

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

**Determinação de fontes de contaminação e vias de disseminação de *Salmonella* sp.  
em linhas de abate de suínos no Sul do Brasil.**

**Luis Eduardo da Silva**

**Porto Alegre, 2011**

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

**Determinação de fontes de contaminação e vias de disseminação de *Salmonella* sp.  
em linhas de abate de suínos no Sul do Brasil.**

Tese apresentada como requisito  
parcial para a obtenção do grau de  
Doutor em Ciências Veterinárias  
Especialidade na área de  
Bacteriologia

**Luis Eduardo da Silva\***

**Orientadora:** Profa. Dra. Marisa Ribeiro de Itapema Cardoso

**Co-orientador:** Prof. Dr. Luis Gustavo Corbellini

Porto Alegre, 2011

---

**\*Médico Veterinário MSc**

#### CIP - Catalogação na Publicação

da Silva, Luis Eduardo

Determinação de fontes de contaminação e vias de disseminação de *Salmonella* sp. em linhas de abate de suínos no sul do Brasil. / Luis Eduardo da Silva. -- 2011.

92 f.

Orientadora: Marisa Ribeiro de Itapema Cardoso.  
Coorientador: Luis Gustavo Corbellini.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Porto Alegre, BR-RS, 2011.

1. *Salmonella*. 2. suínos. 3. etapas de abate. 4. controle. I. Cardoso, Marisa Ribeiro de Itapema, orient. II. Corbellini, Luis Gustavo, coorient. III. Título.

**Luis Eduardo da Silva**

**Determinação de fontes de contaminação e vias de disseminação de *Salmonella* sp. em linhas de abate de suínos no Sul do Brasil.**

Aprovado em 17 de Março de 2011.

APROVADO POR

---

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

---

Prof. Dr. Luis Gustavo Corbellini  
Co-orientador

APROVADO POR

---

Profª Dra. Marisa da Costa  
Membro da Comissão

APROVADO POR

---

Prof. Dr. Eduardo C. Tondo  
Membro da Comissão

APROVADO POR

---

Pro. Dr. Wladimir Padilha da Silva  
Membro da Comissão

*Dedico este trabalho aos meus pais, Alcides e Eloisa, e aos meus avós (in memoriam), Carlos e Leodorina, que me deram o apoio e as condições necessárias para estudar e me formar em uma Universidade Pública e de Qualidade, alicerce para o que conquisto hoje.*

## **AGRADECIMENTOS**

Aos Professores Marisa Cardoso e Luis Gustavo Corbellini, pela orientação, ensinamentos e amizade;

À minha esposa Aline, pelo apoio e compreensão;

Aos Colegas do Laboratório de Medicina Veterinária Preventiva, sem os quais seria impossível realizar este Trabalho;

Às colegas Andréia Ferronato e Debora Pellegrini, pelo apoio em todas as fases do experimento;

A colega Vanessa Dias, pela realização das análises de PFGE;

A Embrapa, pelo apoio na realização do experimento. Em especial para a Dra. Jalusa Deon Kich e à colega Nelise Triches;

A FIOCRUZ, pela sorotipagem das amostras;

Às Empresas participantes, por acreditarem no trabalho da Universidade;

Ao Ministério da Agricultura, pelo apoio na finalização da Tese;

A todos que de alguma forma ajudaram a tornar este Trabalho realidade.

