 0 e 4 °C, de acordo com o recomendado pela legislação brasileira para imersão das carcaças em *chiller* (Brasil, 2011). Também foram verificados o pH e o cloro residual da água

utilizada no recipiente, com a utilização do papel indicador de pH (Merck®) e do teste de cloro com reagente líquido Microquant (Merck®), respectivamente.

Em seguida, as sobrecoxas de frango foram submetidas à etapa de salga, exceto as duas sobrecoxas que foram utilizadas como controle. Os cortes foram salgados manualmente com sal de granulação média (o mesmo utilizado no abatedouro que realiza o abate *Shechita*), e colocados em suporte que permitiu o escoamento de líquidos em vasilhas descartáveis de alumínio. Em cada vasilha foram colocadas quatro sobrecoxas, sendo três salgadas e uma sem salgar (controle). Os recipientes foram tampados e mantidos a 10 °C e 25 °C por 1 h. A seguir, os cortes salgados foram submetidos a dessalga em três recipientes de aço inoxidável estéreis contendo água potável gelada. Os controles não foram submetidos à dessalga. A temperatura, o pH e o cloro residual também foram verificados conforme descrito anteriormente. As sobrecoxas foram mergulhadas individualmente em cada tanque de dessalga por aproximadamente 15 vezes, para simular a água corrente utilizada no abatedouro que realiza o abate *Shechita*.

Cada sobrecoxa dessalgada, bem como as utilizadas como controle, foram colocadas em bolsas plásticas estéreis e submetidas à lavagem conforme descrito para a amostra de tempo zero.

Cada experimento foram realizados por três vezes para cada cepa. A metodologia empregada está representada na figura 5.

Figura 5 – Representação esquemática da simulação do *melichah* em laboratório.

3.6. Análise de teor de sódio (Na^+)

Foram adquiridas 10 amostras de sobrecoxa de frango *kosher* no varejo da cidade de São Paulo.

Para a análise da quantidade de teor de sódio nas amostras estudadas foi empregada a técnica de titulação de prata na presença de cromato de potássio, a qual baseia-se na precipitação de íons cloreto sob a forma de cloreto de prata (Método Mohr). O ponto final da titulação é dado pelo

aparecimento de uma coloração vermelha tijolo resultante da reação do cromato de potássio com o excesso de nitrato de prata adicionado. Essa análise foi realizada no laboratório de bioquímica da empresa SFDK.

3.7 Análise estatística

Os resultados obtidos na pesquisa da enumeração das populações de enterobactérias foram submetidos à análise de variância (ANOVA), sendo aplicado o teste de Tukey com nível de significância de 95%. As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o software Statistica 7.0.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante as coletas, a temperatura média da sala de salga do abatedouro avaliado foi de 9,1 °C. Por sua vez, a temperatura média de todas as carcaças dos frangos coletados foi de 5,5 °C, tendo sido aferida a temperatura das carcaças coletadas antes da salga e depois da dessalga. O peso médio das carcaças foi de 1,9 kg.

No abate convencional normalmente ocorre padronização do tamanho das aves para otimização do maquinário; porém, neste abatedouro, o tamanho das aves variou consideravelmente, tendo a menor e a maior ave apresentado pesos de 1,0 kg e 2,6 kg, respectivamente. Na Tabela 2 são apresentados a temperatura e o peso médios (e o respectivo desvio padrão) das carcaças estudadas, de acordo com a data de coleta. Como pode ser observado, a temperatura média das carcaças encontra-se em conformidade com a Portaria nº 210 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Brasil, 1998), a qual recomenda que as carcaças não atinjam temperaturas superiores a 7 °C no final do processo de pré-resfriamento, sendo toleradas temperaturas de até 10 °C para carcaças destinadas ao congelamento imediato.

Levando-se em consideração todas as coletas realizadas no presente trabalho, o nível médio de cloro residual encontrado na água do tanque de dessalga foi de 1,8 ppm enquanto que o pH da água foi de 8,7. O nível de cloro residual observado no tanque encontra-se dentro do padrão estabelecido pela legislação vigente, a qual exige no mínimo 0,05 ppm de cloro residual na água dos estabelecimentos de produtos de origem animal destinados à alimentação humana (Brasil, 1952). O pH da água também encontra-se em conformidade com a legislação vigente estabelecida pela Circular nº 15 do MAPA (Brasil,

2005), a qual estabelece que o pH da água de distribuição, em indústrias produtoras de alimentos de origem animal, deve ser mantido na faixa de 6,0 a 9,5. O abatedouro avaliado no presente trabalho utiliza, na dessalga das aves, água proveniente de duas fontes: uma delas consiste de um poço artesiano, localizado na própria indústria e a segunda é água proveniente do sistema de distribuição pública da cidade de São Paulo (SABESP). Para a água proveniente do poço artesiano, a indústria realiza apenas a cloração de forma a atender a legislação citada anteriormente, enquanto que a SABESP é responsável por assegurar a qualidade microbiológica e físico-química da água fornecida ao consumidor – residências, empresas, etc, conforme descrito na Portaria 2914/11 do Ministério da Saúde. A coleta de amostras de água para dosagem do cloro é feita na sala de dessalga, no chuveiro da dessalga e nos três tanques de dessalga.

Tabela 2. Valores médios obtidos para o peso (kg) e a temperatura (°C) das carcaças de frango em cada um dos períodos de amostragem.

