

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

PERFIL DE EXCREÇÃO DE *Salmonella* EM SUÍNOS AO ABATE E PRESENÇA
DE CARCAÇAS POSITIVAS NO PRÉ-RESFRIAMENTO

Daniel Santos Paim

Porto Alegre

2016

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

PERFIL DE EXCREÇÃO DE *Salmonella* EM SUÍNOS AO ABATE E PRESENÇA
DE CARCAÇAS POSITIVAS NO PRÉ-RESFRIAMENTO

Autor: Daniel Santos Paim

Dissertação apresentada como
requisito parcial para obtenção do
grau de Mestre em Ciências
Veterinárias na área de
Bacteriologia Aplicada.

Orientadora: Marisa Ribeiro de
Itapema Cardoso

Porto Alegre

2016

CIP - Catalogação na Publicação

Santos Paim, Daniel

PERFIL DE EXCREÇÃO DE SALMONELLA EM SUÍNOS AO
ABATE E PRESENÇA DE CARÇAÇAS POSITIVAS NO PRÉ-
RESFRIAMENTO / Daniel Santos Paim. -- 2016.
53 f.

Orientadora: Marisa Ribeiro de Itapema Cardoso.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária,
Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias,
Porto Alegre, BR-RS, 2016.

1. micro-organismos indicadores. 2. enumeração de
Salmonella. 3. contaminação de carcaças. 4. suínos
carreadores. I. Ribeiro de Itapema Cardoso, Marisa,
orient. II. Título.

DANIEL SANTOS PAIM

PERFIL DE EXCREÇÃO DE *Salmonella* EM SUÍNOS AO ABATE E PRESENÇA
DE CARCAÇAS POSITIVAS NO PRÉ-RESFRIAMENTO

Aprovado em 26 ABR 2016

APROVADO POR:

Profª. Dra. Marisa Ribeiro de Itapema Cardoso
Orientador e Presidente da Comissão

Dr. Leonardo Werlang Isolan
Membro da Comissão

Prof. Dra. Márcia Monks Jantzen
Membro da Comissão

Prof. Dra. Verônica Schmidt
Membro da Comissão

*Dedico aos meus pais Jane
e Eliseu por possibilitarem
e acreditarem em minha
formação acadêmica.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me dar força para seguir em frente e por me guiar na tomada de decisões.

A minha família pelo incentivo e apoio em todos os momentos, em especial a meus pais por acreditarem e apoiarem minhas decisões. Aos meus irmãos, cunhada e sobrinha pelo apoio e compreensão pelas ausências em alguns momentos.

A professora e orientadora Marisa Cardoso pela confiança, oportunidade e conselhos não só na área acadêmica, mas também pela amizade.

A toda equipe do laboratório de medicina veterinária preventiva pelo apoio na realização do projeto, em especial a Gabriela, Tatiana e a Cláudia pelo auxílio sem o qual não seria possível concretizá-lo. A Caroline pelos conselhos e amizade e a Débora pela amizade, pelos conselhos e pelo auxílio na análise de dados, a dona Bernadete pelo carinho e descontração no ambiente de trabalho.

Aos amigos que me acolheram em Concórdia-SC: João Xavier, Fabiano Bosqueiro, Cristiane Philippsen, Cirilo e Isabelita Bonissoni, foram fundamentais durante minha estada longe de casa.

A equipe do laboratório de sanidade da Embrapa suínos e aves, em especial a Dra. Jalusa, por me receberem durante uma etapa do projeto e a Veterinária Carolina Malgarin pela ajuda e amizade.

A todos que da alguma forma contribuíram para realização desta etapa da minha vida acadêmica.

Resumo

A presença de *Salmonella* no conteúdo intestinal do suíno ao abate é a principal fonte de contaminação da carcaça. O processo de abate embora capaz de controlar a contaminação de carcaças pode não ser capaz de garantir baixa frequência de carcaças positivas para *Salmonella* em lotes que apresentam elevado número de suínos excretadores. O objetivo deste estudo exploratório foi acompanhar lotes suínos abatidos em um matadouro-frigorífico em relação à presença de excretadores de *Salmonella* no conteúdo intestinal e à frequência de carcaças positivas para *Salmonella* no pré-resfriamento. O estudo foi conduzido em dez dias de abate; em cada dia, cinco suínos foram amostrados, totalizando 50 animais, destes foram coletados: sangue, conteúdo intestinal, suabes de superfície da carcaça nas etapas de pós-sangria e pré-resfriamento. O soro foi submetido ao teste ELISA-Typhimurium; *Salmonella* foi enumerada no conteúdo intestinal pela técnica do Numero Mais Provável (NMP); e nos suabes de carcaça foi realizada pesquisa de *Salmonella* e enumeração de Mesófilos aeróbios totais (MAT) e Enterobactérias. Todos os suínos foram positivos na pesquisa de IgG anti-*Salmonella*, em 64% destes *Salmonella* foi detectada no conteúdo intestinal em médias estimadas entre 2,7 e >1.400 NMP/g de conteúdo intestinal. A superfície das carcaças apresentou média de 3,28 log UFC/cm² de MAT, quando amostradas na pós-sangria. As mesmas carcaças, na etapa de pré-resfriamento, apresentaram médias entre 1,43 e 2,48 log UFC/cm², observando-se uma redução logarítmica média de 0,64 a 2,35 UFC/cm² entre as etapas de coleta. A enumeração de Enterobactérias apresentou maior variação entre os dias e entre as etapas de abate. Na etapa de pós-sangria as médias variaram de 0,27 a 2,64 log UFC/cm². Já no pré-resfriamento as médias variaram de -0,71 até 0,46 log UFC/cm². Em relação ao isolamento de *Salmonella*, houve uma frequência de 16% (8/50) de carcaças positivas na etapa de pós-sangria e 8% (4/50) no pré-resfriamento. Os sorovares Typhimurium, Derby, Infantis e O:4,5 foram encontrados nas carcaças. As quatro carcaças positivas no pré-resfriamento foram originadas de suínos que apresentaram *Salmonella* no conteúdo intestinal; duas delas provenientes de um mesmo dia de abate, no qual todos os suínos apresentavam elevado número de *Salmonella* no conteúdo intestinal (130 até > 1.400 NMP/g⁻¹). Os resultados obtidos indicam que lotes de abate com suínos apresentando alta contagem de *Salmonella* no conteúdo intestinal podem apresentar maior frequência de carcaças positivas no pré-resfriamento, mesmo em processos de abate de acordo com os padrões higiênico-sanitários.

Palavras chave: micro-organismos indicadores, enumeração de *Salmonella*, contaminação de carcaças, suínos carreadores.

Abstract

The presence of Salmonella in the intestinal contents of slaughter pigs is considered the main source for carcass contamination. The slaughter process can control the contamination of carcasses, but may not be able to ensure a low frequency of Salmonella-positive carcasses in slaughter batches that have a high number of shedders. The objective of this exploratory study was to follow slaughter pig batches for the presence of Salmonella in intestinal content and to determine the frequency of Salmonella-positive pre-chill carcasses. The study was conducted in ten slaughter; in each day five pigs were sampled for: blood, intestinal contents; carcass surface swabs taken at the post-bleeding and pre-chill steps. The serum was subjected to the ELISA-Typhimurium test; Salmonella was enumerated in the intestinal contents by the Most Probable Number (MPN) protocol; and carcass swabs were subjected to Salmonella detection and enumeration of Total aerobic mesophilic (MAT) and Enterobacteriaceae. All pigs were positive in the anti-Salmonella IgG testing, in 64% of them Salmonella was detected in the intestinal contents. The estimated Salmonella mean ranged from 2.7 to > 1,400 MPN/g⁻¹ of intestinal content. In the carcass surface an averaged of 3.28 log CFU/cm² of MAT was found at the post-bleeding step. The same carcasses presented averages between 1.43 and 2.48 log CFU/cm² in the pre-cooling stage, corresponding to a mean log reduction from 0.64 to 2.35 log CFU/cm² between steps. Enumeration of Enterobacteriaceae showed a greater variation between days and slaughtering stages. In the post-bleeding step averages ranged from 0.27 to 2.64 log CFU/cm². In the pre-cooling the average ranged from -0.71 to 0.46 log CFU/cm². Regarding the isolation of Salmonella, the frequency was 16% (8/50) of positive carcasses at the post-bleeding step and 8% (4/50) at the pre-chilling. The serovar Typhimurium, Derby, Infantis and O:4,5 were found in the carcasses. The four positive carcasses in the pre-cooling step originated from pigs that had Salmonella in intestinal contents, two of them were slaughter on a same day, in which all pigs had a high number of Salmonella in intestinal contents (130 to > 1,400 MPN/g⁻¹). The results indicate that slaughter pig batches presenting high counts of Salmonella in intestinal contents may have higher frequency of positive carcasses in the pre-chilling, even in slaughtering processes complying to hygienic-sanitary standards.

Keywords: indicator microorganisms, Salmonella enumeration, pig carcass contamination, carrier pig.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Fluxograma de abate suíno com identificação dos pontos críticos (PC) e pontos críticos de controle (PCC).....	29
---	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Média de <i>Salmonella</i> estimada pelo protocolo do NMP miniaturizado em conteúdo intestinal de suínos amostrados em dez dias de abate de um matadouro-frigorífico.....	34
Tabela 2 - Enumeração de Mesófilos Aeróbios Totais (MAT) em superfície de carcaças nas etapas de sangria e pré-resfriamento.....	35
Tabela 3 - Enumeração de Enterobactérias na superfície de carcaças nas etapas de sangria e pré-resfriamento.....	36
Tabela 4 - Sorovares de <i>Salmonella</i> em amostras de conteúdo intestinal e suabe de carcaça na etapa de sangria e pré-resfriamento.....	37
Tabela 5 - Número mais Provável (NMP) de <i>Salmonella</i> em conteúdo intestinal, e enumeração de mesófilos aeróbios totais (MAT) e enterobactérias na superfície de carcaças positivas para <i>Salmonella</i> na etapa de pré-resfriamento.	37

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	12
2.1 Gênero <i>Salmonella</i>	12
2.1.1 Infecção por <i>Salmonella</i> em Humanos	13
2.1.2 Infecção por <i>Salmonella</i> em suínos	15
2.2 Transmissão de <i>Salmonella</i> na cadeia de produção de suínos	17
2.2.1 Granja.....	17
2.2.2 Transporte para o abate	19
2.2.3 Pocilgas de pré-abate.....	20
2.3 Processo de abate suíno e controle da contaminação das carcaças.....	21
2.4 Monitoramento e controle	23
2.4.1 Micro-organismos indicadores: Aeróbios mesófilos totais (MAT) e Enterobactérias.....	23
2.4.2 Boas Práticas de Fabricação (BPF)	25
2.4.3 Procedimentos Operacionais Padronizados (POP) e Procedimentos Padrão de Higiene Operacional (PPHO).....	26
2.4.4 Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC)	28
3 MATERIAL E MÉTODOS	30
3.1 Pesquisa de IgG anti- <i>Salmonella</i> em soro pelo teste de ELISA-Typhimurium.....	30
3.2 Preparação das amostras	31
3.3 Enumeração de MAT e Enterobactérias em suabes de carcaça	31
3.4 Isolamento de <i>Salmonella</i>	32
3.5 Enumeração de <i>Salmonella</i> em conteúdo intestinal através do protocolo de NMP miniaturizado.....	32
4 RESULTADOS	34
5 DISCUSSÃO	38
6 CONCLUSÕES.....	42
REFERÊNCIAS	43

1 INTRODUÇÃO

A suinocultura tem se destacado como um dos setores mais importantes do agronegócio no Brasil. A produção mundial em 2014 foi de 110.606 mil toneladas de carne, sendo os maiores produtores a China, União Europeia e USA. O Brasil ocupa a posição de 4º maior produtor com 3.471,7 mil toneladas de carne, neste cenário a região sul responde por 69% da produção. Em relação à exportação de carne suína, o Brasil ocupa a quarta posição mundial com 505 mil toneladas (ABPA, 2015). A carne suína é a terceira proteína animal mais consumida no Brasil após as carnes de frango e bovina (MAPA, 2016), sendo estimado o consumo de 14,6 kg/ano per capita (ABPA, 2015).

Visto a importância e o crescimento da produção de carne suína para atender as necessidades de um mercado consumidor em ascensão, é importante que se adotem padrões de qualidade para garantir o fornecimento de um produto seguro para a alimentação humana. Considerando-se que os alimentos de origem animal podem ser fonte de micro-organismos causadores de DTA o monitoramento destes durante a fase de produção é uma ferramenta importante para garantir sua qualidade. Estudos têm associado a carne suína e seus derivados como fonte de *Salmonella* para o consumidor, demonstrando a importância desta para a saúde pública (SPRICIGO, 2008; MÜRMAN, 2009; FAI, 2011; PISSETI, 2012; VAN HOEK, 2012).

Segundo dados da Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde (2016), em torno de 50% dos casos de surtos de DTA notificados não têm esclarecido qual o alimento envolvido nas ocorrências, porém 2,1 % envolvem carne suína *in natura* e derivados. Quanto à investigação dos micro-organismos envolvidos em surtos, em torno de 58,1% dos casos não têm o agente descoberto; porém entre os casos esclarecidos, *Salmonella* é o agente mais prevalente, sendo encontrado em 14,7% dos casos (BRASIL, 2016).

Estudos têm relatado a ocorrência de surtos de DTA causados por *Salmonella* envolvendo o consumo de carne suína ou seus derivados em diversas partes do mundo (EBUCHI, 2006; DOORDUYN, 2008; CAPALONGA, 2014; SCHROEDER, 2015). O fato de a carne suína estar associada a patógenos causadores de DTA faz com que haja uma preocupação em torno da inocuidade desta, bem como dos fatores que levam a mesma a estar contaminada.

O suíno é a principal fonte de *Salmonella* para o ambiente do matadouro-frigorífico (BOLTON, 2002) e, por este motivo, é importante entender de que forma

ocorre sua participação na contaminação das carcaças durante o processo de abate. Além disso, o fato do suíno poder ser portador assintomático de *Salmonella*, excretando a bactéria no conteúdo intestinal de forma intermitente ou quando submetido a situações de estresse, torna-o extremamente importante quando se pretende investigar a origem de contaminação das carcaças ao abate (JENSEN, 2006; VERBRUGGHE, 2011; KICH & CARDOSO, 2012).