## RESUMO

Elevadas prevalências de *Salmonella* têm sido identificadas na cadeia de produção de suínos brasileira. Dessa forma, pode haver um maior risco de contaminação dos produtos e, portanto, maior risco ao consumidor. Diferentes estudos têm sido conduzidos abordando os efeitos dos estágios do abate sobre a contaminação por patógenos em carcaças. O presente estudo objetivou verificar a presença de *Salmonella* na superfície da carcaça avaliando-se a influência de diferentes etapas do processo de abate de suínos, do recebimento dos animais à lavagem final das carcaças, caracterizando os isolados por técnicas fenotípicas e genotípicas para detectar grupos clonais de *Salmonella* no processo de abate, em três frigoríficos (A, B, C) sob inspeção federal no sul do Brasil. Foi estudada a soroprevalência de cada lote abatido no turno de amostragem, não havendo correlação entre a sorologia dos lotes e a contaminação das carcaças após o chuveiro final ( $P= 0.42941$ ). A análise dos dados permitiu verificar que houve mais chance de isolar *Salmonella* a partir do conteúdo intestinal dos animais no Frigorífico C (Odds Ratio, OR=6,5,  $P<0,001$ ), demonstrando que nesse matadouro são abatidos lotes com maior prevalência de portadores. Considerando todas as etapas analisadas, a análise de *Qui*-quadrado da independência indicou que houve uma frequência estatisticamente significativa maior ( $P=0,004$ ) de isolamento de *Salmonella* após a depilação. Não houve isolamento de *Salmonella* das amostras de água da escalda, que manteve a temperatura sempre acima dos 61°C durante o abate. Em comparação com o Frigorífico A, no Frigorífico B observou-se maior chance de isolamento de *Salmonella* após a depilação (OR=4,18), após flambagem (OR=11,17) e após o chuveiro final (OR=14,66). Na comparação do Frigorífico C com A não houve diferença estatística significativa. Somente no Frigorífico B o número de animais com conteúdo intestinal positivo foi preditivo da contaminação das carcaças após o chuveiro final (Coeficiente= 0,57), demonstrando que as práticas adotadas na linha de abate não foram capazes de contribuir para o controle de *Salmonella*. A sorotipificação revelou oito diferentes sorovares, dentre os quais os sorovares Derby (n= 47; 35,6%), Typhimurium (n=46; 34,8%) e Panama (n=21; 15,9%) foram os mais frequentes e apresentaram, respectivamente, seis, oito e três pulsotipos após a digestão de DNA com as enzimas *XbaI* e *BlnI*. A análise dos pulsotipos identificados nas carcaças após o chuveiro final demonstrou a sua relação com isolados das baias de espera, do conteúdo intestinal e de outras carcaças. As etapas até a depilação demonstraram ser as mais

críticas para a disseminação de grupos clonais de *Salmonella* e a flambagem para o seu controle. Os resultados demonstraram a influência das práticas de higiene e processos de abate executados pelos matadouros no controle da contaminação da carcaça, mesmo quando lotes com elevado número de portadores de *Salmonella* são recebidos.

**Palavras Chave:** *Salmonella*, suínos, etapas de abate, controle

## ABSTRACT

High prevalence of *Salmonella* have been identified in the Brazilian swine production chain. In this way, there may be a greater hazard of product contamination and higher risk to consumers. Different studies have been conducted addressing the effects of the stages of slaughter on the contamination by pathogens on carcasses. This study aimed to evaluate the presence of *Salmonella* on the surface of the carcass after different stages of slaughtering process of pigs, from the animals receiving to the final wash of the carcasses, characterizing the isolates by phenotypic and genotypic techniques in order to detect clonal groups of *Salmonella* in the process of slaughter in three abattoirs (A, B, C) under federal inspection in southern Brazil. The prevalence of each batch slaughtered on the sampled shift was studied, there was no correlation between serology of batch and the contamination of carcasses after the Final Wash ( $P = 0.42941$ ). Data analysis showed that there was a higher chance of *Salmonella* isolation from the intestinal content of animals in Abattoir C (odds ratio, OR = 6.5,  $P < 0.001$ ), demonstrating that in this abattoir batches are slaughtered with higher prevalence of carriers. Considering all the stages analyzed, the chi-square analysis of independence indicated that there was a significant statistically higher frequency ( $P=0.004$ ) of *Salmonella* isolation after dehairing. There was no *Salmonella* isolation from the scalding water samples, which always kept the temperature above 61 °C during slaughter. Compared to Abattoir A, Abattoir B had a higher chance of *Salmonella* isolation after dehairing (OR = 4.18), after singeing (OR = 11.17) and after the final wash (OR = 14.66 ). Comparing Abattoir C to Abattoir A there was no significant statistically difference. Only in the Abattoir B the number of animals with positive intestinal contents was predictive for contamination of carcasses final wash (coefficient = 0.57), demonstrating that the practices adopted in the slaughter line were not able to control contamination by *Salmonella*. The serotyping revealed eight different serovars, of which the serovars Derby (n = 47, 35.6%), Typhimurium (n = 46, 34.8%) and Panama (n = 21, 15.9%) were the most frequent and showed, respectively, six, eight and tree pulsotypes of DNA after digestion with enzymes *XbaI* and *BlnI*. The analysis of pulsotypes identified in the carcasses after the Final Wash demonstrated their relationship with the isolates from lairage, intestinal contents and other carcasses. The stages up to dehairing were the most critical to the spread of clonal groups of *Salmonella*, while the flaming is crucial for their control. The results showed the

influence of hygiene practices and slaughter processes implemented by abattoirs on the control of carcass contamination, even when batches of high numbers of *Salmonella* carriers are slaughtered.