Coleta	Peso médio das carcaças (kg) $\pm$ DP*	Temperatura média das carcaças (°C) $\pm$ DP
24/03/2011	1,7 $\pm$ 0,2	6,6 $\pm$ 0,1
24/05/2011	1,8 $\pm$ 0,3	6,1 $\pm$ 0,3
02/06/2011	1,9 $\pm$ 0,2	6,0 $\pm$ 0,3
16/06/2011	1,8 $\pm$ 0,3	4,9 $\pm$ 0,3
04/07/2011	2,0 $\pm$ 0,2	4,8 $\pm$ 0,3
26/07/2011	1,8 $\pm$ 0,3	5,2 $\pm$ 2,3
28/07/2011	1,9 $\pm$ 0,2	4,7 $\pm$ 1,9
10/08/2011	1,9 $\pm$ 0,2	5,0 $\pm$ 1,9
01/09/2011	1,9 $\pm$ 0,2	5,1 $\pm$ 1,5
24/11/2011	1,9 $\pm$ 0,2	5,1 $\pm$ 0,6
Valor médio	1,9 $\pm$ 0,2	5,5 $\pm$ 1,6

* Desvio Padrão

4.1. Detecção e enumeração de *Salmonella* spp.

Dentre as 318 amostras analisadas para a detecção de *Salmonella* (159 amostras obtidas antes da etapa de salga e 159 amostras após a etapa de dessalga), apenas uma (0,6%) foi positiva para o patógeno, sendo esta proveniente de amostra coletada antes do processo de salga. Nessa amostra, a população do patógeno foi determinada em 41 NMP/g.

A baixa incidência de *Salmonella* observada neste estudo é semelhante àquela observada no estudo desenvolvido por Valnegri *et al.* (2010) em abatedouro convencional localizado na Província de Vercelli (norte da Itália). Aqueles autores avaliaram a prevalência do patógeno em 161 carcaças de frango provenientes de um abatedouro de pequena escala (processamento de 1000 aves por semana) e com depenagem a seco (sem a etapa de escalda) e não encontraram amostras positivas para *Salmonella* sp.. Pode-se supor que a baixa prevalência do patógeno esteja relacionada ao adequado emprego dos processos de higienização e ao monitoramento efetivo dos pontos críticos de controle durante as diferentes etapas do processo de abate, sendo este mais eficaz em abatedouros de pequeno porte. No entanto, esses dados estão em desacordo com um documento publicado no ano de 2007 pelo *United States Department of Agriculture*, o qual relatou que a frequência de contaminação de carcaças de frango por *Salmonella* spp. foi inversamente proporcional ao tamanho do abatedouro avaliado. Naquele trabalho, foi observada prevalência de contaminação por *Salmonella* de 15% em abatedouros de pequeno porte e de 7,6% nos estabelecimentos de grande porte.

No Brasil, há uma grande variação na frequência de isolamento de *Salmonella* sp. a partir de carcaças de aves, entretanto não se pode afirmar

que isso esteja ou não associado ao tamanho das empresas. Santos *et al.* (2000) observaram que a partir de 150 carcaças de frango congeladas obtidas a partir de abatedouros localizados no Estado de São Paulo, um percentual de 32% mostraram-se contaminadas com *Salmonella* sp. Tirolli e Costa (2006) detectaram *Salmonella* em 30 amostras (50%) das 60 amostras de carcaças de frangos analisadas, coletadas de feiras livres e mercados registrados na prefeitura municipal de Manaus, enquanto Carvalho e Cortez (2005) detectaram *Salmonella* em 20% de 165 amostras de produtos de frango pronto procedentes de diferentes frigoríficos da região Nordeste do Estado de São Paulo. Lírio *et al.* (1998) observaram 77,1% de amostras de frango *in natura* positivas para o patógeno provenientes dos órgãos de Inspeção Municipal de Alimentos da cidade de São Paulo. No entanto, Cardoso *et al.* (2000) analisaram 40 amostras de carcaças de frangos provenientes da indústria avícola localizada em Descalvado, São Paulo e não observaram amostras positivas para *Salmonella* sp.

Arsenault *et al.* (2007) estudaram a prevalência e os fatores de risco associados a *Salmonella* em 82 lotes de frangos de corte (cada um composto por 30 aves) provenientes de quatro abatedouros do Canadá. Os autores verificaram que o patógeno estava presente em 21,2% das carcaças analisadas.

Entre 1998 e 2003, White *et al.* (2007) analisaram 47.090 amostras de carcaças de frango relacionadas ao programa americano de redução de patógenos, dentre as quais, 5.251 (11,2%) foram positivas para *Salmonella*.

Estudos realizados com amostras de frango provenientes de abate convencional adquiridos no varejo dos Estados Unidos indicaram que a

prevalência de *Salmonella* foi de 18,8% (United States Department of Agriculture Food Safety and Inspection Service, 2010). Outro estudo americano mostrou que a prevalência da contaminação por *Salmonella* em aves adquiridas junto a lojas de marcas orgânicas e não orgânicas variou de 6 a 29% (Consumer Report Magazine, 2010).

O principal objetivo da salga é diminuir a quantidade de sangue presente na carcaça; porém, este procedimento também atua como uma barreira frente à multiplicação microbiana. Oscar (2007) realizou um estudo sobre a persistência de sorotipos de *Salmonella* em pele de frango após exposição ao sal *kosher* e à etapa de lavagem. Aquele autor observou que quando o patógeno foi exposto somente ao sal *kosher*, sem a realização da etapa de lavagem, sua prevalência não foi alterada; no entanto, quando a etapa de salga foi seguida do passo de lavagem foi observada uma redução significativa na prevalência de *Salmonella*. Desta maneira, a etapa de lavagem constitui um importante passo na redução do patógeno durante o processamento de carne de frango *kosher* devido à remoção mecânica da bactéria pela água.