A contaminação da carne suína com *Salmonella* pode ocorrer por diversas vias durante o processo de abate e isto deve ser investigado e minimizado para que o consumidor tenha acesso a um produto seguro do ponto de vista sanitário. Entre as origens de contaminação estão o contato com utensílios e equipamentos da linha de abate ou com outras carcaças contaminadas durante o processo, o que se caracteriza pela contaminação cruzada, além do contato com conteúdo intestinal que, eventualmente, pode extravasar durante alguma etapa do processo (BORCH, 1996; BERENDS, 1997; BUNCIC, 2012). Sabe-se que o processo de abate, quando realizado de forma adequada do ponto de vista higiênico-sanitário e com a implantação de programas de autocontrole, é capaz de eliminar ou reduzir a níveis aceitáveis a presença de microorganismos patogênicos como a *Salmonella* (FORSYTHE, 2013), entretanto observa-se que mesmo em matadouros-frigoríficos com processos de abate em conformidade, ainda são encontradas carcaças positivas para esta bactéria. A partir disso, o objetivo deste trabalho foi conduzir um estudo exploratório onde lotes suínos abatidos em um matadouro-frigorífico com um processo em conformidade com padrões higiênico-sanitários foram observados em relação à presença de excretos de *Salmonella* no conteúdo intestinal e a frequência de carcaças positivas para *Salmonella* no pré-resfriamento.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Gênero *Salmonella*

O gênero *Salmonella* inclui cocobacilos Gram negativos, anaeróbios facultativos, geralmente móveis por flagelos peritríqueos. Apresenta metabolismo tanto respiratório quanto fermentativo. Pertence à família *Enterobacteriaceae* e, como tal, apresenta reação negativa no teste da oxidase e positiva na prova da catalase. *Salmonella* apresenta capacidade de crescimento em temperaturas que variam de 7°C a 45°C e tolera faixas de pH variando entre 4,5 e 9,0. Contudo, seu crescimento ótimo se dá a 37°C e em pH entre 6,5 e 7,5 (HOLT, 1994).

Nas provas bioquímicas apresenta a capacidade de fermentar glicose, produzindo ácido e gás, porém não é capaz de metabolizar a lactose e a sacarose. É capaz de fermentar uma série de carboidratos como arabinose, maltose, manitol, manose, ramanose, sorbitol, trealose e xilose (QUINN, 2011). É negativa para as provas de indol e Voges-Proskauer e positiva para o teste de Vermelho de Metila e Citrato de Simmons, não é capaz de hidrolisar uréia. Além disso, possui a capacidade de descarboxilar a lisina (HOLT, 1994).

O gênero *Salmonella* é dividido em duas espécies: *S. bongori* e *S. enterica*, sendo *S. enterica* subdividida em seis subespécies: *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae*, *indica*, *salamae* e *enterica*. Na classificação pelo esquema de Kauffmann e White, baseada na identificação dos antígenos somáticos (O), flagelares (H) e capsulares (Vi), o gênero está dividido em mais de 2.500 sorovares. Através desta classificação, foi possível verificar que a maior parte dos sorovares de importância em saúde pública pertence à *S. enterica* sub. *enterica* (GRIMONT e WEILL, 2007; FORSYTHE, 2013).

Alguns sorovares de *Salmonella* são adaptados a hospedeiros específicos. Desta forma, também é possível classificar este micro-organismo em dois grupos, os sorovares hospedeiros adaptados e não adaptados. Como exemplo de sorovares adaptados podem ser citados *S. Typhi* ao ser humano, *S. Choleraesuis* aos suínos, *S. Gallinarum* aos frangos e *S. Abortus-equi* aos equinos. Por outro lado, como sorovares não adaptados podem ser citados: Enteritidis, Typhimurium, Anatum, Derby, Panama entre outros. Estes sorovares são capazes de infectar diferentes hospedeiros, causando sinais clínicos ou infecções assintomáticas (ACHA & SZYFRES, 2001; MOXLEY, 2013; FORSYTHE, 2013).

Entre os principais fatores de virulência, pode-se citar: a presença de fimbrias que auxiliam na aderência e colonização intestinal; o lipopolissacarídeo que, além de participar da aderência e colonização intestinal, também induz resposta inflamatória local; e o sistema de secreção tipo III, que participa na transferência de diversos sinalizadores bacterianos para o interior da célula hospedeira, induzindo uma série de eventos nessas células. Entre esses eventos, destaca-se o rearranjo da actina dos enterócitos, o que provoca mudanças na superfície celular resultando no surgimento de projeções da membrana citoplasmática que propicia a macropinocitose da célula bacteriana. Ainda, através do sistema de secreção tipo III, são transferidos fatores que inibem a fusão do fagossomo com os lisossomos, permitindo que *Salmonella* se multiplique dentro da célula do hospedeiro, o que pode inclusive levar à morte celular (FORSYTHE, 2013).

2.1.1 Infecção por *Salmonella* em Humanos

Nos humanos a infecção por *Salmonella* pode se apresentar de três formas distintas, dependendo do sorovar envolvido. A infecção pelo sorovar adaptado *S. Typhi* resulta na febre tifoide. Quando o sorovar envolvido é *S. Paratyphi* ocorre a febre entérica. No caso de infecção por sorovares não adaptados, que constituem a maioria, há um quadro de gastroenterite. A febre tifoide está associada à ingestão de água ou alimentos contaminados por fezes ou urina de seres humanos com doença clínica ou portadores assintomáticos. Indivíduos portadores podem albergar a bactéria na vesícula biliar, principalmente quando apresentam cálculos biliares, onde a bactéria sobrevive na forma de biofilme e é liberada para o lúmen intestinal de forma intermitente (GONZALES-ESCOBEDO, 2010; CRAWFORD, 2010). Essa enfermidade é mais prevalente em regiões onde as condições de saneamento são precárias (SILVA JR., 2010; GONZALES-ESCOBEDO, 2010).

A febre tifoide caracteriza-se pelo caráter septicêmico. Diversos tecidos - fígado, baço, vesícula biliar, medula óssea e intestino - são afetados. Geralmente, os primeiros sintomas aparecem entre 7 e 28 dias após a infecção; e os indivíduos acometidos apresentam febre prolongada, cefaleia, inapetência, náusea, vômito, constipação, diarreia, entre outros sintomas, podendo levar o paciente à óbito (PARRY, 2002; GONZALES-ESCOBEDO, 2010; FORSYTHE, 2013).

A febre entérica também resulta do consumo de água e alimentos contaminados como, por exemplo: leite, vegetais crus, mariscos e ovos. A sintomatologia é semelhante à febre tifoide, apesar de mais branda, mas alguns casos também podem evoluir para septicemia (SHINOHARA, 2008).

Finalmente, a gastroenterite associada aos sorovares não adaptados caracteriza-se pelo curso rápido, aparecendo os primeiros sintomas entre 12 e 36 horas após a ingestão do alimento contaminado. Os sintomas mais frequentes são: dor abdominal, diarreia, náuseas e mal estar. Esse quadro, geralmente, estende-se por 72 horas e tende a ser auto-limitante (PINTO, 2000; FORSYTHE, 2013). Entre os sorovares envolvidos nos casos de gastroenterite por *Salmonella*, o mais prevalente é *S. Enteritidis*, mas também são relatados casos envolvendo outros sorovares como Typhimurium, Derby, Panama, Schwarzengrund, Infantis, Agona, entre outros. (FORSYTHE, 2013; CAPALONGA, 2014).

Os sorovares não adaptados de *Salmonella* são o patógeno mais implicado em surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA) no Brasil, respondendo por cerca de 14,7 % dos casos de DTA registrados pelo sistema de vigilância sanitária (BRASIL, 2015). Diversos alimentos podem ser responsáveis por veicular esses sorovares de *Salmonella* em surtos de infecção alimentar. Entre eles, destacam-se ovos e produtos à base de ovos crus e produtos cárneos (SHINOHARA, 2008; FORSYTHE, 2013; BRASIL, 2015).

Entre os diversos alimentos cárneos que podem veicular *Salmonella*, a carne suína e produtos derivados podem desempenhar um papel importante. Fai *et al.* (2011), analisaram 40 amostras de presunto suíno cozido fatiado, oriundas de 26 estabelecimentos comerciais na cidade de Fortaleza (CE), e encontraram 30 % delas com presença de *Salmonella*. Esse resultado demonstra o risco que esse alimento pode representar para a ocorrência de DTA's, visto que o presunto cozido é frequentemente consumido sem tratamento térmico.

Em linguiça frescal de carne suína, Loguercio *et al.* (2002) e Spricigo *et al.* (2008) encontraram *Salmonella* em 11,82 % e 12,8 % das amostras, respectivamente, sendo que o sorovar Typhimurium foi o mais prevalente. Em estudo feito por Mürmann *et al.* (2009), no qual também foram avaliadas amostras de linguiça frescal comercializada em Porto Alegre, encontrou-se 24% de amostras positivas para *Salmonella*, sendo isolados os sorovares Brandenburg, Panama, Derby e Typhimurium.

2.1.2 Infecção por *Salmonella* em suínos

A infecção por *Salmonella* em suínos apresenta-se sob duas formas distintas. A primeira ocorre na forma de septicemia ou gastroenterite, geralmente associada ao sorovar *S. Choleraesuis* e eventualmente à *S. Typhimurium*. A segunda forma está associada aos sorovares não adaptados e, normalmente, é assintomática (WILLS, 2000; KICH & CARDOSO, 2012).

Para causar infecção, *S. Choleraesuis* não necessita de alta dose bacteriana. A colonização inicial ocorre no íleo e cólon, onde a bactéria invade enterócitos e células M e chega à corrente sanguínea, causando septicemia. Animais inoculados experimentalmente podem excretar $3,6 \log_{10}$ UFC/g de fezes após 24 horas da inoculação e a excreção pode prolongar-se por mais de 87 dias em leitões (GRAY, 1996; ANDERSON, 2000).

Já a infecção por *S. Typhimurium* necessita de uma dose infectiva alta e não há preferência por sítio de invasão. A principal porta de entrada para a submucosa são as placas de Peyer, onde ocorre a invasão por endocitose, atravessando a lâmina basal e alcançando a lâmina própria por exocitose (FEDORKA-CRAY, 1995; KICH & CARDOSO, 2012).

Salmonella tem capacidade de sobreviver no interior de macrófagos e neutrófilos da lâmina própria e a partir daí chegar aos linfonodos mesentéricos. Além disso, *S. Typhimurium* tem capacidade de sobreviver nas tonsilas, linfonodos, fígado, baço e pulmões (KICH & CARDOSO, 2012). Quando ocorre a infecção por sorovares não-adaptados em suínos, apesar de não haver sinais clínicos, os animais frequentemente tornam-se portadores da bactéria e podem voltar a excretar a bactéria nas fezes a qualquer momento, principalmente quando submetidos ao estresse.

2.1.2.1 Suíno como portador e excretor de *Salmonella*

Como já mencionado, após sofrer infecção por *Salmonella* o suíno pode tornar-se portador assintomático, assumindo grande importância na transmissão para outros animais do rebanho. Além disso, esses portadores também promovem a disseminação de *Salmonella* no ambiente pré-abate, bem como são fonte de contaminação de carcaças na linha de abate, assumindo um papel importante para saúde pública. Estes animais podem carrear *Salmonella* por meses nas tonsilas, intestino e tecido linfóide associado

(VERBRUGGHE, 2011; KICH & CARDOSO, 2012) e excretam, de forma intermitente, baixo número de *Salmonella* (<100 UFC/g) (JENSEN, 2006).

Porém, quando submetidos à situações estressantes, pode haver aumento na frequência e no número de *Salmonella* excretada. Um dos motivos que leva ao aumento da excreção de *Salmonella* é a liberação de catecolaminas que provocam, entre outros efeitos no hospedeiro, o aumento da motilidade intestinal e conseqüente aumento na frequência de defecação (BERENDS, 1996). A aplicação de dexametasona também demonstrou levar ao aumento da excreção de *Salmonella*, além de estimular a multiplicação intracelular da bactéria nos macrófagos (VERBRUGGHE, 2011). Portanto, o estresse desempenha um papel importante na excreção de *Salmonella* pelos portadores.

Durante as diferentes fases de produção, por sua vez, os suínos são submetidos à diversos fatores estressantes. Entre esses, o jejum a que os animais são submetidos antes do transporte para o abate tem papel importante. O jejum é observado para diminuir o conteúdo no interior do trato gastrointestinal e o risco de ruptura do mesmo durante a evisceração. O jejum pré-abate, que pode alcançar períodos maiores de 12 horas, é um fator estressante e provoca aumento dos níveis de cortisol no sangue, podendo levar ao aumentar do número de *Salmonella* no intestino do portador (VERBRUGGHE, 2011). Também um longo período sem alimentação pode provocar alteração da microbiota intestinal, o que pode contribuir para o aumento de *Salmonella* (MARTIN-PELAEZ, 2009; DE BUSSER, 2013).

Além do jejum, o transporte para o matadouro-frigorífico é um fator de estresse, principalmente quando ocorrem práticas inadequadas como: manejo inadequado do ponto de vista do bem-estar animal durante o embarque e desembarque, superlotação do caminhão e longa duração da viagem (DE BUSSER, 2013).

Estudos experimentais em ratos demonstraram que, em alguns indivíduos, a excreção de *Salmonella* pode alcançar entre 10^8 e 10^{10} UFC/g de fezes, sendo estes animais considerados super-excretores (GOPINATH, 2012). Em estudo conduzido por Lawley *et al.* (2008), 27 % dos ratos expostos à 10^8 UFC/mL de *Salmonella* apresentaram o estado de super-excretores. Este estudo demonstrou, ainda, que a imunossupressão pode reativar a infecção sistêmica, mas não induz ao estado de super-excretor. Por outro lado, a redução da microbiota intestinal normal e a utilização de antimicrobianos predispõe ao estado de super-excretor. Ratos super-excretores

demonstraram ser mais eficientes em transmitir *Salmonella* para ratos negativos (LAWLEY, 2008).

Estudos demonstraram que o suíno pode excretar em torno de 10^6 UFC/g de *S. Typhimurium* nas fezes durante as duas primeiras semanas após infecção. Esse número tende a decrescer nas semanas seguintes, passando a ocorrer de forma intermitente. Identificar animais positivos e quantificar a excreção de *Salmonella* nas fezes são ferramentas que podem auxiliar no controle da contaminação de carcaças, porém exigem técnicas laboriosas de isolamento e quantificação.

A infecção de lotes suínos por *Salmonella*, tanto de forma clínica quanto sub-clínica, leva à soro-conversão que pode ser detectada por teste de ELISA indireto (NIELSEN *et al.*, 1995; KICH *et al.*, 2007). Assim, uma alternativa para determinar se os animais foram expostos à *Salmonella* é a pesquisa de anticorpos pelo teste de ELISA. Entretanto, a sorologia indica se o animal teve contato com a bactéria, não significando a situação atual de infecção (JENSEN, 2006). O teste de ELISA indireto tem sido utilizado em diversos estudos como forma de avaliar a exposição do rebanho à *Salmonella* e, assim, inferir sobre a possibilidade de haver portadores da bactéria. É possível verificar que a soroprevalência dos rebanhos pode variar bastante. Estudos conduzidos por Schwarz *et al.* (2009) e Kich *et al.* (2005) no sul do Brasil demonstraram soroprevalências entre 57,6% e 77,8%, respectivamente. No estudo de Schwarz *et al.* (2009), 98% das granjas foram positivas para *Salmonella*, demonstrando que esse patógeno está amplamente disseminado na cadeia produtiva de suínos. Utilizando a sorologia como variável resposta, é possível investigar os fatores de risco que estão associados à maior frequência de animais expostos no lote.

2.2 Transmissão de *Salmonella* na cadeia de produção de suínos

2.2.1 Granja

Diversos são os fatores de risco identificados para infecção por *Salmonella* em suínos, entre eles podemos citar: o tipo de alimento fornecido aos animais, infecção concomitante por alguns patógenos, o tamanho dos lotes, as falhas nas práticas de higiene, o tipo de piso das baias, o contato entre os animais nos ambientes de criação, as diferentes origens dos animais alojados, entre outros fatores.