**Keywords:** *Salmonella*, swine, stages of slaughter, control

## LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1.** Diagrama da linha de abate de suínos, da recepção dos animais ao resfriamento das carcaças.....**35**
- FIGURA 2.** Identificação dos pontos de amostragem ao longo da linha de abate de suínos: Dp= após depilação, Fb= após flambagem, Ev= após evisceração e Ch= após chuveiro final.....**48**
- FIGURA 3.** Total de carcaças positivas e contagem média (log UFC) de *Salmonella* em 300 cm<sup>2</sup> de área amostrada em quatro etapas de abate no Frigorífico A.....**61**
- FIGURA 4.** Total de carcaças positivas e contagem média (log UFC) de *Salmonella* em 300cm<sup>2</sup> de área amostrada em quatro etapas de abate no Frigorífico B.....**61**
- FIGURA 5.** Total de carcaças positivas e contagem média (log UFC) de *Salmonella* em 300cm<sup>2</sup> de área amostrada em quatro etapas de abate no Frigorífico C.....**61**
- FIGURA 6.** Total de amostras positivas para *Salmonella* em conteúdo intestinal (CI) e carcaças nos diferentes pontos de amostragem dos Frigoríficos A, B e C.....**65**
- FIGURA 7.** Perfil de macro-restrição (PFGE) de sorovares de *Salmonella* isolados em três matadouros –frigoríficos do Sul do Brasil. M= *Salmonella* Branderup ATCC#BAA-664.....**68**

## LISTA DE TABELAS

- TABELA 1.** Caracterização da linha de abate dos três matadouros- frigoríficos incluídos no estudo, no que se refere à velocidade da linha e procedimentos nas etapas de escalda, flambagem e oclusão do reto .....**46**
- TABELA 2.** Frequência (%) de resultados positivos na sorologia e no isolamento de *Salmonella* a partir de conteúdo intestinal e carcaças suínas em três matadouros- frigoríficos do sul do Brasil, 2007-2009.....**56**
- TABELA 3.** Frequência de carcaças com isolamento de *Salmonella* nos diferentes pontos de coleta em três matadouros-frigoríficos no sul do Brasil, 2007-2009.....**60**
- TABELA 4.** Número de carcaças com isolamento de *Salmonella* em mais de uma amostra coletada, de acordo com o perfil de amostras positivas, nos Frigoríficos A, B e C.....**65**
- TABELA 5.** Sorovares de *Salmonella* identificados em amostras colhidas em baias de espera, conteúdo intestinal e carcaças suínas nas diferentes etapas de abate em três matadouros-frigoríficos (A, B, C) do Sul do Brasil.....**66**
- TABELA 6.** Distribuição de pulsotipos de três sorovares de *Salmonella* encontrados em carcaças após o Chuveiro Final em amostras colhidas em matadouros-frigoríficos do Sul do Brasil.....**69**

## **LISTA DE APÊNDICES**

**APÊNDICE A.** Nível sorológico dos lotes amostrados nas coletas do Frigorífico A.  
Animal Positivo= Densidade Ótica Corrigida  $> 0,169$ .....**90**

**APÊNDICE B.** Nível sorológico dos lotes amostrados nas coletas do Frigorífico B.  
Animal Positivo= Densidade Ótica Corrigida  $> 0,169$ .....**91**

**APÊNDICE C.** Nível sorológico dos lotes amostrados nas coletas do Frigorífico C.  
Animal Positivo= Densidade Ótica Corrigida  $> 0,169$ .....**92**

## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>ABIEPCS</b>	Associação Brasileira da Indústria Produtora e Exportadora de Carne Suína
<b>APPCC</b>	Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle
<b>APT</b>	Água Peptonada Tamponada
<b>BAM</b>	Bacteriological Analytical Manual
<b>BPFs</b>	Boas Práticas de Fabricação
<b>Ch</b>	Após chuveiro final
<b>Dp</b>	Após depilação
<b>EFSA</b>	European Food Safety Authority
<b>ELISA</b>	Enzyme-linked ImmunoSorbent Assay
<b>Ev</b>	Após evisceração
<b>Fb</b>	Após flambagem
<b>FSIS</b>	Food Safety and Inspection Service
<b>IC</b>	Intervalo de Confiança
<b>LIA</b>	ágar Lisina-Ferro
<b>LPS</b>	Lipopolissacarídeos
<b>NMP</b>	Número Mais Provável
<b>°C</b>	Grau Celsius
<b>OR</b>	Odds Ratio
<b>PCR</b>	Reação em Cadeia da Polimerase
<b>PFGE</b>	Pulsed-Field Gel Electrophoresis
<b>PPHO</b>	Procedimentos Padrão de Higiene Operacional
<b>RDC</b>	Resolução de Diretoria Colegiada
<b>RV</b>	Rappaport-Vassiliadis
<b>SIGSIF</b>	Sistema de Informações Gerenciais do Serviço de Inspeção Federal
<b>TSA</b>	ágar Triptona Soja
<b>TSI</b>	ágar Três Açúcares-Ferro
<b>TT</b>	Tetrationato Müller-Kauffmann
<b>UFC</b>	Unidade Formadora de Colônia
<b>XLD</b>	Xilose Lisina Desoxicolato
<b>XLT4</b>	Xilose Lisina Tergitol-4

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>16</b>
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>18</b>
2.1 Características de <i>Salmonella</i> .....	18
2.2 Salmonelose em suínos.....	19
2.3 Infecção dos animais na granja.....	19
2.4 Infecção dos animais durante o transporte e espera pré-abate.....	22
2.5 Importância de animais portadores de <i>Salmonella</i> ao abate.....	24
2.6 Métodos Diagnósticos.....	27
2.6.1 Isolamento.....	27
2.6.2 Sorologia.....	29
2.6.3 Quantificação.....	32
2.6.4 Avaliação genotípica.....	32
2.7 Contaminação das carcaças durante o processo de abate.....	33
2.8 Programas de Controle.....	44
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>46</b>
3.1 Caracterização do Estudo.....	46
3.2 Colheita de amostras.....	46
3.2.1 Sangue.....	47
3.2.2 Carcaças.....	47
3.2.3 Fragmento de intestino.....	47
3.2.4 Água do tanque de escalda.....	49
3.2.5 Baias de espera.....	49
3.2.6 Ambiente.....	49
3.3 Processamento das amostras.....	49
3.3.1 Sangue.....	49
3.3.2 Carcaça.....	50
3.3.3 Conteúdo intestinal.....	50
3.3.4 Água do tanque de escalda.....	50
3.3.5 Amostras de ambiente.....	50
3.4 Pesquisa de anticorpos anti- <i>Salmonella</i> .....	50
3.5 Pesquisa qualitativa de <i>Salmonella</i> .....	51
3.6 Quantificação de <i>Salmonella</i> .....	52

<b>3.7 Caracterização dos isolados de <i>Salmonella</i></b> .....	<b>53</b>
<b>3.8 Análise de Macrorestrição de isolados</b> .....	<b>53</b>
<b>3.9 Análise Estatística</b> .....	<b>54</b>
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>55</b>
<b>5 CONCLUSÕES</b> .....	<b>72</b>
<b>6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>73</b>
<b>APÊNDICES</b> .....	<b>89</b>

## 1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos a carne suína tem apresentado considerável aumento em seu consumo em nível mundial. Assim, é hoje a fonte de proteína animal mais consumida no mundo, com uma produção de 115 milhões de toneladas, sendo quase a metade produzida na China e outro terço na União Europeia e nos Estados Unidos. Representa mais de 40% do consumo de carnes, a frente da carne bovina, de frango e pescados. A participação do Brasil tem crescido no mercado mundial de carne suína, passando de 4% no ano 2000 para 11% em 2009. Dessa forma, o país passou a ser o quarto maior produtor mundial, com 3% da produção, mesmo diante das barreiras sanitárias, aumento dos subsídios europeus e o crescimento da concorrência internacional (ABIPECS, 2009).

Conforme dados do Sistema de Informações Gerenciais do Serviço de Inspeção Federal – SIGSIF, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, no ano de 2010 foram abatidos 28.615.995 suínos no Brasil, sendo 19.395.846 (67,78%) nos estados da Região Sul (BRASIL, 2011).

No Brasil, ao contrário do perfil mundial, o consumo de carne suína é inferior ao das carnes de frango e bovina, apresentando uma participação na aquisição domiciliar de carnes de apenas 13%. Mesmo assim, no período de 2004 a 2009 o mercado interno brasileiro cresceu 22,4%, com a disponibilidade interna de carne suína passando de 11,3 para 13,8 Kg/habitante/ano (ABIPECS, 2009).