Hajmeer et al. (1999) observaram que a aplicação de sal em 30 amostras de carcaça bovina proveniente do abate *Shechita* foi capaz de reduzir a contaminação por *Salmonella* spp. Aqueles autores verificaram que após a “kasherização”, etapa do abate *Shechita* que consiste na imersão em água e do salgamento da carne (Ende, 2006), quatro amostras que se apresentavam positivas antes da etapa de salga mostraram-se negativas após tal procedimento.

O ambiente de abate pode ser uma fonte importante na disseminação de *Salmonella*, e isto pode ser comprovado pelo trabalho publicado por Fuzihara,

Fernandes e Franco (2000), no qual 60 pequenos abatedouros da cidade de Mauá - SP foram avaliados quanto à prevalência de *Salmonella* sp. Aqueles autores observaram que o patógeno foi detectado em 23,1% dos utensílios avaliados e em 71,4% das amostras de superfícies de refrigeradores e congeladores.

Pode-se pensar na realização de estudo em paralelo para avaliação (quali e quantitativa) da prevalência de *Salmonella* em aves provenientes de abate convencional. Entretanto, a comparação entre esses dados seria de pouca utilidade, uma vez que existem diferenças importantes em relação às principais etapas envolvidas, quantidade de animais abatidos/dia e número de dias de realização de abate durante a semana. O abatedouro avaliado no presente estudo abate em média 2.000 aves/dia, sendo que o abate ocorre em dois dias/semana; por sua vez, um abatedouro tradicional de pequeno porte, inspecionado por órgão federal competente, abate, em média, 80.000 aves/dia e trabalha até sete dias/semana.

Os dados disponíveis na literatura, referentes à prevalência de micro-organismos patogênicos em carcaças de frango provenientes de abatedouros de pequena escala como aqueles dedicados ao abate *Shechita*, são bastante limitados. Este fato dificulta a discussão dos resultados encontrados neste trabalho, porém reforça a relevância do presente estudo.

4.2. Simulação do *melichah* em laboratório

S. Typhimurium e *S. Enteritidis* são os sorovares mais frequentemente isolados em produtos de origem avícola (Gama et al., 2003). Já *S. Infantis* está entre os sorovares mais envolvidos em casos de salmonelose humana no Brasil, sendo reconhecido por seu potencial patogênico, que além do quadro

gastroentérico, pode determinar infecção septicêmica em animais jovens e em humanos, principalmente em casos de infecções graves em crianças (Fonseca et al., 2006; Loureiro et al., 2010).

Dentre as 90 amostras de sobrecoxa de frango adquiridas no varejo, 30 foram contaminadas com *Salmonella* Typhimurium, 30 com *Salmonella* Enteritidis e 30 com *Salmonella* Infantis. De acordo com nossos resultados, após a realização da etapa de salga a redução da população do patógeno foi significativa, tanto para as amostras mantidas sob temperatura de 10 °C, que simboliza a média temperatura de geladeira, quanto a 25 °C, que simboliza a média da temperatura ambiente. As populações médias de *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis* e *S. Infantis* obtidas através da simulação do *melichah* em laboratório está apresentada na Tabela 3.

Tabela 3. Populações (NMP/g) médias de *Salmonella* Typhimurium, *Salmonella* Enteritidis e *Salmonella* Infantis obtidas em diferentes etapas do processo de simulação do *melichah* em laboratório.

Etapa	<i>S. Typhimurium</i>	<i>S. Enteritidis</i>	<i>S. Infantis</i>
Controle sem lavagem	45	41	49
Controle 10 °C	36	31	33
Controle 25°C	25	28	28
Salga + Lavagem 10 °C	6,2	6,3	6,6
Salga + Lavagem 25 °C	5,6	5,7	5,9

No presente estudo observamos que todos os sorotipos apresentaram valores de NMP similares para os testes (controle sem lavagem, controle a 10

°C e 25 °C) e que a etapa de salga foi eficiente na redução dos sorotipos de *Salmonella* utilizados.

4.3. Enumeração das populações de enterobactérias

As populações médias de enterobactérias, determinadas nas 318 amostras (159 obtidas antes da etapa de salga e 159 após o procedimento de dessalga) foram $3,21 \pm 0,79$ log UFC/g e $3,15 \pm 0,63$ log UFC/g, respectivamente. Através desses resultados, podemos considerar que a etapa de salga não influenciou significativamente ($P < 0,05$) as populações de enterobactérias determinadas nas amostras avaliadas. A única amostra positiva para *Salmonella* exibiu população de enterobactérias de 4,25 log UFC/g.

Hajmeer et al. (1999) avaliaram 30 amostras de carne bovina coletadas à partir da área do peito e observaram que o tratamento com sal combinado com a etapa de lavagem realizado no abate *Shechita* reduziu em 30% na população total de enterobactérias, sendo que tal redução correspondeu a 0,7 log UFC/g.

No Brasil, a legislação que estabelece os padrões microbiológicos sanitários para alimentos destinados ao consumo humano de mercadorias que estão inseridas no comércio, é a Resolução RDC nº 12 de 2 de janeiro de 2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde (ANVISA). De acordo com esse documento, a população máxima de coliformes a 45 °C aceitável para carnes de aves cruas é de 10^4 UFC/g. Por sua vez, o Código Sanitário do Estado de São Paulo (São Paulo, 1992) determina que a contaminação máxima aceitável para carnes de aves cruas é de no máximo 3×10^6 UFC/g. Portanto, podemos afirmar que a qualidade higiênico-sanitária

das carcaças analisadas no presente estudo está dentro de ambos os limites e, portanto, adequada para consumo.