O tipo de alimento fornecido aos animais pode influenciar na infecção por *Salmonella*. Segundo Mikkelsen *et al.* (2004), Lo Fo Wong *et al.* (2004) e Wilkins *et al.* (2010) a alimentação seca, sólida ou peletizada aumenta as chances de infecção por *Salmonella*. Isto ocorre porque a ração peletizada promove uma diminuição da acidez estomacal, bem como o aumento da secreção da mucina, o que contribui para a sobrevivência da bactéria durante a passagem pelo estômago, propiciando a posterior colonização no intestino (HEDEMANN, 2005).

Ao contrário, segundo Hotes *et al.* (2010) e Farzan *et al.* (2006), a alimentação úmida, líquida ou líquida fermentada favorece a diminuição do pH, criando um ambiente hostil para a sobrevivência e colonização de *Salmonella*.

A contaminação da ração por *Salmonella* também é um fator importante a ser considerado, pois veicula o patógeno de forma direta ao suíno. Estudo realizado por Pellegrini *et al.* (2015) demonstrou que pode haver presença de *Salmonella* na poeira, equipamentos e ingredientes em fábricas de ração, bem como em caminhões que transportam a ração até as granjas. A presença de *Salmonella* em ração armazenada em silos de granjas foi relatada por Silva *et al.* (2006), que encontraram 7,7 % de amostras positivas nas granjas estudadas. Anteriormente, Kich *et al.* (2005) haviam encontrado a ração como um fator de risco para infecção de suínos por *Salmonella* no sul do Brasil.

A possibilidade de infecção dos suínos por *Salmonella* via ração contaminada foi demonstrada por Molla *et al.* (2010), que analisando isolados de *Salmonella* provenientes de ração e de fezes de suínos alimentados com a mesma encontraram o mesmo perfil de macro-restrição (PFGE) em ambos os grupos de isolados.

Beloil *et al.* (2007) demonstraram que o tamanho do lote de suínos influenciava diretamente a soroprevalência anti-*Salmonella* do lote. Farzan *et al.* (2006) também encontraram maior frequência de animais soropositivos em rebanhos classificados como grandes, com mais de 2000 animais na fase de crescimento e terminação, em comparação à rebanhos de tamanho médio ou pequeno, esse último com até 500 animais em crescimento e terminação.

Outro fator que demonstrou influenciar a frequência de isolamento de *Salmonella* e a soroprevalência do rebanho foram as práticas de higiene. Granjas que criavam suínos em instalações com menor grau de higiene apresentaram maior número de animais soropositivos quando comparadas à granjas que possuíam boas práticas de higiene (LO FO WONG *et al.*, 2004). Da mesma forma, práticas como lavar as mãos e troca de roupa e calçados antes de entrar nas instalações onde os suínos estão alojados

estiveram associadas com uma menor soroprevalência (LO FO WONG *et al.*, 2004; RAJIC, O'CONNOR, 2007).

Aspectos relativos às instalações também foram identificadas como fatores de risco. Lotes de animais criados em baias com piso vasado apresentaram menor frequência de soropositivos para *Salmonella* quando comparados à lotes criados em baias com piso sólido (NOLLET, 2004; HOTES, 2010). Outro fator que demonstrou ser importante foi a possibilidade de contato entre animais de baias vizinhas, que resultou em maior chance de aumento de animais positivos para *Salmonella* (LO FO WONG *et al.*, 2004 e WILKINS, 2010). O tipo de bebedouro também foi um fator de risco identificado, onde criações com bebedouro do tipo *niple* tiveram menor chance de ter animais soropositivos em relação à granjas com bebedouros tipo cocho (BAHNSON, 2006).

Em termos de manejo dos lotes, o número de origens dos animais alojados é um fator que deve ser considerado. Criações que tiveram mais de três fornecedores de animais apresentaram maior chance de serem positivas, quando comparadas com criações onde a reposição foi própria ou feita por até três diferentes origens (LO FO WONG *et al.*, 2004). O mesmo fator de risco foi identificado por Kich *et al.* (2005) no Brasil.

A co-infecção dos lotes por outros patógenos, como *Lawsonia* e o vírus da Síndrome reprodutiva e respiratória dos suínos (PRRS), foi associada ao aumento de suínos positivos para *Salmonella* (WILLS, 2000; BELOEIL E FRAVALO, 2004; BELOEIL, 2007). Van der Wolf *et al.* (2001) relataram que suínos com fígado condenado por infestação parasitária apresentaram maior frequência de sorologia positiva para *Salmonella*.

2.2.2 Transporte para o abate

A etapa de transporte dos animais da granja para o matadouro-friogorífico é um importante fator que influencia o número de animais que chegam portadores de *Salmonella* ao abate.

O estresse a que os animais são submetidos nesta etapa faz com que aqueles que são portadores excretem a bactéria, contaminando o ambiente e o caminhão (BERENDS, 1996; DE BUSSER, 2013). A contaminação residual do caminhão de transporte, por sua vez, é importante para transmissão de *Salmonella*. Segundo Dorr *et*

al. (2009) as etapas de limpeza e desinfecção dos caminhões de transporte podem não eliminar completamente *Salmonella*. Mannion *et al.* (2008) demonstraram a contaminação residual em caminhões de transporte de suínos, mesmo após etapas de lavagem e desinfecção. Também Swanenburg *et al.* (2001) encontraram caminhões contaminados antes e após o transporte de suínos para o abatedouro. Neste estudo, demonstrou-se que rebanhos negativos foram infectados durante o transporte. Da mesma forma, Hurd *et al.* (2002) demonstraram aumento da diversidade de sorovares de *Salmonella* isolados em lotes suínos após o transporte para o abatedouro. Isto evidencia que os animais podem se infectar durante o transporte.

2.2.3 Pocilgas de pré-abate

Associado ao estresse provocado pelo transporte dos animais até o matadouro-frigorífico, o período de permanência nas pocilgas de espera é um fator de grande impacto na excreção de *Salmonella* e na infecção dos animais (DE BUSSER, 2013).

O ambiente da pocilga de espera é, comprovadamente, fonte de transmissão de *Salmonella* para os suínos no matadouro. Busser *et al.* (2011) analisaram a presença de *Salmonella* em pocilgas de espera de cinco matadouros-frigoríficos, encontrando até 100% de amostras colhidas no ambiente positivas. Os mesmos autores verificaram que o mesmo perfil genotípico de *Salmonella* foi encontrado entre isolados provenientes da pocilga e da cavidade oral dos animais, demonstrando a transmissão da bactéria a partir do ambiente. Além disso, observou-se que a frequência de contaminação das pocilgas pode variar significativamente entre dias de abate (BOUGHTON, 2007a). Também Swanenburg *et al.* (2001) demonstraram que as pocilgas de espera estavam contaminadas antes mesmo do alojamento dos animais para o abate. No Brasil, diversos estudos têm avaliado a frequência de isolamento de *Salmonella* em pocilgas de espera, encontrando entre 25% e 83,3% de amostras colhidas positivas (SILVA, 2006; SEIXAS, 2009; PISSETI, 2012).

O grau de contaminação da pocilga por *Salmonella*, por sua vez, parece influenciar a infecção dos suínos alojados. Boughton *et al.* (2007b) simularam ambientes de pocilgas de espera com diferentes graus de contaminação por *Salmonella*. Os animais expostos a um ambiente com $5,4 \log_{10}$ UFC/100 cm² apresentaram *Salmonella* nas tonsilas em duas horas de exposição. Já animais expostos a um ambiente

com $2,65 \log_{10}$ UFC/100 cm² apresentaram *Salmonella* no conteúdo fecal com três horas de exposição.

Estudo conduzido por Hurd *et al.* (2001) já havia demonstrado que 50% dos suínos expostos ao ambiente contaminado apresentavam *Salmonella* no íleo distal após 30 minutos e, após seis horas de contato, todos os animais amostrados eram positivos. Esses resultados evidenciam a importância do ambiente das pocilgas de espera como fonte de transmissão de *Salmonella* imediatamente antes do abate.

2.3 Processo de abate suíno e controle da contaminação das carcaças

Durante o processo de abate os níveis de contaminação da carcaça podem aumentar ou diminuir, por este motivo algumas etapas têm papel fundamental para qualidade microbiológica do produto final.

O suíno é a principal fonte de contaminação para o processo de abate e ambiente do matadouro-frigorífico. Por este motivo, o controle rigoroso nos processos de higiene e desinfecção das pocilgas de espera deve ser adotado para reduzir os níveis de contaminação nas primeiras etapas do abate. Além disso, a prática de lavagem dos animais antes de entrar no frigorífico reduz os níveis de *Salmonella* (BOLTON, 2002).

Na etapa da sangria existe a possibilidade de ocorrer contaminação cruzada por facas e ganchos. Esta contaminação pode ser evitada ou minimizada através da adoção de práticas de higienização destes utensílios. Uma prática que pode ser adotada nesta etapa é a utilização de duas facas, neste sentido o operador da sangria utilizará uma faca e a segunda estará imersa em água a uma temperatura de 82°C (BORCH, 1996; BOLTON, 2002; BUNCIC, 2012).

Após a etapa de sangria as carcaças são submetidas à etapa de escalda, que tem por finalidade promover a dilatação dos poros e, assim, facilitar a etapa de depilação. Esta etapa tem a capacidade de reduzir a contaminação bacteriana, desde que seja realizado o controle de tempo e temperatura corretamente (HALD, 2003). Segundo estudo feito por Wheatley *et al.* (2014), esta redução pode chegar a até $2,8 \log_{10}$ UFC/cm² para micro-organismos mesófilos aeróbios totais (MAT). O tempo que o procedimento de escalda deve durar pode variar de seis a oito minutos e a temperatura deve estar acima de 62°C para reduzir efetivamente os micro-organismos indicadores e *Salmonella*; associado a este parâmetro a água deve ser renovada constantemente (BERENDS, 1997; NAMVAR, 2006; BOLTON, 2013; WHEATLEY, 2014). Segundo

Bolton *et al.* (2002) e Pearce *et al.* (2004) a etapa de escalda pode ser capaz de reduzir a frequência de carcaças positivas para *Salmonella* de 30% para 1% após este processo. Também foram observadas reduções em contagens de Enterobactérias e MAT após esta etapa do abate (BERENDS, 1997; BOLTON, 2002; PEARCE, 2004). Por outro lado, caso a água da escalda esteja com a temperatura inferior à 60°C ou com presença de grande quantidade de matéria orgânica, pode haver sobrevivência de micro-organismos e contaminação cruzada das carcaças. Ainda, pode ocorrer contaminação dos pulmões por entrada de água nesta etapa, por este motivo o controle do binômio tempo/temperatura é fundamental (BORCH, 1996; HALD, 2003).

Após a escalda, as carcaças passam pelo processo de depilação. Esta etapa é responsável pela remoção das cerdas das carcaças; e a duração deste procedimento é de aproximadamente 10 a 15 segundos (BORCH, 1996). Devido à dificuldade de limpeza deste equipamento, pode haver contaminação cruzada de carcaças nesta etapa. Indicadores como MAT e Enterobactérias podem apresentar aumento de $2 \log_{10}$ UFC/cm² em relação à etapa de sangria (PEARCE, 2004; NAMVAR, 2006).

A etapa do chamuscamento, realizada após a depilação, é capaz de reduzir as contagens de micro-organismos em até $2,5 \log_{10}$ UFC/cm². Nesta etapa a temperatura das carcaças pode atingir 100°C, por 10 a 15 segundos, reduzindo significativamente a contaminação por MAT, Enterobactérias e *Salmonella* (BORCH, 1996; BERENDS, 1997; PEARCE, 2004; WHEATLEY, 2014).

Por sua vez, a etapa de polimento, que tem por finalidade remover cerdas que permaneceram após o processo de chamuscamento, pode contribuir para o aumento das contagens microbianas em $1,5 \log_{10}$ UFC/cm². Isso decorre da presença residual de bactérias nas carcaças ou no equipamento, devido à dificuldade de higienização do mesmo (BORCH, 1996; BERENDS, 1997; HALD, 2003; PEARCE, 2004; BUNCIC, 2012).

As contagens de MAT e de Enterobactérias podem aumentar após a etapa de evisceração (NAMVAR, 2006; WHEATLEY, 2014). A contaminação das carcaças durante a evisceração pode ocorrer devido ao risco de ruptura de vísceras, que, por consequência, acarreta em contaminação por matéria fecal. Além disso, pode ocorrer contaminação pela utilização de facas e ganchos, principalmente se a higienização e troca desses utensílios não forem realizadas de forma correta durante o procedimento de abate (BORCH, 1996; BERENDS, 1997; BUNCIC, 2012). Por outro lado, quando ocorre treinamento dos funcionários e utilização de técnicas corretas na etapa de

evisceração, o risco de corte acidental de uma alça intestinal é reduzido e, por consequência, diminui o risco de contaminação da carcaça. A oclusão do reto é outra medida de controle fundamental para evitar contaminação na linha de abate. Esta prática também objetiva evitar que o conteúdo intestinal extravase e contamine a carcaça (NESBAKKEN, 1994; BORCH, 1996; DE BUSSER, 2013).

Após a evisceração alguns procedimentos ainda podem oferecer risco para a contaminação das carcaças. A serra utilizada na divisão das carcaças pode ser uma fonte de contaminação cruzada caso não seja higienizada entre carcaças (BORCH, 1996; DE BUSSER, 2013). A retirada da cabeça e a etapa de inspeção sanitária igualmente podem ser etapas onde ocorre contaminação cruzada. A primeira devido ao risco de manipulação e cortes realizados nos tecidos próximos à papada, visto que são tecidos com elevada contaminação microbiana; a segunda devido à palpação e os cortes que os inspetores devem realizar no tecido cárneo para o exame oficial (NESBAKKEN, 1994; BORCH, 1996; VAN DAMME, 2010).

2.4 Monitoramento e controle

O monitoramento e a garantia de qualidade da produção de alimentos podem ser feitos de diferentes formas. A análise microbiológica do produto final é uma delas, geralmente sendo realizada através da quantificação de micro-organismos indicadores como os MAT e as Enterobactérias, ou a pesquisa de patógenos específicos como *Salmonella*.

Entretanto, a adoção de procedimentos de controle durante o processo de produção do alimento, como as Boas Práticas de Fabricação (BPF), os Procedimentos Padrão de Higiene Operacional (PPHO) e o sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) representa a principal forma de garantir um alimento de qualidade (FORSYTHE, 2013).

2.4.1 Micro-organismos indicadores: Aeróbios mesófilos totais (MAT) e Enterobactérias

Os micro-organismos indicadores têm sido utilizados na avaliação da qualidade microbiológica de processo e dos alimentos. São grupos ou espécies que, quando presentes, podem indicar a possível contaminação de origem fecal, o risco da presença

de patógenos ou a deterioração do alimento. Além disso, estes micro-organismos podem indicar condições sanitárias inadequadas durante o processamento, produção e armazenamento dos alimentos (FRANCO e LANDGRAF, 1996).