Os consumidores dos países industrializados exigem uma variedade cada vez maior de critérios de qualidade antes de comprar alimentos (BLAHA, 2001). Neste sentido, o Brasil deve preocupar-se com patógenos que possam representar barreiras à comercialização, como é o caso da presença de *Salmonella*, que é considerada uma das mais importantes zoonoses transmitidas por alimentos devido à contaminação de carcaças e de produtos cárneos, inclusive os de origem suína (WILCOCK & SCHWARTZ 1993).

Epidemiologia, descritiva e molecular, é uma importante ferramenta para determinar potenciais fontes de infecção e tem sido muito utilizada para compreender a cadeia de transmissão de muitas doenças infecciosas (LIEBANA, 2002). A principal metodologia empregada para a detecção de *Salmonella* tem por base o isolamento microbiológico. Países europeus, como a Dinamarca, também adotaram em seus programas de controle a pesquisa de anticorpos nos rebanhos por meio de um teste de

ELISA indireto. No Brasil, um teste de ELISA baseado no sorovar Typhimurium foi desenvolvido pela Embrapa Suínos e Aves, demonstrando ser capaz de detectar e classificar rebanhos em níveis de positividade.

Contudo, a necessidade de elucidar a cadeia de transmissão e a predominância de certos sorotipos nas granjas e matadouros torna necessária a discriminação de subgrupos. Para isto, métodos moleculares como a macro-restrição do DNA total seguido de eletroforese em campo pulsado - “pulsed-field gel electrophoresis” (PFGE) têm sido adotados (LIEBANA, 2002).

As medidas adotadas na granja não são suficientes isoladamente para o controle da qualidade da matéria prima. Diferentes estudos têm abordado os efeitos dos estágios do abate sobre as carcaças, demonstrando que alguns pontos são apontados como tendo pequeno ou nenhum impacto na contaminação por *Salmonella*, enquanto outros são reconhecidos como altamente relevantes. Dentre os estágios, aqueles que têm recebido maior atenção têm sido depilação, flambagem, evisceração e chuveiro pré-resfriamento.

Embora no plano de amostragem de carcaças estabelecido pela CIRCULAR Nº 130/2007/CGPE/DIPOA do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, sejam toleradas cinco amostras positivas das 50 que compõe cada ciclo de pesquisa de *Salmonella* na superfície das carcaças (BRASIL, 2007), pela legislação brasileira *Salmonella* deve estar ausente no alimento (BRASIL, 2001) e a presença dessa bactéria pode levar à devolução de produtos no mercado nacional e internacional.

Nos trabalhos desenvolvidos no Sul do Brasil têm sido observada uma alta percentagem de animais portadores de *Salmonella* desde a granja até o abate, contaminando cortes e produtos, podendo chegar até o consumidor. Diante desta realidade, o Setor de Medicina Veterinária Preventiva da UFRGS em conjunto com a Embrapa Suínos e Aves têm pesquisado estratégias para o controle da infecção e contaminação por *Salmonella* adaptadas à realidade brasileira. Dentro desta linha de pesquisa, o presente estudo teve por objetivo avaliar a presença de *Salmonella* na superfície da carcaça após diferentes etapas do processo de abate de suínos, do recebimento dos animais ao resfriamento das carcaças. De forma adicional, visou estimar através da técnica do Número Mais Provável (NMP) a quantidade de *Salmonella* nas amostras, caracterizar por técnicas fenotípicas e genotípicas as amostras isoladas, relacionar as amostras de animais e ambiente e avaliar as características dos abatedouros que possam contribuir para possíveis diferenças no isolamento de *Salmonella* nas amostras de superfície das carcaças.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. Características de *Salmonella*

O gênero *Salmonella*, pertencente à família Enterobacteriaceae, é um bacilo gram-negativo com metabolismo tanto respiratório como fermentativo e produtores de ácido sulfídrico (HOLT, 1994). São, predominantemente, móveis por flagelos peritríqueos (WILCOCK & SCHWARTZ, 1993; GRIMONT *et al.*, 2000) e que geralmente não fermentam a lactose (CLARKE & GYLES, 1993). São capazes de utilizar citrato como única fonte de carbono, não hidrolisam uréia, são indol negativas e capazes de descarboxilar lisina e ornitina (HOLT *et al.*, 1994).