4.4. Análise de teor de sódio (Na^+)

A fim de avaliar se a etapa de salga poderia levar a um aumento no teor de NaCl na carne das aves *kosher* submeteu-se sobrecoxas de frango *kosher* adquiridas no comércio varejista da cidade de São Paulo a análise de teor de sódio (Na^+). Os dados obtidos estão apresentados na Tabela 4.

No presente estudo a quantidade média de sódio presente nas amostras avaliadas ($344 \pm 108 \text{ mg}/100\text{g}$) foi bastante superior ao limite de 68 mg de sódio para cada 100 g de sobrecoxas de frango convencional crua com pele, apresentados na Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (NEPA/UNICAMP, 2011).

Esse valor de sódio, cinco vezes superior ao encontrado em cortes de frango convencionais pode explicar a baixa ocorrência de micro-organismos nas nossas amostras. Entretanto, para a avaliação da importância desse fator no controle da microbiota, a determinação da atividade de água também deveria ser realizada.

Tabela 4. Valores obtidos para a análise de teor de sódio (Na^+) em sobrecoxa de frango *kosher* adquirido no comércio varejista da cidade de São Paulo, SP.

Amostra	Na (mg/100 g)
1	280
2	240
3	320
4	280
5	320
6	240
7	360
8	520
9	240
10	520
Valor médio	344 ± 108

5. CONCLUSÃO

A baixa frequência de detecção e reduzida população de *Salmonella* spp. observadas nas carcaças de frangos avaliadas no presente estudo demonstraram que a contaminação pelo patógeno não é importante no frigorífico em questão. Porém, é importante garantir a segurança microbiológica do produto cárneo através de seu monitoramento constante.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Ministério da Saúde. Resolução - RDC nº 12 de 2 de janeiro de 2001. Aprovar o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12_01rdc.htm. Acesso em: 19 jul. 2012.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Ministério da Saúde. Resolução - RDC nº 360 de 23 de dezembro de 2003. Regulamento Técnico sobre Rotulagem Nutricional de Alimentos Embalados. Diário Oficial da União, Brasília, 17 dez. 2003. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/2003/rdc/360_03rdc.htm. Acesso em: 31 ago. 2012.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Relatório do monitoramento da prevalência e do perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos em enterococos e salmonelas isolados de carcaças de frango congeladas comercializadas no Brasil:** Programa Nacional de Monitoramento da Prevalência e da Resistência Bacteriana em Frango (PREBAF). Brasília: Anvisa, 2008. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/d6fa54004745870b908fd43fbc4c6735/relatorioprebaf.pdf?MOD=AJPERES>. Acesso em: 23 ago. 2012.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Ministério da Saúde. Portaria nº 2.914 de 12 de dezembro de 2011. Dispõe sobre o procedimento de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de portabilidade. Diário Oficial da União, Brasília, 14 dez. 2011. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2011/prt2914_12_12_2011.html. Acesso em: 19 jul. 2012.

ANGULO, F.J.; JOHNSON, K.R.; TAUXE, R.V.; COHEN, M.L. Origins and consequences of antimicrobial-resistant nontyphoidal *Salmonella*: implications for the use of fluoroquinolones in foods animals. **Microbial Drug Resistance**, v. 6, n. 1, p. 77-83, 2000.

ANTUNES, P.; RÉU, C.; SOUSA, J.C.; PEIXE, L.; PESTANA, N. Incidence of *Salmonella* from poultry products and their susceptibility to antimicrobial agents. **International Journal Food Microbiology**, v. 82, n. 2, p. 97-103, 2003.

ARSENAULT, J.; LETELLIER, A.; QUESSY, S.; BOULIANNE, M. Prevalence and risk factors for *Salmonella* and *Campylobacter* spp. Carcass contamination in broiler chickens slaughtered in Quebec, Canada. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 70, n. 8, p. 1820-1828, ago. 2007.

BAILEY, S.; JUNEJA, V.K.; SOFOS, J.N. *Salmonella*. In: **Pathogens and Toxins in Foods: challenges and interventions**. Washington: ASM Press, 2010.

BALE, J.A.; DE PINNA, E.M.; THRELFALL, E.J.; WARD, L.R. **Kauffmann-White Scheme – 2007: *Salmonella* Identification; Serotypes and Antigenic Formulae**. London: Centre for Infections Health Protection Agenc, 168 p., 2007.

BARNETT, J.L.; CRONIN, G.M.; SCOTT, P.C. Behavioural responses of poultry during kosher slaughter and their implications for the birds' welfare. **Veterinary Record**, v. 160, p. 45-49, jan. 2007.

BRASIL. Presidência da República. Casa Civil. Subchefia para Assuntos Jurídicos. **Decreto n.30.691, de 29 de março de 1952**. Regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal (RIISPOA). Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/decreto/1950-1069/D30691.htm. Acesso em: 31 ago. 2012.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. **Portaria n.201, de 10 de novembro de 1998**. Regulamento Técnico da Inspeção Tecnológica e Higiênico-sanitária de Carne de Aves. Disponível em: http://www3.servicos.ms.gov.br/iagro_ged/pdf/177_GED.pdf. Acesso em: 01 set. 2012.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa n.70, de 06 de outubro de 2003**. Programa de Redução de Patógenos – monitoramento microbiológico e controle de *Salmonella* sp. em carcaças de frangos e perus. Disponível em: <http://www.sfdk.com.br/imagens/lei/Inst.%20normativa%20n%C2%BA%2070,%2006.10.03.htm>. Acesso em: 03 set. 2012.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Circular n.175, de 16 de maio de 2005**. Procedimentos de verificação dos programas de auto controle (versão preliminar). Disponível em: <http://www.abef.com.br/Legislacoes/PORTARIA210.pdf>. Acesso em: 31 ago. 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Dados Epidemiológicos – DTA**: período de 2000 a 2011. Disponível em: http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/dados_epidemiologicos_dta_15911.pdf. Acesso em: 25 jul. 2012.