A enumeração de MAT serve para determinar a qualidade higiênico-sanitária do alimento. Um elevado número de micro-organismos desse grupo presente no alimento, mesmo na ausência de alterações das características organolépticas, indica que este alimento é insalubre (FRANCO e LANDGRAF, 1996; ADAMS e MOSS, 2005). Em alimentos perecíveis, pode indicar falhas de armazenamento, em relação ao binômio tempo-temperatura. Ainda, pode indicar que houve condições para o desenvolvimento de bactérias patogênicas de origem alimentar, visto que estas possuem como característica o fato de serem mesófilas (FRANCO e LANDGRAF, 1996).

A enumeração de Enterobactérias por outro lado, indica a presença de um grupo mais restrito de micro-organismos no alimento, incluindo os que fermentam lactose como a *Escherichia coli* e os que não fermentam como *Salmonella* (FORSYTHE, 2013). No entanto, cabe ressaltar que a presença destes micro-organismos não indica, necessariamente, que houve contaminação de origem fecal no alimento; mas sugere que pode ter ocorrido processamento inadequado, contaminação após o processamento ou ausência de boas condições higiênico-sanitárias no ambiente de processamento (FORSYTHE, 2008).

Devido às características desses grupos de micro-organismos indicadores, a legislação brasileira preconiza através da Circular Nº 175/2005/CGPE/DIPOA, que as indústrias de alimentos, entre elas a da carne, realizem um controle microbiológico periódico dos seus procedimentos, bem como da matéria prima utilizada (BRASIL, 2005).

A União Europeia utiliza os indicadores MAT e Enterobactérias como controle de processo, onde são realizadas coletas de cinco a dez amostras por semana durante seis semanas consecutivas. Por outro lado, a legislação dos Estados Unidos exige a execução de testes microbiológicos diários para *Escherichia coli* e *Salmonella*, sendo que os testes para *Salmonella* devem ser executados exclusivamente pelo serviço de inspeção oficial, na frequência de uma amostra para cada 300 carcaças ou fração. Por este motivo, é indicado aos estabelecimentos credenciados à exportação para a União Europeia e Estados Unidos, simultaneamente, que realizem testes para *E.coli* e *Samonella*, na forma prevista na legislação dos Estados Unidos, além da enumeração de MAT e Enterobactérias, como prevê a legislação da União Europeia.

A legislação da União Europeia não define o ponto exato de coleta das amostras, indica apenas que deve ser realizada antes da etapa de resfriamento. Quanto aos resultados da enumeração de MAT e Enterobactérias, há limites pré-estabelecidos para produtos cárneos. É classificado como aceitável o produto que apresenta valores inferiores a $4 \log \text{UFC/cm}^2$ de MAT; quando apresenta valores superiores a $5 \log \text{UFC/cm}^2$ é classificado como inaceitável. Já para Enterobactérias os limites devem ficar abaixo de $2 \log \text{UFC/cm}^2$ e não devem ultrapassar $3 \log \text{UFC/cm}^2$. Quando amostras apresentam valores entre os limites aceitáveis e inaceitáveis, devem ser tomadas medidas de correção na indústria (EU, 2001; EU, 2005).

Em relação aos testes para *E. coli*, exigidos pela legislação dos Estados Unidos, as amostras não podem ultrapassar o limite de 10 UFC/cm^2 . Segundo essa legislação, é tolerado um limite de três carcaças apresentando entre 10 UFC/cm^2 e $10 \times 10^3 \text{ UFC/cm}^2$, em uma amostragem de 13 carcaças (USDA, 1996).

No Brasil, a circular nº 130/2007/CGPE/DIPOA orienta os estabelecimentos exportadores à adotarem práticas de controle de processo e realizar testes microbiológicos através da pesquisa de MAT, Enterobactérias e *Salmonella*. Esta circular foi elaborada com o intuito de auxiliar a indústria brasileira a atender os critérios sanitários dos países importadores (BRASIL, 2007). O limite para *Salmonella*, em um ciclo amostral de 50 carcaças, é a presença de cinco amostras positivas. Este ciclo de amostragem deve ser realizado uma vez por semestre. No caso das Enterobactérias é considerado aceitável a presença de até $2 \times 10^2 \text{ UFC/cm}^2$, já a presença de mais de $2 \times 10^3 \text{ UFC/cm}^2$ caracteriza-se como inaceitável. Para MAT o nível aceitável é de até $5 \times 10^3 \text{ UFC/cm}^2$, e níveis acima de $1 \times 10^5 \text{ UFC/cm}^2$ são considerados como inaceitáveis. Assim como na legislação da União Europeia, quando amostras apresentam resultados entre os limites aceitável e inaceitável, devem ser tomadas medidas corretivas em relação ao processo de abate (BRASIL, 2007).

2.4.2 Boas Práticas de Fabricação (BPF)

As BPF são um conjunto de procedimentos estabelecidos com a finalidade de gerar um alimento com padrão de qualidade higiênico-sanitário aceitável. Este conjunto de procedimentos deve incluir princípios básicos, procedimentos e meios necessários para o desenvolvimento de um ambiente de produção de alimentos com qualidade (FORSYTHE, 2013).

A implantação de BPF em uma indústria de alimentos deve atender à alguns itens básicos como o controle de saúde dos funcionários, matérias primas, visitantes, a estrutura dos estabelecimentos, a higiene e a manipulação. Um manual de boas práticas deve descrever as condutas e procedimentos que serão adotados pela equipe de trabalho, em todas as etapas do processamento, para garantir um produto final com a melhor qualidade possível do ponto de vista higiênico-sanitário (SILVA JR., 2010).

A legislação brasileira através da Portaria nº 368/1997/MAA estabelece as condições higiênico-sanitárias e de boas práticas de elaboração para estabelecimentos elaboradores/ industrializadores de alimentos. Esta portaria estabelece os requisitos gerais de higiene e de boas práticas de elaboração para alimentos elaborados/industrializados para o consumo humano. Além disso, aborda detalhadamente os princípios que devem ser adotados com relação à procedência da matéria-prima, as instalações, limpeza dos estabelecimentos, higiene de pessoal e requisitos sanitários, higiene na elaboração do produto alimentício além do armazenamento e transporte de matérias primas e dos produtos acabados (BRASIL, 1997).

Além disso, as BPF são pré-requisitos para outros sistemas de controle como a Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) (FORSYTHE, 2013).

2.4.3 Procedimentos Operacionais Padronizados (POP) e Procedimentos Padrão de Higiene Operacional (PPHO)

Os POP/PPHO são documentos que descrevem, de forma padronizada, as instruções das operações e a frequência de execução das atividades realizadas na indústria para garantir que todas as práticas realizadas sejam feitas da mesma forma, independentemente do funcionário que as realizar. Esses métodos padronizados são parte integrante das BPF e consistem na descrição detalhada de todas as etapas que devem ser seguidas em procedimentos de higienização de equipamentos, utensílios ou ambientes de processamento (TONDO e BARTZ, 2011).

A legislação brasileira, através das circulares nº 369/2003/DCI/DIPOA e nº 175/2005/CGPE/DIPOA, define instruções para elaboração e implantação do PPHO nos estabelecimentos habilitados à exportação de carnes. Estas instruções indicam que os PPHO devem descrever todos os procedimentos de limpeza e sanitização executados diariamente pelo estabelecimento para prevenir a contaminação do produto. Devem ser

abrangidas as operações de limpeza e sanitização das instalações e equipamentos nas áreas de produção, com ênfase nas superfícies que entram em contato com os alimentos. Um PPHO é subdividido em duas atividades: uma pré-operacional, que inclui os procedimentos de limpeza e sanitização quando o estabelecimento não está em atividade. E as atividades operacionais, que são as operações de limpeza e sanitização realizadas durante a produção e nos intervalos entre turnos ou descanso dos funcionários (BRASIL, 2003; BRASIL, 2005).

Tanto os procedimentos pré-operacionais como os operacionais devem conter a data e assinatura do funcionário com maior autoridade no estabelecimento, nome ou cargo do responsável pelos procedimentos, os procedimentos de limpeza e sanitização das instalações e dos equipamentos, os procedimentos de monitoria, as ações corretivas, as medidas preventivas e registros todos de forma detalhada. A cargo do serviço de inspeção federal fica avaliar a execução do PPHO pela empresa, através da verificação diária de sua eficácia registrada em relatório próprio (BRASIL, 2003; BRASIL, 2005).

Especificamente nos processos de abate, há particularidades que dificultam a identificação do momento mais oportuno para a verificação dos procedimentos de limpeza inseridos durante as atividades operacionais. Exemplo disso são as facas, serras e alicates que devem ser lavados e sanificados, através da imersão em esterilizadores a 82° C por 20 segundos após cada operação. Também, durante os trabalhos pode ocorrer uma contaminação mais extensa, por conteúdo gastrointestinal durante a evisceração, ou por abscesso, durante a divisão das carcaças. Nestes casos, os equipamentos/instrumentos envolvidos devem ser submetidos a uma limpeza e sanitização mais completa e eficiente e, se for o caso, removidos da linha de produção. Todos estes procedimentos devem estar descritos no PPHO (BRASIL, 2005).

Ainda, as indústrias de alimentos devem possuir POPs referente à higienização de instalações, equipamentos e móveis; controle de vetores e pragas; higienização de reservatórios e higiene e saúde dos colaboradores (SILVA JR., 2010).

Estes procedimentos servem como ferramentas de monitoramento e registro da execução das operações, servindo também como base para tomada de decisões quando há necessidade de aplicação de ações corretivas, bem como a verificação dos processos (TONDO e BARTZ, 2011).

Assim como parte integrante das BPF, os POP/PPHO são considerados pré-requisitos para indústrias que pretendem implantar programas como a APPCC (FORSYTHE, 2013).

2.4.4 Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC)

O sistema APPCC é uma ferramenta muito utilizada na indústria de alimentos e tem como principal finalidade garantir a segurança dos alimentos no que tange à perigos químicos, físicos e biológicos. Este método se baseia na identificação, avaliação e controle dos perigos, garantindo a inocuidade do alimento (FORSYTHE, 2013).

O sistema APPCC é estruturado em sete princípios básicos: análise de perigos e identificação de medidas de controle para cada perigo identificado, determinação dos pontos críticos de controle (PCC), estabelecimento dos limites críticos para cada PCC, estabelecimento dos procedimentos de monitoração, estabelecimento das correções e ações corretivas, estabelecimento dos procedimentos de verificação e estabelecimento dos procedimentos de registro do sistema (SILVA JR, 2010; TONDO e BARTZ, 2011).

Assim como nos outros programas de autocontrole já mencionados anteriormente, a legislação brasileira também orienta os estabelecimentos que processam alimentos no que tange a elaboração e implantação deste sistema. Assim como no PPHO, o plano de APPCC deve ser datado e assinado pelo indivíduo com maior autoridade no estabelecimento. Todos os procedimentos do plano APPCC devem estar descritos de forma clara e detalhada. Fica a cargo do médico veterinário oficial proceder a verificação dos PCCs, que deve ser feita de forma aleatória, de forma que todos sejam contemplados semanalmente. Ainda, é importante que não haja uma rotina fixa de verificação dos PCCs, não devendo um PCC ser verificado sempre no mesmo dia da semana (BRASIL, 2003; BRASIL, 2005).

Uma das características do APPCC é o fato de ser específico para cada produto elaborado na indústria, diferente de outras ferramentas como as BPF que são mais generalistas e podem ser aplicadas em diferentes estabelecimentos. Sendo assim, cada indústria deve fazer uma avaliação crítica do seu processo, buscando pontos onde podem ocorrer falhas durante a produção e preparação do produto alimentar (TONDO e BARTZ, 2011).

No que diz respeito ao abate de suínos, busca-se minimizar a contaminação das carcaças com bactérias intestinais como *Salmonella* (FORSYTHE, 2013).

Durante o processo de abate o controle de patógenos deve ser feito em diversas fases e de formas diferentes. Entre as ações adotadas podemos citar a limpeza e desinfecção para o controle de contaminação por utensílios durante o abate, e por máquinas durante a depilação e polimento. Já as etapas de escaldagem e flambagem,

tem por objetivo a redução dos níveis bacterianos através de processos envolvendo temperatura e elevada por determinado período de tempo. Também a contaminação pela serra na etapa de divisão das carcaças pode ser minimizada através do controle de velocidade da linha de abate e temperatura da água de lavagem (BORCH, 1996; FORSYTHE, 2013).

Segundo a circular 369/2003 os pontos críticos de controle mínimos no abate são: a contaminação de carcaças por ingesta, leite ou matéria fecal e a temperatura da carcaça ao final do resfriamento (Figura 1). Não há limite de tolerância para presença de fezes, ingesta e leite nas carcaças. Porém, outros contaminantes como pelos e graxa podem ser controlados através de programas de autocontrole (BRASIL, 2003).

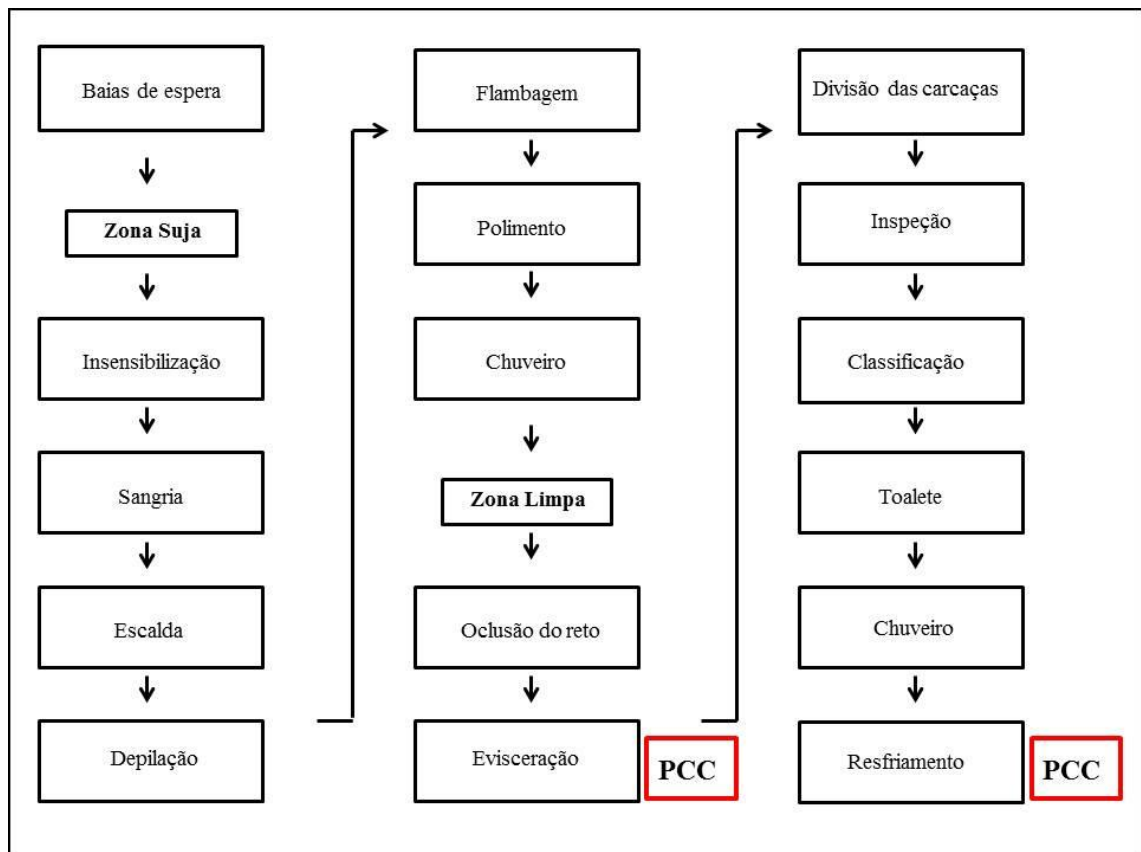


Figura 1. Fluxograma de abate suíno com identificação de pontos críticos de controle (PCC).

3 MATERIAL E MÉTODOS

A coleta de amostras foi realizada em um matadouro-frigorífico de suínos, que conta com Serviço de Inspeção Federal (SIF), localizado no estado do Rio Grande do Sul. Foram colhidas amostras em dez dias consecutivos de abate, sempre do primeiro lote de suínos abatidos. De cinco animais de cada lote foram colhidas amostras: *i.* de sangue na etapa de sangria; *ii.* de superfície de carcaça, nas etapas de pós-sangria e pré-resfriamento; *iii.* de fragmento de intestino na região da válvula íleo-cecal, após a etapa de evisceração.

O sangue foi colhido em tubos de vidro com tampa de rosca no momento em que o funcionário realizava a sangria dos animais, deixado em repouso para coagular e enviado ao laboratório em temperatura ambiente. As amostras de superfície de carcaça foram colhidas por meio de esponjas estéreis (Nasco[®]) umedecidas previamente em água peptonada 0,1% estéril. Imediatamente após a sangria, uma esponja era friccionada no flanco direito do animal, do qual havia sido colhido sangue, numa área de 400 cm² delimitada por molde estéril descartável. O animal amostrado era identificado. Na etapa de pré-resfriamento, esponjas foram friccionadas em área de 100 cm², delimitada por molde estéril descartável, na papada, barriga, pernil e lombo, das mesmas carcaças, totalizando 400 cm² (BRASIL, 2007). As esponjas foram acondicionadas em sacos plásticos contendo 10 mL de água peptonada 0,1% estéril e transportadas sob refrigeração para o laboratório.

3.1 Pesquisa de IgG anti-*Salmonella* em soro pelo teste de ELISA-Typhimurium

As amostras de soro foram submetidas a teste de ELISA indireto para pesquisa de IgG anti-*Salmonella* desenvolvido por Kich *et al.* (2007). Este teste é baseado nos antígenos somáticos de *Salmonella* Typhimurium. Antes da realização do teste, as placas de ELISA foram cobertas com 100 µL de antígeno (1:2.000) em 0,5M de tampão carbonato (pH 9,6) e incubados à 4°C, por 18 horas. Após este período, foram mantidas por, pelo menos, uma hora à -70°C. Após, as placas foram lavadas três vezes, por três minutos, com tampão fosfato salina (pH 7,4) contendo 0,05% de Tween 20 (PBS-T). O soro foi diluído (1:400) no PBS-T com 1% de albumina sérica bovina e pipetado em triplicata. Após incubação por 30 minutos à 37°C em câmara úmida, as placas foram lavadas como descrito acima. Em cada poço, foram adicionados 100 µL de anticorpos

anti-IgG de suíno conjugado com peroxidase diluída 1:25.000 em PBS-T. As placas foram incubadas por uma hora à 37°C. Após as lavagens, a reação foi revelada, utilizando 100 µL de substrato (3,5 µL de H₂O₂+ 230 µL de NaOH+ 10 µL de 3,3',5,' tetrametil-benzidina). Após 15 minutos, à temperatura ambiente, a reação foi bloqueada com 50 µL de H₂SO₄ 2M. A leitura das densidades ópticas (OD) foi realizada no leitor de placas Titertek[®] Multiskan MCC/340 programado para o comprimento de onda de 450 nm. O programa utilizado para interpretação dos resultados foi o ELISUAVE. Foram utilizados quatro controles como padrão com valores de OD previamente definidas. Os valores gerados a partir das amostras foram comparados aos valores obtidos pelos controles; a OD de 0,169 foi utilizada como ponto de corte, a partir do qual se considerou a amostra como positiva.

3.2 Preparação das amostras

Cada amostra de superfície foi constituída de uma esponja friccionada na superfície corpórea na etapa de pós-sangria ou de duas esponjas friccionadas na superfície da carcaça na etapa de pré-resfriamento. No laboratório foram adicionados 30 mL de água peptonada 0,1% em cada amostra, totalizando 40 mL. Após homogeneização em vórtice, foram retiradas alíquotas de 5 mL para enumeração de MAT e Enterobactérias. O volume restante foi adicionado à 225 mL de água peptonada tamponada 1% para pesquisa de *Salmonella*.

De cada fragmento de intestino foram pesados 25 g de conteúdo intestinal e adicionados à 225 mL de água peptonada tamponada 1%. As amostras foram homogeneizadas em vórtice e, de cada uma, foram retiradas três alíquotas de 2,5 mL para enumeração de *Salmonella* pelo protocolo do NMP miniaturizado. Depois de retiradas as alíquotas, o restante da suspensão foi incubado em estufa à 37°C por 18 horas para isolamento de *Salmonella*.

3.3 Enumeração de MAT e Enterobactérias em suabes de carcaça

A partir das alíquotas de 5 mL retiradas das amostras de superfície foram realizadas diluições decimais seriadas (10⁻¹ até 10⁻⁵) em água peptonada 0,1%. De cada diluição e da alíquota inicial (10⁰) foram pipetados 1 mL, em duplicata, em placas de Petri estéreis. Após, foram adicionados de 12 a 15 mL de Plate Count Agar (PCA,

Oxoid[®]) para enumeração de MAT; ou Ágar Vermelho Violeta Bile com Glicose (VRBG, Oxoid[®]), para enumeração de Enterobactérias. Após completa solidificação dos meios, foram adicionados de 5 a 8 mL do mesmo meio na superfície das placas, e incubadas invertidas a 37°C durante 48±2h. Foram selecionadas placas com crescimento entre 25 e 250 unidades formadoras de colônia (UFC) para contagem. No caso das Enterobactérias foram contadas apenas as colônias típicas no meio de cultura VRBG: vermelho púrpura; com 0,5mm ou mais de diâmetro; rodeadas por um halo avermelhado de precipitação de sais biliares. Os resultados foram expressos em UFC/cm² de carcaça e transformados em logaritmo decimal para análise.

As médias de MAT expressas em logaritmo decimal foram comparadas pelo Teste de Tukey ($\alpha=0,05$) no programa SPSS.

3.4 Isolamento de *Salmonella*

Para pesquisa de *Salmonella* foi seguida a ISO 6579:2002. As amostras (fezes ou líquido de suspensão das esponjas) diluídas em 225 mL de água peptonada tamponada 1% foram incubadas por 18±2 h a 37°C. Após, foram transferidas alíquotas de 1 mL para 10 mL de caldo Tetrionato Muller Kauffmann (Merck[®]) e de 0,1 mL para 9,9 mL de caldo Rappaport-Vassiliadis Soja (Oxoid[®]) e incubados à 41,5°C±0,5, durante 24±3 h. Após o enriquecimento seletivo, foi realizado o isolamento em ágar Xilose Lisina Tergitol-4 (XLT₄, Oxoid[®]) e ágar Verde Brilhante Vermelho de Fenol Lactose Sacarose (BPLS, Oxoid[®]), incubadas durante 24±3 h à 37°C. Colônias características - coloração negra em XLT₄ e rosa em BPLS- foram purificadas em ágar Triptona de Soja (TSA, Oxoid[®]) e confirmadas através dos seguintes testes bioquímicos: ágar Tríplice Açúcar Ferro (TSI, Himedia[®]), caldo Uréia (Oxoid[®]), 2-Nitrofenil-β-D-Galactopiraminosídeo (ONPG) e ágar Lisina Descarboxilase (LIA), além da prova da aglutinação com soro polivalente somático (Probac[®]). Os isolados identificados como *Salmonella* foram enviados para sorotipificação na Fundação Instituto Oswaldo Cruz.

3.5 Enumeração de *Salmonella* em conteúdo intestinal através do protocolo de NMP miniaturizado

A enumeração de *Salmonella* em conteúdo intestinal foi realizada conforme Tavares (2013) com modificações. Placas de 24 poços (TPP[®]) foram previamente

preparadas, pela adição de 2 mL de água peptonada tamponada 1% em todos os poços, com exceção dos da primeira linha. A seguir, foram adicionados 2,5 mL da suspensão de fezes em água peptonada tamponada 1% nos poços da primeira linha. A partir destes, foram realizadas as diluições seriadas (1:5), pela adição de 0,5 mL dos poços da primeira para os da segunda linha e assim sucessivamente. Para cada amostra, foram realizadas quatro diluições. Após, as placas foram incubadas em estufa por 18 ± 2 h a 37°C .

Após esta etapa, alíquotas de 20 μL de cada poço foram transferidas para poços correspondentes de outra placa contendo 2 mL de caldo Rappaport Vassiliadis Soja (Oxoid[®]). As placas inoculadas foram incubadas por 24 ± 2 h à $41,5^\circ\text{C} \pm 0,5$. Após, alíquotas de cada poço foram semeadas em ágar XLT₄ (Oxoid[®]) e incubadas por 24 ± 3 h à 37°C . Colônias características foram purificadas em ágar TSA (Oxoid[®]) e confirmadas através dos seguintes testes bioquímicos: TSI (Himedia[®]), caldo Uréia (Oxoid[®]), ONPG e LIA, além da prova de aglutinação com soro polivalente somático (Probac[®]). A combinação do número de poços positivos em cada diluição foi utilizada para o cálculo do NMP através da calculadora digital MPN Calculator disponível em: <http://www.i2workout.com/mcuriale/mpn/index.html>.

4 RESULTADOS

Todos os 50 suínos incluídos no estudo foram positivos no teste de ELISA-Typhimurium. *Salmonella* foi isolada a partir do conteúdo intestinal de 64% (32/50) desses animais. Em 20 suínos, *Salmonella* foi isolada do conteúdo intestinal tanto pelo protocolo de detecção quanto pelo de quantificação. Em oito animais *Salmonella* foi apenas detectada; em quatro suínos *Salmonella* foi isolada apenas pelo protocolo de NMP miniaturizado. Nas amostras em que *Salmonella* pode ser enumerada, as médias estimadas variaram entre 2,7 e >1.400 NMP/g de conteúdo intestinal (Tabela 1).

Tabela 1. Média de *Salmonella* estimada pelo protocolo do NMP miniaturizado em conteúdo intestinal de suínos amostrados em dez dias de abate de um matadouro-frigorífico.

Dia de abate	Suínos abatidos				
	A	B	C	D	E
01	nd	3,1	2,7 [§]	nd	<2,7 [*]
02	nd	24	nd	nd	6,3 [§]
03	nd	34	<2,7 [*]	22	<2,7 [*]
04	nd	nd	10	nd	nd
05	1400	3,1 [§]	<2,7 [*]	27	<2,7 [*]
06	8,3	56	nd	<2,7 [*]	>1400
07	220	130	480	>1400	>1400
08	nd	23 [§]	nd	21	90
09	<2,7 [*]	17	3,1	nd	nd
10	<2,7 [*]	nd	nd	31	nd

*- Amostra positiva apenas no protocolo de detecção.

§- Amostra negativa no protocolo de detecção.

nd- Não detectado.

A superfície das carcaças apresentou média de 3,28 log UFC/cm² de MAT, quando amostradas logo após a etapa de sangria, sendo observada variação entre 2,00 e 4,89 log UFC/cm² entre dias de abate. As mesmas carcaças amostradas na etapa de pré-resfriamento apresentaram média de MAT nos dias de abate variando de 1,43 até 2,48 log UFC/cm². A redução logarítmica observada nas contagens médias diárias de MAT entre as amostras colhidas na área da sangria e na etapa de pré-resfriamento variou entre 0,64 e 2,35 (Tabela 2).

Tabela 2. Enumeração de Mesófilos Aeróbios Totais (MAT) em superfície de carcaças nas etapas de sangria e pré-resfriamento.

Dia de abate	Etapa de abate		Redução logarítmica média
	Sangria	Pré-resfriamento	
01	2,95 (2,67 – 3,36)* ^{cd}	2,02 (1,36 – 2,64) ^{ab}	0,93
02	3,27 (2,90 – 3,45) ^{bcd}	1,76 (1,26 – 1,97) ^{ab}	1,51
03	4,25 (3,80 – 4,89) ^a	2,48 (1,85 – 3,20) ^a	1,77
04	3,09 (2,87 – 3,57) ^{bcd}	1,44 (0,97 – 1,65) ^b	1,65
05	3,78 (3,48 – 3,92) ^{ab}	1,43 (1,08 – 2,03) ^b	2,35
06	3,03 (2,72 – 4,03) ^{cd}	1,86 (1,06 – 2,80) ^{ab}	1,17
07	3,52 (2,78 – 3,92) ^{abc}	1,85 (1,34 – 2,51) ^{ab}	1,67
08	2,64 (2,00 – 3,27) ^d	2,00 (1,72 – 2,37) ^{ab}	0,64
09	3,35 (3,02 – 3,69) ^{bcd}	1,79 (1,43 – 2,14) ^{ab}	1,56
10	2,91 (2,79 – 3,13) ^{cd}	1,63 (1,23 – 2,01) ^{ab}	1,28

* Resultados expressos em log UFC/cm² de carcaça.

* - Médias seguidas da mesma letra, entre dias, não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($\alpha=0,05$)

A enumeração de Enterobactérias apresentou maior variação entre os dias amostrados e entre as etapas de abate em que foram coletadas as amostras. A média encontrada em carcaças na área de pós-sangria variou de 0,27 a 2,64 log UFC/cm². Já na etapa de pré-resfriamento a média nos dias de abate variou de -0,71 até 0,46 log UFC/cm² (Tabela 3).

Tabela 3. Enumeração de Enterobactérias na superfície de carcaças nas etapas de sangria e pré-resfriamento.

Dia de abate	Etapa de abate		Redução logarítmica Média
	Sangria	Pré-Resfriamento	
01	0,80 (ND** - 1,00) *	-0,71 (ND a -0,30)	1,51
02	1,33 (0,57 - 2,41)	-0,50 (-1,00 a 0,00)	1,83
03	2,64 (2,00 - 3,04)	0,23 (-0,15 a 0,77)	2,41
04	0,93 (0,38 - 1,63)	-0,80 (ND a -0,70)	1,73
05	2,16 (1,64 - 3,05)	-0,41 (-1,00 a 0,18)	2,57
06	1,45 (0,32 - 3,05)	0,46 (ND a 1,03)	0,99
07	1,18 (1,02 - 1,42)	-0,42 (-0,70 a 0,20)	1,60
08	0,27 (-1,00 - 1,12)	-0,28 (-0,70 a -0,05)	0,55
09	1,12 (0,11 - 1,98)	-0,34 (ND a -0,22)	1,46
10	0,45 (0,00 - 0,96)	-0,22 (-1,00 a 0,32)	0,68

* Resultados expressos em Log UFC/cm² de carcaça.