BILLY, T.J. HACCP – a work in progress. **Food Control**, v.13, n.6/7, p.359-362, 2002.

BRYAN, F.L.; DOYLE, M.P. Healthy risks and consequences of *Salmonella* and *Campylobacter jejuni* in raw poultry. **Journal of Food Protection**, v.58, n.3, p.326-344, 1995.

CARDOSO, A.L.S.P.; TESSARI, E.N.C. Divulgação técnica – salmonela na segurança dos alimentos. **Biológico**, v.70, n.1, p.11-13, 2008.

CARDOSO, A.L.S.P.; TESSARI, E.N.C.; CASTRO, A.G.M.; KANASHIRO, A.M.I. Pesquisa de *Salmonella* spp., coliformes totais, coliformes fecais e mesófilos em carcaças e produtos derivados de frangos. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.67, n.1, 2000. Disponível em:

http://www.biologico.br/arquivos/v.67_1/pesquisa_salmonella. Acesso em: 15 out. 2012.

CARVALHO, A.C.F.B.; CORTEZ, A.L.L. *Salmonella* spp. em carcaças, carne mecanicamente separada, linguiças e cortes comerciais de frango. **Ciência Rural**, v.35, n.6, p.1465-1468, 2005.

COMUNIDADE ECONÔMICA EUROPÉIA. Regulamento n.1441/2007, de 05 de dezembro de 2007. Altera o Regulamento (CE) n.2073/2005 relativo a critérios microbiológicos aplicáveis aos gêneros alimentícios. **Jornal Oficial da União Européia**, p.12-29, 05 dez. 2007. Disponível em: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2007:322:0029:PT:PDF>. Acesso em: 30 ago. 2012.

D'AOUST, J.Y. Psychrotrophy and foodborne *Salmonella*. **International Journal of Food Microbiology**, v.14, n.3, p.207-215, 1991.

D'AOUST, J.Y.; MAURER, J. *Salmonella* species. In: DOYLE, M.P.; BEUCHAT, L.R., eds. **Food Microbiology: fundamentals and frontiers**. 3.ed. Washington: ASM Press, 2007. p.187-236.

ENDE, S. **Cashrut e sabat na cozinha judaica: leis e costumes**. 3.ed. São Paulo: Chabad, 2006. 107p.

EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY. Report of the Task Force on Zoonoses Data Collection on the Analysis of the baseline survey on the prevalence of *Salmonella* in broiler flocks of *Gallus gallus*, in the EU, 2005-2006, Part A: *Salmonella* prevalence estimates. **EFSA Journal**, v.98, p.1-85, 2007. Disponível em: <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/98r.pdf>. Acesso em: 30 ago. 2012.

EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY. Report of the Task Force on Zoonoses Data Collection on the Analysis of the baseline study on the prevalence of *Salmonella* in holdings of laying hen flocks of *Gallus gallus*. **EFSA Journal**, v.97, p.1-84, 2007. Disponível em: http://www.efsa.europa.eu/EFSA/Report/zoon_report_ej97_finlayinghens_en,1.pdf. Acesso em: 25 jul. 2012.

EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY. The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2010. **EFSA Journal**, 2012. Disponível em: <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/2597.pdf>. Acesso em: 25 jul. 2012.

FERREIRA, E.L.; CAMPOS, L.C. *Salmonella*. In: TRABULSI, L.R.; ARTERTHUM, F.; GOMPERTZ, O.F.; CANDEIAS, J.A.N., eds. **Microbiologia**. 5.ed. São Paulo: Atheneu, 2008, p.329-338.

FONSECA, E.L.; MYKYTCZUK, O.L.; ASENSI, M.D.; REIS, E.M.F.; FERRAZ, L.R.; PAULA, F.L.; NG, L.K.; RODRIGUES, D.P. Clonality and antimicrobial resistance gene profiles of multidrug-resistant *Salmonella enteric* serovar Infantis from four public hospitals in Rio de Janeiro, Brazil. **Journal of Clinical Microbiology**, v.44, n.8, p.2767-2772, 2006.

FORBES, B.A.; SAHM, D.F.; WEISSFELD, A.S. Enterobacteriaceae. In: FORBES, B.A.; SAHM, D.F.; WEISSFELD, A.S.; BARON, E.J. **Bailey & Scott's diagnostic microbiology**. 11.ed. Saint Louis: Mosby, 2002. p.509-526.

FOSTER, J.W.; SPECTOR, M.P. How *Salmonella* survive against the odds. **Annual Review of Microbiology**, v.49, p.145-174, 1995.

FRANCO, B.D.G.; LANDGRAF, M. Microrganismos patogênicos de importância em alimentos. In: FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia de alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2008. p.33-81. (Série: Biblioteca biomédica).

FRAZIER, W.C.; WESTHOFF, D.C. **Microbiologia de los alimentos**. 2.ed. Zaragoza: Acribia, 1972. 512p.