** ND – Não detectado: número inferior ao poder de detecção da técnica (1UFC/10cm²).

Em relação ao isolamento de *Salmonella* nos dez dias de abate, houve uma frequência de 16% (8/50) de carcaças positivas na etapa de sangria e 8% (4/50) na etapa de pré-resfriamento. O sorovar Typhimurium foi o mais prevalente em amostras isoladas na etapa de sangria. Já na etapa de pré-resfriamento foram encontrados os sorovares Typhimurium, Derby, Infantis e O:4,5. Por outro lado, nas amostras de conteúdo intestinal o sorovar Heidelberg foi o mais frequente (Tabela 4).

Tabela 4. Sorovares de *Salmonella* em amostras de conteúdo intestinal e suabe de carcaça na etapa de sangria e pré-resfriamento.

Dia	Conteúdo Intestinal (n de amostras positivas)	Carcaça (n de amostras positivas)	
		Após sangria	Pré-resfriamento
01	Heidelberg (2)*	Derby (1)	-
02	Heidelberg (1)	-	-
03	Heidelberg (4)	-	Derby (1)
04	Infantis (1)	-	-
05	Heidelberg (3); O:4,5 (1)	Typhimurium (1); Derby (1); Brandenburg (1)	O:4,5 (1)
06	Heidelberg (4)	Typhimurium (1)	-
07	Heidelberg (3); Typhimurium (1); Panama (1)	Typhimurium (2); Panama (1)	Typhimurium (1); Infantis (1)
08	Heidelberg (2)	-	-
09	Panama (2); Infantis (1)	-	-
10	Heidelberg (1); Infantis (1)	-	-

* Sorovares isolados e número de isolados entre parênteses.

Considerando apenas as quatro carcaças positivas no pré-resfriamento, duas delas foram originadas de um mesmo dia de abate (dia 7), ao passo que nos dias 3 e 5 houve uma carcaça positiva. O número de MAT encontrado nas carcaças positivas foi menor do que a média observada no dia de abate correspondente. Em relação às Enterobactérias a enumeração esteve na maioria das vezes próximo à média do dia (Tabelas 2, 3 e 5). As quatro carcaças positivas foram originadas de suínos que apresentavam *Salmonella* no conteúdo intestinal, sendo que as duas carcaças positivas do dia 7 eram originadas de suínos que excretavam elevado número de *Salmonella* (Tabela 5).

Tabela 5. Número mais Provável (NMP) de *Salmonella* em conteúdo intestinal, e enumeração de mesófilos aeróbios totais (MAT) e enterobactérias na superfície de carcaças positivas para *Salmonella* na etapa de pré-resfriamento.

	Carcaças positivas no pré-resfriamento			
	1	2	3	4
Dia de coleta	03	05	07	07
<i>Salmonella</i> no conteúdo intestinal do suíno (NMP.g ⁻¹)	22 (7,4-67)	<2,7	480 (150-1500)	>1400
Indicadores na carcaça (log UFC.cm ⁻²)				
MAT	1,85	1,35	1,34	1,79
Enterobactérias	0,26	-0,30	-0,70	0,20

5 DISCUSSÃO

No presente estudo todos os suínos amostrados em dez lotes abatidos em diferentes dias em um matadouro-frigorífico foram positivos no teste de ELISA-Typhimurium, demonstrando que haviam sido infectados por *Salmonella* nas granjas de origem. Essa observação corrobora com os resultados de estudos anteriores conduzidos no sul do Brasil, que encontraram entre 70 e 100% de suínos soropositivos entregues para abate (KICH *et al.*, 2005; MULLER *et al.*, 2009; SCHWARZ *et al.*, 2009; SILVA *et al.*, 2012). Esses dados evidenciam a ampla disseminação desse patógeno em granjas de suínos e alertam para o risco desse fato para a saúde pública. A pesquisa de anticorpos anti-*Salmonella* permite avaliar os suínos em relação à exposição prévia à bactéria, porém não permite afirmar que os mesmos estão com infecção ativa no momento da coleta (NIELSEN *et al.*, 1995; JENSEN, 2006; KICH *et al.*, 2007). Entretanto, a presença de elevado número de soropositivos em um lote está associada com o maior risco de existirem portadores de *Salmonella* (SORENSEN *et al.*, 2004; LETELLIER *et al.*, 2009).

Do ponto de vista da inocuidade dos alimentos, a presença de portadores assintomáticos em lotes de abate, relaciona-se ao fato de que esses animais podem excretar *Salmonella*, elevando o risco de contaminação do ambiente e de carcaças durante o abate (BERENDS, 1996; KICH & CARDOSO, 2012). Fatores como infecção recente, reinfecção na etapa final de alojamento na granja ou situações de estresse em portadores assintomáticos contribuem para a presença de *Salmonella* no conteúdo intestinal do suíno no momento do abate. Efetivamente, observou-se que 64% (32/50) dos suínos amostrados no estudo foram positivos para o isolamento de *Salmonella* a partir do conteúdo intestinal. Em todos os lotes amostrados havia ao menos um suíno com isolamento positivo no conteúdo intestinal, demonstrando a constante entrada de *Salmonella* na linha de abate desse matadouro-frigorífico. A presença de suínos positivos para *Salmonella* em conteúdo intestinal ou linfonodos mesentéricos em lotes de abate já foi amplamente descrita (MORROW *et al.*, 2000; DE BUSSER *et al.*, 2011; KICH *et al.*, 2011; SILVA *et al.*, 2012). Apesar de um único suíno excretando *Salmonella* poder resultar na contaminação da própria carcaça ou de outras de forma cruzada (WONDERLING *et al.*, 2003), é possível supor que tanto o número de excretadores como a quantidade de *Salmonella* excretada no conteúdo intestinal pode contribuir para incrementar o risco para o processo de abate.

Dessa forma, no presente estudo, além de determinar o número de suínos que carregavam *Salmonella* no conteúdo intestinal, foi estimado o Número Mais Provável (NMP) da bactéria que estava presente na amostra. Os resultados demonstraram grande variabilidade no NMP de *Salmonella*, indo de $<2,7$ até >1.400 UFC.g⁻¹ de conteúdo intestinal. Em estudos experimentais conduzidos em ratos, foi demonstrado que alguns indivíduos podem excretar elevado número de *Salmonella*, tendo sido classificados como super-excretadores (GOPINATH, 2012). Esses animais, por sua vez, seriam capazes de transmitir *Salmonella* para outros ratos de forma mais eficaz (LAWLEY, 2008). Em suínos é amplamente documentado que animais excretadores são fonte de transmissão de *Salmonella* para outros suínos (HURD *et al.*, 2001; DE BUSSER *et al.*, 2011) e para a carcaça (BERENDS *et al.*, 1997; BOLTON *et al.*, 2002; BOTTELDOORN *et al.*, 2005). Foi demonstrado que, após a infecção experimental com *S. Typhimurium*, suínos excretavam em torno de 10⁶ UFC/g de fezes durante as duas primeiras semanas e, posteriormente, de forma intermitente (NIELSEN *et al.*, 1995). No ambiente de espera, foi encontrada até 10³ UFC/cm² de *Salmonella* no piso das pocilgas (ROSTAGNO *et al.*, 2003). Entretanto, não há estudos enumerando *Salmonella* no conteúdo intestinal de suínos ao abate e avaliando a importância de excretadores de grande número de bactérias como fonte de contaminação de carcaças e do ambiente.

O ambiente de abate e as carcaças podem sofrer contaminação com diversas bactérias, entre elas algumas de importância para a inocuidade dos alimentos. Por outro lado, o processo de abate conduzido em conformidade do ponto de vista higiênico-sanitário é ponto crucial para o controle de patógenos e para a garantia da qualidade do produto final. A adoção de procedimentos de controle durante o processo de produção do alimento, como as Boas Práticas de Fabricação (BPF), os Procedimentos Padrão de Higiene Operacional (PPHO) e o sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) representa a principal forma de garantir um alimento de qualidade (FORSYTHE, 2013). Essas medidas têm o objetivo de reduzir a níveis aceitáveis ou eliminar esses patógenos, devendo ser monitoradas com a finalidade de verificar se o padrão higiênico sanitário do processo se encontra dentro de níveis aceitáveis.

Uma das formas de monitorar a qualidade higiênica do processo é a avaliação de micro-organismos indicadores, como MAT e Enterobactérias, nas carcaças no pré-resfriamento (EU, 2001; EU, 2005; BRASIL, 2005; BRASIL, 2007). Os limites estabelecidos pelas normas vigentes classificam como aceitável a carcaça que apresenta valores inferiores à 4 log UFC/cm² de MAT. Já para Enterobactérias a média deve ficar

abaixo de 2 log UFC/cm² (EU, 2001; EU, 2005; BRASIL, 2007). As carcaças amostradas em nosso estudo apresentaram como valores máximos 3,20 log UFC/cm² para MAT e 1,03 log UFC/cm² para Enterobactérias, ou seja, todas as amostras estavam dentro dos limites que definem o processo como em conformidade.

Baixos níveis de enumeração de indicadores foram observados já na etapa de pós-sangria, onde médias de 3,28 log UFC/cm² para MAT e 1,23 log UFC/cm² para Enterobactérias foram encontradas. Esse fato indica um manejo pré-abate que resultou na entrada de animais limpos na linha de abate. Possivelmente, o banho com água clorada que os suínos recebiam nas pocilgas de espera até que ficassem livres de sujidades e fezes na superfície corpórea, antes de ingressar no ambiente de abate, foi um dos fatores cruciais para manter o baixo o nível de indicadores nos animais que entravam na linha de abate. Esta prática de manejo, quando realizada corretamente, é considerada essencial para reduzir a entrada de altas cargas de micro-organismos e sujidades no matadouro-frigorífico (BOLTON, 2002), visto que o ambiente das pocilgas de espera é uma das principais fontes de contaminação bacteriana para os suínos (Hurd *et al.* 2001; SWANENBURG *et. al.* 2001; BOUGHTON, 2007a).

Durante o processo de abate algumas etapas como: a depilação, o polimento e a evisceração podem aumentar o nível de indicadores nas carcaças (BORCH, 1996; PEARCE, 2004; NAMVAR, 2006; BUNCIC, 2012; WHEATLEY, 2014), porém os processos de escalda e chamuscamento, quando realizados corretamente, são capazes de reduzir os níveis de contaminação (BERENDS, 1997; PEARCE, 2004; NAMVAR, 2006; BOLTON, 2013). O processo ao qual carcaças amostradas no estudo foram submetidas demonstrou ser capaz de alcançar reduções de MAT variando de 0,64 a 2,35 log UFC/cm² e de Enterobactérias entre 0,55 e 2,57 log UFC/cm². Deste modo, constatou-se haver um bom controle do processo de abate do ponto de vista higiênico-sanitário neste matadouro-frigorífico.

Da mesma forma, houve uma redução do número de carcaças positivas para *Salmonella* entre a etapa de pós-sangria (16%) e pré-resfriamento (8%). Cabe ressaltar que essa frequência está de acordo com o limite aceitável de 5 carcaças positivas para *Salmonella* em 50 amostradas (BRASIL, 2007). Entretanto, deve-se buscar manter a frequência de carcaças positivas o mais baixo possível, havendo países onde a meta estabelecida é inferior a 1% (ALBAN *et al.*, 2012).

Apesar do sucesso das medidas adotadas para manter uma boa qualidade higiênico-sanitária de abate, outros estudos têm descrito a presença de *Salmonella* em

carcaças no pré-resfriamento (PRENDERGAST, 2008; PISSETI, 2012; VAN HOEK, 2012). A contaminação das carcaças por *Salmonella* pode ocorrer a partir de diversas fontes durante o processo de abate. Entre elas estão o extravasamento de fezes de suínos positivos para *Salmonella* e a contaminação cruzada com carcaças positivas, superfícies ou utensílios, e equipamentos contaminados (BORCH, 1996; BUNCIC, 2012). Porém, sabe-se que em relação à origem, o suíno é considerado a principal fonte de *Salmonella* tanto para o ambiente de abate como para as carcaças (BOLTON, 2002). Entre os sorovares identificados nas carcaças, foram encontrados: Typhimurium, *Salmonella* O:4,5, Derby e Infantis. Estes sorovares também têm sido relatados por outros estudos (PRENDERGAST, 2008; SEIXAS, 2009; PISSETI, 2012), bem como já foram identificados como causadores de DTA (EBUCHI, 2006; EUROSURVEILLANCE, 2008; CAPALONGA, 2014; SCHROEDER, 2015). Apesar de, na maioria das vezes, não haver concordância entre os sorovares identificados em fezes e carcaças, em duas carcaças positivas (Typhimurium e O:4,5) essa relação pode ser observada. Essa aparente discrepância pode ser justificada pelo fato de ocorrer grande diversidade de sorovares em fezes e apenas uma colônia ser enviada para sorotipificação. Por outro lado, Berends (1996) estima que em 30% das carcaças positivas a origem da contaminação é o conteúdo intestinal de outro suíno, demonstrando que suínos que entram na linha de abate excretando grande número de *Salmonella* podem ser a origem de contaminação de diversas carcaças processadas no mesmo turno.

A importância do suíno excretor para a presença de *Salmonella* em carcaças submetidas à processo aceitável de abate pode ser inferida em nosso estudo pelos resultados de quantificação de *Salmonella* nas fezes. As quatro carcaças positivas na etapa de pré-resfriamento estavam distribuídas em três dias de coleta, sendo que no dia 7 duas carcaças foram positivas. Nesse dia, todos os suínos amostrados estavam excretando *Salmonella* em médias superior ao observado nos demais dias de abate, variando de 130 a >1.400 UFC/cm². Apesar do baixo número de observações do presente estudo, o qual teve um caráter exploratório, é possível levantar a hipótese que a entrada de lotes com grande número de suínos excretando elevada quantidade de *Salmonella* no conteúdo intestinal, representa um desafio de tal magnitude, que mesmo um processo em conformidade não consegue garantir que a ausência ou frequências muito baixas de carcaças positivas sejam alcançadas no pré-resfriamento. Estudos subsequentes são necessários para comprovar a hipótese levantada.

6 CONCLUSÕES

Suínos que sofreram infecção por *Salmonella* na granja diferem no número de *Salmonella* presente no conteúdo intestinal ao abate. Em lotes de abate que incluem um maior número de suínos com alta contagem de *Salmonella* no conteúdo intestinal, uma maior frequência de carcaças positivas no pré-resfriamento pode ser encontrada, mesmo em processos de abate conformes com os padrões higiênico-sanitários.