FUZHARA, T.O.; FERNANDES, S.A.; FRANCO, B.D.G.M. Prevalence and dissemination of *Salmonella* serotypes along the slaughtering process in Brazilian small poultry slaughterhouses. **Journal of Food Protection**, v.63, n.12, p.1749-1753, 2000.

GAMA, N.M.S.Q.; BERCHIERI JR, A.; FERNANDES, S.A.; Occurrence of *Salmonella* sp. in laying hens. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v.5, n.1, p.15-21, 2003.

GOMIDE, L.A.M.; RAMOS, E.M.; FONTES, P.R. **Tecnologia de abate e tipificação de carcaças**. Viçosa: UFV, 2006, p.86-93.

GRIMONT, P.A.D.; WEILL, F.X.; WHO COLLABORATING CENTER FOR REFERENCE AND RESEARCH ON (SALMONELLA). **Antigenic formulae of the salmonella serovars**. 9.ed. Paris: Institute Pasteur, 2007 166p. Disponível em:

<http://nih.dmsc.moph.go.th/aboutus/media/antigenic%20formula%20of%20Salmonella.pdf>. Acesso em: 23 out 2012.

GUIBOURDENCHE, M.; ROGGENTIN, P.; MIKOLEIT, M.; FIELDS, P.I.; BOCKEMÜHL, J.; GRIMONT, P.A.D.; WEILL, F.X. Supplement 2003-2007 (No.47) to the White-Kauffmann-Le Minor scheme. **Research in Microbiology**. v.161, p.26-29, 2010.

HAJMEER, M.N.; MARSDEN, J.L.; CROZIER-DODSON, B.A.; BASHEER, I.A.; HIGGINS, J.J. Reduction of microbial counts at a commercial beef koshering facility. **Journal of Food Science**, v.64, n.4, p.719-723, 1999.

HINTON, M. *Salmonella* infection in chicks following the consumption of artificially contaminated feed. **Epidemiology and Infection**, v.100, n.2, p.247-256, 1988.

HOLT, J.G.; KRIEG, N.R.; SNEATH, P.H.A.; STALEY, J.T.; WILLIAMS, S.T. **Bergey's manual of determinative bacteriology**, 9.ed. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins, 1994. 787p.

HOW safe is that chicken?: most tested broilers were contaminated. **Consumer Reports Magazine**, 2010. Disponível em: <http://www.consumerreports.org/cro/magazine-Archive/2010/january/food/chicken-safety/overview/chicken-safety-ov.htm>. Acesso em: 30 ago. 2012.

HUMPHREY, T.J.; MEAD, G.C.; ROWE, B. Poultry meat as a source of human salmonellosis in England and Wales. **Epidemiology and Infection**, v.100, p.175-184, 1988.

INTERNATIONAL STANDARD ORGANIZATION. **ISO 6579:2002**: microbiology of food and animal feeding stuffs – horizontal method for the detection of *Salmonella* spp. Geneva: ISO, 2002.

INTERNATIONAL STANDARD ORGANIZATION. **ISO/TS 6579-2:2002(E)**: horizontal method for the enumeration of *Salmonella* by a miniaturized MPN technique. Geneva: ISO, 2002.

JAY, M.J. Indicadores microbiológicos de qualidade e segurança dos alimentos. In:_____. **Microbiologia de alimentos**. 6.ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. p.413-433.

JAY, M.J. Indicadores microbiológicos de qualidade e segurança dos alimentos. In:_____. **Microbiologia de alimentos**. 6.ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. p.543-563.

JOSEPH, B.; OTTA, S.K.; KARUNASAGAR, I. Biofilm formation by *Salmonella* spp. on food contact surfaces and their sensitivity to sanitizers. **International Journal of Food Microbiology**, v.64, n.3, p.367-372, 2001.

KONEMAN, E.K. **Color atlas and textbook of diagnostic microbiology**. 5.ed. Philadelphia: Lippincott, 1997. 1458p.

KOTTWITZ, L.B.M.; BACK, A.; LEÃO, J.A.; ALCOCER, I.; KARAN, M.; OLIVEIRA, T.C.R.M. Contaminação por *Salmonella* spp. em uma cadeia de produção de ovos de uma integração de postura comercial. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.60, n.2, p.496-498, 2008.

LACONCHA, I.; BAGGESEN, D.L.; REMENTERIA, A.; GARAIZAR, J. Genotypic characterization by PFGE of *Salmonella enteric* serotype Enteritidis phage type 1, 4, 6, and 8 isolated from animal and human sources in three European countries. **Veterinary Microbiology**, v.75, p.155-165, 2000.

LÍRIO, V.S.; SILVA, E.A.; STEFONI, S.; CAMARGO, D.; RECCO, E.A.P.; MALUF, Y.T.; MIYAZAWA, T.T.; NEVES, D.V.D.A.; OLIVEIRA, V.M.R. Frequencia de 17 sorotipos de *Salmonella* isolados em alimentos. **Higiene Alimentar**, v.12, n.55, p.36-42, 1998.

LOPALCO, P.L.; GERMINARIO, C.; DI MARTINO, V.; FRISOLI, L.; PAGANO, A.; QUARTO, M.; BARBUTI, S. Epidemiologic study and coast analysis of a *Salmonella* Enteritidis epidemic. **Annali di Igiene**, v.12, n.4, p.279-285, 2000.

LOUREIRO, E.C.B.; MARQUES, N.D.B.; RAMOS, F.L.P.; REIS, E.M.F.; RODRIGUES, D.P.; HOFER, E. *Salmonella* serovars of human origin identified in Pará State, Brazil from 1991 to 2008. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v.1, n.1, p.93-100, 2010.