REFERÊNCIAS

- ABPA - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL. Relatório Anual. São Paulo, 2015. Disponível em:<
<http://abpabr.com.br/setores/suinocultura/publicacoes/relatorios-anuais>> Acesso em: 29 mar. 2016.
- ACHA, P.; SZYFRES, B. **Zoonoses and communicable diseases common to man and animals: Bacterioses and Mycoses**. 3. Ed., v. 1, Washigton, D.C.: World Health Organization, 2001.
- ADAMS, M. R; MOSS, M. O. Methods for the microbiological examination of foods. In: ADAMS, M. R. MOSS, M. O. **Food Microbiology**. London, Cap. 10., 2ª ed, p. 370-394, 2005.
- ALBAN, L.; BAPTISTA, F. M.; MOGELMOSE, V.; SORENSEN, L. L.; CHRISTENSEN, H.; AABO, S.; JAN DAHL, L. *Salmonella* surveillance and control for finisher pigs and pork in Denmark- A case study. **Food Research International**. Barking, v. 45, p. 656-665, 2012.
- ANDERSON, R. C.; GENOVESE, K. J.; HARVEY, R. B.; STANKER, L. H.; DELOACH, J. R., NISBET, D. J. Assessment of the long-term shedding pattern of *Salmonella* sorovar *choleraesuis* following experimental infection of neonatal piglets. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**. Columbia, v. 12, p. 257-260, 2000.
- BAHNSON, P. B.; FEDORKA-CRAY, P. J.; LADELY, S. R.; MATEUS-PINILLA, N. E. Herd-level risk factors for *Salmonella enterica* subsp. *enterica* in U.S. market pigs. **Preventive Veterinary Medicine**. Amsterdam, v. 76, p. 249-262, 2006.
- BELOEIL, P.A.; CHAUVIN, C.; PROUX, K.; FABLET, C.; MADEC, F.; ALIOUM, A. Risk factors for *Salmonella* soroconversion of fattening pigs in farrow-to-finish herds. **Veterinary Research**. Les Ulis, v. 38, p. 835-848, 2007.
- BELOEIL, P.A.; FRAVALO, P.; FABLET, C.; JOLLY, J. P.; EVENO, E.; HASCOET, Y.; CHAUVIN, C.; SALVAT, G.; MADEC, F. Risk factors for *Salmonella enterica* subsp. *enterica* shedding by market-age pigs French farrow-to-finish herds. **Preventive Veterinary Medicine**. Amsterdam, v. 63, p. 103-120, 2004.
- BERENDS, B.R.; URLINGS, H. A. P.; SNIJDERS, J. M. A.; VAN KAPEN, F. Identification and quantification of risk factors in animal management and transport regarding *Salmonella* spp. in pigs. **International Journal of Food Microbiology**. Amsterdam, v. 30, p. 37-53, 1996.
- BERENDS, B.R.; VAN KAPEN, F.; SNIJDERS, J. M. A.; MOSSEL, D. A. A. Identification and quantification of risk factors regarding *Salmonella* spp. on pork carcasses. **International Journal of food Microbiology**. Amsterdam, v. 36, p. 199-206, 1997.

BOLTON, D.J.; PEARCE, R. A.; SHERIDAN, J. J.; BLAIR, I. S.; MCDOWELL, D. A.; HARRINGTON, D. Washing and chilling as critical control points in pork slaughter hazard analysis and critical control point (HACCP) systems. **Journal of Applied Microbiology**. Oxford, v. 92, p. 893-902, 2002.

BOLTON, D.J.; IVORY, C.; MCDOWELL, D. Thermal inactivation of *Yersinia enterocolitica* in pork slaughter plant scald tank water. **Meat Science**. Barking, v. 95, p. 668-671, 2013.

BORCH, E.; NESBAKKEN, T.; CHRISTENSEN, H. Hazard identification in swine slaughter with respect to foodborne bacteria. **International journal of food microbiology**. Amsterdam, v. 30, p. 9-25, 1996.

BOTTELDOORN, N.; HEYNDRIKX, M.; RIJSENS, N.; GRIJSPEERDT, K.; HERMAN, L. *Salmonella* on pig carcasses: positive pigs and cross contamination in the slaughterhouse. **Journal of Applied Microbiology**. Oxford, v. 95, p. 891-903, 2003.

BOUGHTON, C.; EGAN, J.; KELLY, G.; LEONARD, N. Quantitative Examination of *Salmonella* spp. in the Lairage Environment of a Pig Abattoir. **Foodborne Pathogens and Disease**. Larchmont, v. 4, p. 26-32, 2007a.

BOUGHTON, C.; EGAN, J.; KELLY, G.; LEONARD, N. Rapid infection of pigs following exposure to environments contaminated with different levels of *Salmonella* Typhimurium. **Foodborne Pathogens and Disease**. Larchmont, v. 4, p.33-40, 2007b.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Portaria nº 368 de 04 de setembro de 1997. Regulamento Técnico sobre as condições Higiênico-Sanitárias e de Boas Práticas de Fabricação para Estabelecimentos Elaboradores/Industrializadores de Alimentos. Brasília, DF, 1997. [12p.].

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Circular nº 369 de 02 de junho de 2003. Instruções para elaboração e implantação dos sistemas PPHO e APPCC nos estabelecimentos habilitados à exportação de carnes. Brasília, DF, 2003. [11 p.].

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Circular nº 130 de 13 de fevereiro de 2007. Exportação de carne suína para os Estados Membros da União Europeia. Brasília, DF, 2007. 10p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Circular nº 175 de 16 de maio de 2005. Procedimentos de Verificação dos Programas de Autocontrole. Brasília, DF, 2005. [39 p.]. Disponível em:
<http://www.fooddesing.com.br/arquivos/legisla%C3%A7%C3%A3o/Circular%20175-05%20PPHO%20para%20refrigerado%20FD.pdf>. Acesso em: 10 fev. 2016.

BRASIL. Dados epidemiológicos – DTA período de 2000 a 2015. Secretaria de Vigilância em Saúde – SVS. Disponível em:<<http://www.Saude.gov.br/svs>> Acesso em: 30 mar 2016.

BUNCIC, S.; SOFOS, J. Interventions to control *Salmonella* contamination during poultry, cattle and pig slaughter. **Food Research International**. Barking, v. 45, p. 641-655, 2012.

CAPALONGA, R.; RAMOS, R. C.; BOTH, J. M. C.; SOEIRO, M. L. T.; LONGARAY, S. M.; HAAS, S.; TONDO, E. C. *Salmonella* serotypes, resistance patterns and food vehicles of salmonellosis in southern Brazil between 2007 and 2012. **Journal Infect. Dev. Ctries.**, v. 8, p. 811-817, 2014.

CRAWFORD, R.W.; ROSALES-REYES, R.; RAMÍREZ-AGUILAR, M. L.; CHAPA-AZUELA, O.; ALPUCHE-ARANDA, C.; GUNN, J. S. Gallstones play a significant role in *Salmonella* spp. Gallbladder colonization and carriage. **PNAS**, v. 107, p. 4353-4358, 2010.

DE BUSSER, E.V.; MAES, D.; HOUF, K.; DEWULF, J.; IMBERECHTS, H.; BERTRAND, S.; ZUTTER, L. Detection and characterization of *Salmonella* in lairage, on pig carcasses and intestines in five slaughterhouses. **International journal of food microbiology**. Amsterdam, v. 45, p. 279-286, 2011.

DE BUSSER, E. V.; ZUTTER, L.; DEWULF, J.; HOUF, K.; MAES, D. *Salmonella* control in live pigs and at slaughter. **The Veterinary Journal**. London, v. 196, p. 20-27, 2013.

DORR, P.M.; TADESSE, D. A.; ZEWDE, D. M.; FRY, P.; THAKUR, S.; GEBREYES, W. Longitudinal Study of *Salmonella* Dispersion and the Role of environmental contamination in commercial swine production systems. **Applied and Environmental microbiology**, v. 75, p. 1478-1486, 2009.

DOORDUYN, Y.; HOFHUIS, A.; DE JAGER, C. M.; VAN DER ZWALUW, W. K.; NOTERMANS, D. W.; VAN PELT, W. *Salmonella* Typhimurium outbreaks in the Netherlands in 2008. **EUROSURVEILLANCE. Peer-reviewed European information on communicable disease surveillance and control**. v. 13, p.715-717, 2008.

EBUCHI, S.; BABA, A.; URYU, K.; HIWAKI, H. Two Outbreaks Caused by *Salmonella* Derby and *S. Anatum* at Grilled-Meat Restaurants at Fukuoka City. **Infectious Agents Surveillance Report**, v. 27, p. 201-202, 2006.

EU - EUROPEAN COMMISSION. Commission Regulation n° 471 of 21 June 2001. Commission Decision of 8 June 2001. **Official Journal of the European Communities**, Bruxelles, 6 p., June, 2001.

EU - EUROPEAN COMMISSION. Commission Regulation n° 217 of 7 March 2014. Amending Regulation n° 2073/2005 as regards *Salmonella* in pig carcasses. **Official Journal of the European Union**, Bruxelles, v. 69, p. 93-94. May. 2014. Disponível em: https://www.fsai.ie/uploadedFiles/Reg217_2014.pdf. Acesso em: 12 fev. 2016.

FAI, A. E. C.; FIGUEIREDO, E. A. T.; VERDIN, S. E. F.; PINHEIRO, N. M. S.; BRAGA, A. R. C.; STAMFORD, T. L. M. *Salmonella* sp e *Listeria monocytogenes* em presunto suíno comercializado em supermercados de Fortaleza (CE- Brasil): Fator de

risco para saúde pública. **Ciência & Saúde Coletiva**. Rio de Janeiro, v. 16, p. 657-662, 2011.

FARZAN, A.; FRIENDSHIP, R. M.; DEWEY, C. E.; WARRINER, K.; POPPE, C.; KLOTINS, K. Prevalence of *Salmonella* spp. on Canadian pig farms using liquid or dry-feeding. **Preventive Veterinary Medicine**. Amsterdam, v. 73, p. 241-254, 2006.

FEDORKA-CRAY, P. J.; KELLEY, L. C.; STABEL, T. J.; GRAY, J. T.; LAUFER, J. A. Alternate Routes of Invasion May Affect Pathogenesis of *Salmonella* Typhimurium in Swine. **Infection and immunity**. Washington, v. 63, p. 2658-2664, 1995.

FORSYTHE, S. J. & HAYES, P. R. **Food Hygiene, Microbiology and HACCP**. 3ª ed. Maryland: Aspen, 2008. Cap. 8, p. 276-322.

FORSYTHE, S. J. Ferramentas de gestão da segurança de alimentos. In: FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da Segurança dos Alimentos**. 2ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. Cap. 8, p. 375-389.

GONZALES-ESCOBEDO, G.; MARSHALL, J. M.; GUNN, J. S. Chronic and acute infection of the gall bladder by *Salmonella* Typhi: Understanding the carrier state. **Progress**, v. 9, p. 9-14, 2010.

GOPINATH, S.; CARDEN, S.; MONACK, D. Shedding light on *Salmonella* carriers. **Cell Press**, v. 20, p. 320-227, 2012.

GRAY, J. T.; FEDORKA-CRAY, P. J.; STABEL, T. J.; KRAMER, T. T. Natural Transmission of *Salmonella* Choleraesuis in Swine. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 62, p. 141-146, 1996.

GRIMONT, P. A. D.; WEILL, F. X. **Antigenic Formulae Of The Salmonella Serovars**: World Health Organization Collaborating Center for Reference and Research on Salmonella. 9 ed. Paris: Institut Pasteur, 2007.

HALD, T.; WINGSTRAND, A.; SWANENBURG, M.; ALTROCK, A.; THORBERG, B. M. The occurrence and epidemiology of *Salmonella* in European pig slaughterhouses. **Epidemiology and Infection**. Cambridge, v.131, p. 1187-1203, 2003.

HEDEMANN, M. S.; MIKKELSEN, K. K.; NAUGHTON, P. J.; JENSEN, B. B. Effect of feed particle size and feed processing on morphological characteristics in the small and large intestine of pigs and on adhesion of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium DT12 in the ileum in vitro. **Journal of Animal Science**. Champaign, v. 83, p. 1554-1562, 2005.

HOLT, J.G., KRIEG, N.R., SNEATH, P.H.A., STALEY, J.T.; WILLIAMS, S.T. (Eds.) **Bergey's manual of determinative bacteriology**. 9. Ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1994. Cap.5: Facultative anaerobic Gram-negative rods: p. 175-189.

HOTES, S.; KEMPER, N.; TRAULSEN, L.; RAVE, G.; KRIETER, J. Risk Factors for *Salmonella* Infection in Fattening Pigs – An Evaluation of Blood and Meat Juice Samples. **Zoonoses and Public Health**. Berlin, v. 57, p. 30-38, 2010.

HURD, H. S.; GAILAY, J. K.; MCKEAN, J. D.; ROSTAGNO, M. H. Experimental rapid infection in market swine following exposure to a *Salmonella* contaminated environment. **Berliner und Munchener Tierarztliche Wochenschrift**. Berlin, v. 114, p. 382-384, 2001.

HURD, H. S.; MACKEAN, J. D.; GRIFFITH, R. W.; WESLEY, I. V.; ROSTAGNO, M. H. *Salmonella enterica* Infections in Market Swine with and without Transport and Holding. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 68, p. 2376-2381, 2002.

ISO 6579. Microbiology of food and animal feeding stuffs. Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp. 4 ed. 2002. **The International Organization for Standardization**, amendment 1: 15 Jul. 2007.

JENSEN, A. N.; DALSGAARD, A.; STOCKMARR, A.; NIELSEN, E. M.; BAGGESEN, D. L. Survival and Transmission of *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium in an Outdoor Organic Pig Farming Environment. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 72, p. 1833-1842, 2006.

KICH, J. D. & CARDOSO, M. Salmonelose. In: SOBESTIANSKY, J. & BARCELLOS, D. **Doença dos Suínos**. 2^a ed. Goiânia: Cãnone Editorial, 2012, p. 257-264.

KICH, J.D.; MORES, N.; PIFFER, I. A.; COLDEBELLA, A.; AMARAL, A.; RAMMINGER, L.; CARDOSO, M. Fatores associados à soroprevalência de *Salmonella* em rebanhos comerciais de suínos. **Ciência Rural**. Santa Maria, v. 35, p. 398-405, 2005.

KICH, J. D.; SCHWARZ, P.; SILVA, L. E.; COLDEBELLA, A.; PIFFER, I. A.; VIZZOTTO, R.; CARDOSO, M. Development and application of an enzymelinked immunosorbent assay to detect antibodies against prevalent *Salmonella* serovars in swine in southern Brazil. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**. Columbia, v. 19, n. 5, p. 510-517, 2007.

KICH, J. D.; COLDEBELLA, A.; MORES, N.; NOGUEIRA, M. G.; CARDOSO, M.; FRATAMICO, P. M.; CALL, J. E.; FEDORKA-CRAY, P.; LUCHANSKY, J. B. Prevalence, distribution, and molecular characterization of *Salmonella* recovered from swine finishing herds and a slaughter facility in Santa Catarina, Brazil. **International Journal of Food Microbiology**. Amsterdam, v. 151, p. 307-313, 2011.

LANDGRAF, M. Microrganismos indicadores. IN: FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. Cap. 3, p. 27-31, 1996.

LAWLEY, T. D.; BOULEY, D. M.; HOY, Y. E.; GERKE, C.; RELMAN, D. A.; MONACK, D. M. Host Transmission of *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium Is Controlled by Virulence Factors and Indigenous Intestinal Microbiota. **Infection and Immunity**. Washington, v. 76, p. 403-416, 2008.

LETELLIER, *et al.* Risk factors at slaughter associated with presence of *Salmonella* on hog carcasses in Canada. **Journal of Food Protection**. Des Moines, v. 72, n. 11, p. 2326-2331, 2009.