MAIJALA, R.; RANTA, J.; SEUNA, E. The efficiency of the Finnish *Salmonella* Control Programme. **Food Control**, v.16, n.8, p.669-675, 2005.

MARTÍNEZ, M.E.T. **Caracterización molecular y fenotípica como herramienta de marcaje epidemiológico para cepas de *Salmonella* de origen porcino**. Barcelona, 2006. 63p. Tese de Doutorado – Faculdade de Veterinária – Universidade Autônoma de Barcelona.

MEAKINS, S.; FISHER, I.S.; BERGHOLD, C.; GERNER-SMIDT, P.; TSCHÄPE, H.; CORMICAN, M.; LUZZI, I.; SCHNEIDER, F.; WANNET, W.; COIA, J.; ECHEITA, A.; THRELFALL, E.J. Antimicrobial drug resistance in human Nontyphoidal *Salmonella* isolates in Europe 2000-2004: a report from the enter-net international surveillance network. **Microbial Drug Resistance**, v. 14, n.1, p.31-35, 2008.

MINE, Y. Controle e prevenção da *Salmonella* Enteritidis em frangos e ovos. **AveWorld**, v.3, n.15, p.34-35, 2005.

MIYAGUSKU, L.; CHEN, F.; LEITÃO, M.F.F.; BAFFA, O. Avaliação microbiológica e sensorial da vida-útil de cortes de peito de frango irradiados. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.23, p.7-16, 2003.

MORTON, R.D. Aerobic plate count. In: DOWNES, F.P.; ITO, K., eds. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4.ed. Washington: American Public Health Association, 2001. cap.7, p.63-67.

NAKASATO, M. Sal e hipertensão arterial. **Revista Brasileira de Hipertensão**, v.11, n.2, p.95-97, 2004.

NAYAK, R.; STEWART, T.; WANG, R.F.; LIN, J.; CERNIGLIA, C.E.; KENNEY, P.B. Genetic diversity and virulence gene determinants of antibiotic-resistant *Salmonella* isolated from preharvest turkey production sources. **International Journal of Food Microbiology**, v.91, n.1, p.51-62, 2004.

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS. Núcleo de Estudos e Pesquisa em alimentação. **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos – TACO**. 4.ed. Campinas: NEPA, UNICAMP, 2011. 161p. Disponível em: http://www.unicamp.br/nepa/taco/contar/taco_4_edicao_ampliada_e_revisada.pdf?arquivo=taco_4_versao_ampliada_e_revisada.pdf. Acesso em: 30 ago. 2012.

OSCAR, T.P. Persistence of *Salmonella* serotypes on chicken skin after exposure to kosher salt and rising. **Journal of Food Safety**, v.28, p.398-399, 2007.

PEREIRA, V.L.A.; SILVA, G.M.; LEMOS, M. Presença de *Salmonella* em frangos de corte aparentemente sadios em unidades de criação industrial na região de São José do Vale do Rio Preto – RJ. **Revista Brasileira de Ciências Veterinárias**, v.6, n.3, p.156-161, 1999.

POPOFF, M.Y. **Antigenic formulas of the *Salmonella* serovars**. 8.ed. Paris: WHO Collaborating Centre for Reference and Research on *Salmonella*, Pasteur Institute, 2001. 156p.

POPOFF, M.Y.; LE MINOR, L.E. Genus XXXIII *Salmonella*. In: BRENNER, D.J.; KRIEG, N.R.; STALEY, J.T., eds. **Bergey's manual of systematic bacteriology**, 2.ed. New York: Williams & Wilkins, 2005. P.764-799. [v.2: Proteobacteria].

PORTO, E. Microbiologia de carnes. In: CONTRERAS CASTOLHO, C.J.; AZEVEDO, L.C.L., Eds. **Qualidade da carne**. São Paulo: Varela, 2006. p.101-131.

QUINN, P.J.; MARKEY, B.K.; CARTER, M.E.; DONNELLY, W.J.; LEONARD, F.C. **Microbiologia veterinária e doenças infecciosas**, Porto Alegre: Artmed, 2005. 512p.

REGENSTEIN, J.M.; CHAUDRY, M. A brief introduction to some of the practical aspects of the kosher and halal laws for the poultry industry. In: SAMS, A., ed. **Poultry meat processing**. Boca Raton: CRC Press, 2001. p.281-300.

REGENSTEIN, J.M.; REGENSTEIN, C.E. A brief introduction to the kosher laws and possible implications for food safety. In: WILSON, C.L.; DROBY, S., eds. **Microbial food contamination**. Boca Raton: CRC Press, 2001. (Food Science/Microbiology).

ROÇA, R.O. **Abate humanitário de bovinos**. In: CONFERÊNCIA VIRTUAL GLOBAL SOBRE PRODUÇÃO ORGÂNICA DE BOVINOS DE CORTE, 2002. p.1, 2002. Disponível em: <http://www.cpap.embrapa.br/agencia/congressovirtual/pdf/portugues/02pt03.pdf>. Acesso em: 24 ago. 2012.

SANTOS, D.M.S.; JUNIOR, A.B.; FERNANDES, S.A.; TAVECHIO, A.T.; AMARAL, L.A. *Salmonella* em carcaças de frango congeladas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.20, n.1, p.39-42, 2000.

SÃO PAULO (Estado). Leis, decretos, etc. **Código sanitário**: Decreto n.12.342, de 27 de setembro de 1978: regulamento da promoção e recuperação da saúde no campo da competência da Secretaria de Estado da Saúde (revisto e atualizado até dezembro de 1990). 5.ed. São Paulo: Imprensa Oficial do estado, 1992. 412p.

SHELOBOLINA, E.S.; SULLIVAN, S.A.; O'NEILL, K.R.; NEVIN, K.P.; LOVLEY, D.R. Isolation, characterization, and U(VI) – reducing potential of a facultatively anaerobic, acid-resistant bacterium from low-pH, nitrate- and U(VI)-contaminated subsurface sediment and description of *Salmonella subterranean* sp. nov. **Applied Environmental Microbiology**, v.70, n.5, p.2959-2965, 2004.

SILVA, E.N.; DUARTE, A. *Salmonella* Enteritidis em aves: retrospectiva no Brasil. **Revista Brasileira de Ciências Avícola**, v.4, n.2, p.85-100, 2002.

SKOV, M.N.; ANDERSEN, J.S.; AABO, S; ETHELBERG, S.; AARESTRUP, F.M.; SORENSEN, A.H.; SORENSEN, G.; PEDERSEN, K.; NORDENTOFT, S.; OLSEN, K.E.; GERNER-SMIDT, P.; BAGGESEN, D.L. Antimicrobial drug resistance of *Salmonella* isolates from meat and humans, Denmark. **Emerging Infection Disease**, v.13, n.4, p.638-641, 2007.

SWARTZ, M.N. Human diseases caused by foodborne pathogens of animal origin. **Clinical Infection Disease**, v.34, p.111-122, 2002.

TIROLI, I.C.C.; COSTA, C.A. Ocorrência de *Salmonella* spp. em carcaças de frango recém abatidos em feiras e mercados da cidade de Manaus-AM. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 36, n. 2, p. 205-208, 2006.

TOMPKIN, R.B.; MCNAMARA, A.M., AND ACUFF, G.R. Meat and poultry products. In: DOWNES, F.P.; ITO, K., eds. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**, 4.ed. Washington: American Public Health Association, 2001.

UNITED STATES. Department of Health and Human Services. Centers for Disease Control and Prevention. **Salmonella surveillance**: annual summary, 2006. Atlanta: U.S. Department of Health and Human Services, CDC, 2008. Disponível em: <http://www.cdc.gov/ncidod/dbmd/phlisdata/salmtab/2006/SalmonellaIntroduction2006.pdf>. Acesso em: 25 jul. 2012.

UNITED STATES. Department of Health and Human Services. Centers for Disease Control and Prevention. Preliminary FoodNet Data on the Incidence with Pathogens Transmitted Commonly Through Food – 10 States, 2009. **Morbidity and Mortality Weekly Report**, v.59, n.14, p.418-422, 2010. Disponível em: <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5914a2.htm>. Acesso em: 01 ago. 2012.

UNITED STATES. Department of Health and Human Services. Centers for Disease Control and Prevention. **Foodborne diseases active surveillance networks (FoodNet)**: FoodNet surveillance report for 2009 (Final report). Atlanta: U.S. Department of Health and Human Services, CDC, 2011. Disponível em: http://www.cdc.gov/foodnet/PDFs/FoodNetAR2009_FINAL.pdf. Acesso em: 25 jul. 2012.

UNITED STATES. Department of Health and Human Services. Center for Disease Control and Prevention. **Reports of selected *Salmonella* outbreak investigations**. Atlanta: U.S. Department of Health and Human Services, CDC, 2012. Disponível em: <http://www.cdc.gov/Salmonella/outbreaks.html>. Acesso em: 23 out. 2012.

UNITED STATES. Department of Health and Human Services. Food and Drug Administration. **Bad Bug Foodborne pathogenic microorganisms and natural toxins handbook**. 2.ed. Disponível em: <http://www.fda.gov/downloads/Food/FoodSafety/Foodbornellness/FoodbornellnessFoodbornePathogensNaturalToxins/BadBugBook/UCM297627.pdf>. Acesso em: 25 jul. 2012.

UNITED STATES. Department of Agriculture, Food Safety and Inspection Service, 2008. **Progress report on *Salmonella* testing of raw meat and poultry products, 1998-2007**.

UNITED STATES Department of Agriculture, Food Safety and Inspection Service, 2010. **Progress report on *Salmonella* testing of raw meat and poultry products, 1998-2010**. Disponível em: http://www.fsis.usda.gov/pdf/progress_report_salmonella_testing.pdf. Acesso em: 10 out. 2012.

VALNEGRI, L.; FRANZONI, M.; VERCELLOTTI, L.; SONCINI, G. Microbiological evaluation of the dry-slaughter process for small scale poultry meat production. **Ital J Food Sci**, n.2, v.22, p.217-221, 2010.

WHITE, P.L.; NAUGLE, A.L.; JACKSON, C.R.; FEDORKA-CRAY, P.J.; ROSE, B.E.; PRITCHARD, K.M.; LEVINE, P.; SAINI, P.K.; SCHROEDER, C.M.; DREYFUSS, M.S.; TAN, R.; HOLT, K.G.; HARMAN, J.; BUCHANAN, S. *Salmonella enteritidis* in meat, poultry, and pasteurized egg products regulated by the U.S. Food Safety and Inspection Service, 1998 through 2003. **Journal of Food Protection**, v.70, n.3, p.582-591, 2007.

WINFIELD, M.D.; GROISMAN, E.A. Role of nonhost environments in the lifestyles of *Salmonella* and *Escherichia coli*. **Applied and Environmental Microbiology**, v.69, p.3687-3694, 2003.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Drug-resistance *Salmonella***. 2005. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs139/en/print.html>. Acesso em: 06 set. 2012.