LO FO WONG, D. M. A.; DAHL, J.; STEGE, H.; VAN DER WOLD, P. J.; LEONTIDES, L.; VON ALTROCK, A.; THORBERG, B. M. Herd-level risk factors for subclinical *Salmonella* infection in European finishing-pig herds. **Preventive Veterinary Medicine**. Amsterdam, v. 62, p. 253-266, 2004.

LOGUERCIO, A.P.; ALEIXO, J. A. G.; VARGAS, A. C.; COSTA, M. M. ELISA INDIRETO NA DETECÇÃO DE *Salmonella* spp. EM LINGUIÇA SUÍNA. **Ciência Rural**. Santa Maria, v. 32, p. 1057-1062, 2002.

MANNION, C.; EGAN, J.; LYNCH, B. P.; FANNING, S.; LEONARD, N. An Investigation into the Efficacy of Washing Trucks Following the Transportation of Pigs- A *Salmonella* Perspective. **Foodborne Pathogens and Disease**. Larchmont, v. 5, p. 261-271, 2008.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Notícias. Crescimento da classe média no mundo gera demanda por alimentos perecíveis e geladeiras. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/comunicacao/noticias/2016/01/crescimento-da-classe-media-no-mundo-gera-demanda-por-alimentos-pereciveis-e-geladeiras>> Acesso em: 12 abr 2016.

MARTÍN-PELÁEZ, S.; PERALTA, B.; CREUS, E.; DALMAU, A.; VELARDE, A.; PEREZ, J. F.; MATEU, E.; MARTIN-ORUE, S. M. Different feed Withdrawal times before slaughter influence caecal fermentation and faecal *Salmonella* shedding in pigs. **The Veterinary Journal**. London, v. 182, p. 469-473, 2009.

MIKKELSEN, L.L.; NAUGHTON, P. J.; HEDEMANN, M. S.; JENSEN, B. B. Effects of Physical Properties of Feed on Microbial Ecology and Survival of *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium in the Pig Gastrointestinal Tract. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 70, p. 3485-3492, 2004.

MOLLA, B.; STERMAN, A.; MATHEWS, J.; ARTUSO-PONTE, V.; ABLEY, M.; FARMER, W.; RAJALA-SCHULTZ, P.; MORROW, W. E. M.; GEBREYES, W. *Salmonella enterica* in Commercial Swine Feed and Subsequent Isolation of Phenotypically and Genotypically Related Strains from Fecal Samples. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 76, p. 7188-7193, 2010.

MORROW, W. E. M.; DAVIES, P. R.; SEE, T.; EISEMANN, J.; ZERING, K. KIHLMSTROM, S. KARLI, K. Prevalence of *Salmonella* spp. in the feces on farm and ceca at slaughter for a cohort of finishing pigs. **Production Epidemiology**, p. 155-157, 2000.

MOXLEY, R. Enterobacteriaceae: *Salmonella*. IN: MCVEY, S. D.; KENNEDY, M.; CHENGAPPA, M. M. **Veterinary Microbiology**. 3 ed., John Wiley & Sons, 2013. Cap. 8, p. 75 – 84.

MULLER, M.; SCHWARZ, P.; KICH, J. D.; CARDOSO, M. Perfil Sorológico E De Isolamento De *Salmonella* Sp. Em Suínos No Início Da Terminação E Ao Abate. **Ciência Animal Brasileira**. Goiânia, v. 10, p. 931-937, 2009.

MURMANN, L.; DOS SANTOS, M. C.; CARDOSO, M. Prevalence, genetic characterization and antimicrobial resistance of *Salmonella* isolated from fresh pork sausages in Porto Alegre, Brazil. **Food Control**. Guildford, v. 20, p. 191-195, 2009.

NAMVAR, A.; WARRINER, K. Application of enterobacterial repetitive intergenic consensus-polymerase chain reaction to trace the fate of generic *Escherichia coli* within a high capacity pork slaughter line. **International Journal of Food Microbiology**. Amsterdam, v. 108, p. 155-163, 2006.

NESBAKKEN, T.; NERBRINK, E.; ROTTERUD, O. J.; BORCH, E. Reduction of *Yersinia enterocolitica* and *Listeria* spp. on pig carcasses by enclosure of the rectum during slaughter. **International Journal of Food Microbiology**. Amsterdam, v. 23, p. 197-208, 1994.

NIELSEN, B.; BAGGESEN, D.; BAGER, F.; HAUGEGAARD, J.; LIND, P. The serological response to *Salmonella* serovars Typhimurium and Infantis in experimentally infected pigs. The time course followed with an indirect anti-LPS ELISA and bacteriological examinations. **Veterinary Microbiology**, v. 47, p. 205-218, 1995.

NOLLET, N.; MAES, D.; ZUTTER, L. D.; DUCHATEAU, L.; HOUF, K.; HUYSMANS, K.; IMBERECHTS, H.; GEERS, R.; KRUIF, A.; VAN HOOFF, J. Risk factors for the herd-level bacteriologic prevalence of *Salmonella* in Belgian pigs. **Preventive Veterinary Medicine**. Amsterdam, v. 65, p. 63-75, 2004.

PARRY, C. M.; HIEN, T. T.; DOUGAN, G.; WHITE, N. J.; FARRAR, J. J. Typhoid Fever. **The New England Journal of Medicine**. Boston, v. 347, p. 1770-1782, 2002.

PEARCE, R. A.; BOLTON, D. J.; SHERIDAN, J. J.; MCDOWELL, D. A.; BLAIR, I. S.; HARRINGTON, D. Studies to determine the critical control points in pork slaughter hazard analysis and critical control point systems. **International Journal of Food Microbiology**. Amsterdam, v. 90, p. 331-339, 2004.

PELLEGRINI, D. C. P.; PAIM, D. S.; LIMA, G. J. M. M.; PISSETTI, C.; KICH, J. D.; CARDOSO, M. Distribution of *Salmonella* clonal groups in four Brazilian feed mills. **Food Control**. Guildford, v. 47, p. 672-678, 2015.

PINTO, P. S. A. ASPECTOS SANITÁRIOS DA SALMONELOSE COMO UMA ZOONOSE. **Higiene Alimentar**. São Paulo, v.14, p. 39-43, 2000.

PISSETI, C.; WERLANG, G. O.; BIESUS, L. L.; KICH, J. D.; CARDOSO, M. Detecção de *Salmonella enterica* e *Listeria monocytogenes* em carcaças suínas na etapa de pré-resfriamento. **Acta Scientiae Veterinariae**. Porto Alegre, v. 40, p. 1-8, 2012.

PRENDERGAST, D.M.; DUGGAN, G. G.; FANNING, S.; CORMICAN, M.; GONZALES-BARRON, U.; BUTLER, F.; DUFFY, G. Prevalence and numbers of

Salmonella spp. and Enterobacteriaceae on pork cuts in abattoirs in the Republic of Ireland. **Journal of Applied Microbiology**. Oxford, v. 105, p. 1209-1219, 2008.

QUINN, P. J.; MARKEY, B. K.; LEONARD, F. C.; FITZPATRICK, E. S.; FANNING, S.; HARTIGAN, P. J. **Veterinary Microbiology and Microbial Disease**. 2^a ed. Iowa: Wiley-blackwell, 1231 p., 2011.

RAJIC, A.; O'CONNOR, P.; DECKERT, A. E.; KEENLISIDE, J.; MCFALL, M. E.; REID-SMITH, R. J.; DEWEY, C. E.; MCEWEN, S. A. Farm-level risk factors for the presence of *Salmonella* in 89 Alberta swine-finishing barns. **The Canadian Journal of Veterinary Research**. Les Ulis, v. 71, p. 264-270, 2007.

ROSTAGNO, M. H.; HURD, H. S.; MCKEAN, J. D.; ZIEMER, C. J.; GAILEY, J. K.; LEITE, R. C. Preslaughter holding environment in pork plants is highly contaminated with *Salmonella enterica*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 69, p. 4489-4494, 2003.

SCHOROEDER, S.; HARRIES, M.; PRAGER, R.; HOFIG, A.; AHRENS, B.; HOFFMANN, L.; RABSCH, W.; MERTENS, E.; RIMEK, D. A prolonged outbreak of *Salmonella* Infantis associated with pork products in central Germany, April-October 2013. **Epidemiology and Infection**. Cambridge, v. 144, p. 1429-1439, 2015.

SCHWARZ, P.; CALVEIRA, J.; SELLA, A.; BESSA, M.; BARCELLOS, D. E. S. N.; CARDOSO, M. *Salmonella enterica*: isolamento e soroprevalência em suínos abatidos no Rio Grande do Sul. **Arquivo Brasileiro de Veterinária e Zootecnia**, v. 61, p. 1028-1034, 2009.

SEIXAS, F. N.; TOCHETTO, R.; FERRAZ, S. M. PRESENÇA DE *Salmonella* sp. EM CARCAÇAS SUÍNAS AMOSTRADAS EM DIFERENTES PONTOS DA LINHA DE PROCESSAMENTO. **Ciência Animal Brasileira**. Goiânia, v. 10, p. 634-640, 2009.

SHINOHARA, S.; BARROS, V. B.; JIMENEZ, S. M. C.; MACHADO, E. C. L.; DUTRA, R. A. F.; LIMA, J. L. *Salmonella* spp., importante agente patogênico veiculado em alimentos. **Ciência & Saúde Coletiva**. Rio de Janeiro, v. 13, p. 1669-1674, 2008.

SILVA JR, E. A. **Manual de controle higiênico-sanitário em serviços de alimentação**. 6^a ed. São Paulo: Varela, 2010. 625 p.

SILVA, L. E.; GOTARDI, C. P.; VIZZOTTO, R.; KICH, J. D.; CARDOSO, M. Infecção por *Salmonella enterica* em suínos criados em um sistema integrado de produção do sul do Brasil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. Belo Horizonte, v. 58, p. 455-461, 2006.

SILVA, L. E.; DIAS, V.; FERRONATTO, A. I.; GUERRA, P.; BERNO, L.; TRICHES, N.; KICH, J. D.; CORBELLINI, L. G.; CARDOSO, M. Longitudinal dissemination of *Salmonella enterica* clonal groups through the slaughter process of *Salmonella*-positive pig batches. **Journal of Food Protection**. Des Moines, v. 75, p. 1580-1588, 2012.

SORENSEN, L. L.; ALBAN, L.; NIELSEN, B.; DAHL, J. The correlation between *Salmonella* serology and isolation of *Salmonella* in Danish pigs at slaughter. **Veterinary Microbiology**, n. 101, p. 131-141, 2004.

SPRICIGO, D. A.; MATSUMOTO, S. R.; ESPINDOLA, M. L.; VAZ, E. K.; FERRAZ, S. AM. Prevalência e perfil de resistência a antimicrobianos de sorovares de *Salmonella* isolados de linguças suínas tipo frescal em Lages, SC. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. Belo Horizonte, v. 60, p. 517-520, 2008.

SWANENBURG, M.; VAN DER WOLF, P. J.; URLINGS, H. A. P.; SNIJDERS, J. M. A.; VAN KNAPEN, F. *Salmonella* in slaughter pigs: the effect of logistic slaughter procedures of pigs on the prevalence of *Salmonella* in pork. **International Journal of Food Microbiology**. Amsterdam, v. 70, p. 231-242, 2001.

TAVARES, M. F. P. Avaliação da influência da etapa do abate *Shechita* na população de *Salmonella* sp e de micro-organismos indicadores em carcaças de frango. Dissertação de mestrado, USP, 60 p., 2013.

TONDO, E. C. & BARTZ, S. **Microbiologia e sistemas de gestão da segurança de alimentos**. Porto Alegre: Sulina, 2011, 263 p.

USA - UNITED STATES OF AMERICA. United States Department of Agriculture. Food Safety and Inspection Service. Rules and Regulations 9 CFR, Part 304. Pathogen Reduction: Hazard Analysis and Critical Control Point (HACCP) Systems/ Specific Sample Collection Procedure, Federal Register, Washington, DC, v. 61, n. 144, Jul. 1996. Disponível em: < <http://www.fsis.usda.gov/OPPDE/rdad/FRPubs/93-016F.pdf> >. Acesso em: 13 fev. 2016.

VAN DAMME, I.; HABIB, I.; DE ZUTTER, L. *Yersinia enterocolitica* in slaughter pig tonsils: Enumeration and detection by enrichment versus direct planting culture. **Food Microbiology**. London, v. 27, p. 158-161, 2010.

VAN DER WOLF, P. J.; WOLBERS, W. B.; ELBERS, A. R. W.; VAN DER HEIJDEN, H. M. J. F.; KOPPEN, J. M. C. C.; HUNNEMAN, W. A.; VAN SCHIE, F. W.; TIELEN, M. J. M. Herd level husbandry factors associated with the serological *Salmonella* prevalence in finishing pig herds in the Netherlands. **Veterinary Microbiology**, v. 78, p. 205-219, 2001.

VAN HOEK, A. H. A. M.; JONGE, R.; VAN OVERBEEK, W. M.; BOUW, E.; PIELAAT, A.; SMID, J. H.; MALORNY, B.; JUNKER, E.; LOFSTROM, C.; PEDERSEN, K.; AARTS, H. J. M.; HERES, L. A quantitative approach towards a better understanding of the dynamics of *Salmonella* spp. in a pork slaughter-line. **International Journal of Food Microbiology**. Amsterdam, v. 153, p. 45-52, 2012.

VERBRUGGHE, E.; BOYEN, F.; VAN PARYS, A.; DEUN, K. V.; CROUBELS, S.; THOMPSON, A.; SHEARER, N.; LEYMAN, B.; HAESEBROUCK, F.; PASMANS, F. Stress induced *Salmonella* Typhimurium recrudescence in pigs coincides with cortisol induced increased intracellular proliferation in macrophages. **Veterinary Research**. Les Ulis, v. 42, p. 01-10, 2011.

- WHEATLEY, P.; GIOTIS, E. S.; MCKEVITT, A. I. Effects of slaughtering operations on carcass contamination in an Irish pork production plant. **Irish Veterinary Journal**. Dublin, v. 67, p. 01-06, 2014.
- WILKINS, W.; RAJIC, A.; WALDNER, C.; MCFALL, M.; CHOW, E.; MUCKLE, A.; ROSENGREN, L. Distribution of *Salmonella* serovars in breeding, nursery, and grow-to-finish pigs, and risk factors for shedding in ten farrow-to-finish swine farms in Alberta and Saskatchewan. **The Canadian Journal of Veterinary Research**, v. 74, p. 81-90, 2010.
- WILLS, R. W.; GRAY, J. T.; FEDORKA-CRAY, P. J.; YOON, J. K.; LADELY, S.; ZIMMERMAN, J. J. Synergism between porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) and *Salmonella Choleraesuis* in swine. **Veterinary Microbiology**, v. 71, p. 177-192, 2000.
- WONDERLING, L.; PEARCE, R.; WALLACE, F. M.; CALL, J. E.; FEDER, I.; TAMPLIN, M.; LUCHANSKY, J. B. Use of Pulsed-Field Gel Electrophoresis To Characterize the Heterogeneity and Clonality of *Salmonella* Isolates Obtained from the Carcasses and Feces of Swine at Slaughter. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 69, p. 4177-4182, 2003.