Embora a temperatura ótima para o crescimento seja 37°C (FRANCO & LANDGRAF, 1996), *Salmonella* pode desenvolver-se numa faixa de crescimento bastante ampla, variando de 7°C a 45°C (SCHWARTZ *et al.*, 2000). O pH ótimo para o seu crescimento é entre 6,5 e 7,5, tolerando uma variação entre 4,5 e 9,0 (QUINN *et al.*, 2005). No entanto, é sabido que valores inferiores a 4,1 a inativam e a destroem (TORTORA *et al.*, 2005). São resistentes à dessecação e ao congelamento, sobrevivendo no ambiente por anos (SCHWARTZ, 2000). Contudo, são sensíveis à maioria dos desinfetantes como quaternários de amônio e iodados (BOROWSKY *et al.*, 2006) e a descontaminação de carcaças com o uso de substâncias químicas, como os ácidos orgânicos, tem sido extensivamente estudada (HUGAS & EIRINI, 2008).

A classificação e a nomenclatura do gênero *Salmonella* sofreram várias modificações ao longo dos anos e ainda não estão totalmente definidas. Usualmente é utilizado o esquema de Kauffmann e White, que divide o gênero em sorotipos ou sorovares, tendo por base a composição dos antígenos O (somáticos), Vi (capsulares) e H (Flagelar) (CAMPOS, 2008). Em termos de classificação, o gênero *Salmonella* apresenta-se dividido em três espécies: *S. enterica*, *S. bongori* e *S. subterranea* (SHELOBOLINA *et al.*, 2004). *Salmonella enterica* é dividida em seis subespécies: *enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae* e *indica*. A subespécie *enterica* apresenta uma grande variedade de sorovares, conforme a variação antigênica (REEVES *et al.*, 1989). Campos (2008) relatou a existência de 2501 sorotipos de *Salmonella*, dentre os quais 1478 pertencendo a *S. enterica* subespécie I, onde estão contidos mais de 99,5% dos sorotipos mais comumente isolados. No entanto, é cada vez maior o número de sorovares de *Salmonella* identificados. Em 2010 foi publicada a caracterização de 70 novos sorovares reconhecidos entre os anos de 2003 e 2007, dos

quais 44 foram classificados como pertencendo a *S. enterica* subsp. *enterica* (GUIBOURDENCHE, 2010).

Há sorovares de *Salmonella* que são adaptados a um hospedeiro específico (Typhi para humanos, Choleraesuis para suínos e o Dublin para bovinos) (SCHWARTZ, 2000), enquanto outros sorovares afetam um grande número de hospedeiros, desenvolvendo importante papel na disseminação da infecção entre diferentes espécies (HIRSH, 1990). Embora *Salmonella* Enteritidis e *Salmonella* Typhimurium sejam os sorotipos mais relacionados com infecções humanas (GEIMBA *et al.*, 2004; BOYEN *et al.*, 2008), todos os sorovares isolados de suínos são considerados um perigo para saúde pública (EFSA, 2006).

## **2.2. Salmonelose em suínos**

Diferentes sorovares podem infectar o suíno, mas em geral *Salmonella* não causa doença clínica em suínos (SCHWARTZ, 2000; VAN DER GAAG *et al.*, 2004), sendo poucos sorovares que constituem causa significativa de doença, como Choleraesuis e Typhimurium, manifestando-se como doença sistêmica severa (BOYEN *et al.*, 2008).

Os suínos podem recuperar-se totalmente da infecção, mas alguns poderão permanecer como portadores e excretores intermitentes por meses (WILCOCK & SCHWARTZ, 1993). Assim, é preciso considerar que a característica intermitência na excreção fecal de *Salmonella* permite supor que o número de animais positivos no lote possa ser ainda maior que o encontrado pelo isolamento da bactéria a partir de amostras fecais (NIELSEN *et al.*, 1995).

É na condição de portadores sadios que os suínos representam uma maior preocupação, pois neste estado se comportam como reservatórios de *Salmonella* e, conseqüentemente, disseminadores do microrganismo pelas fezes (EFSA, 2008a), constituindo a forma mais importante de manutenção de *Salmonella* nos rebanhos e de sua entrada nos frigoríficos (SCHWARTZ, 2000).

## **2.3. Infecção dos animais na granja**

A disseminação de *Salmonella* pode ocorrer de múltiplas formas em uma propriedade. Nesse sentido, Baggesen *et al.* (1996) isolaram *Salmonella* nos dejetos (34%), fezes (25%), baias (24%), equipamentos (19%) e sistema de ventilação (12%), demonstrando a variedade de fontes de infecção.

De forma geral, os resultados de avaliação dos fatores de risco identificam aspectos relativos à higiene e biossegurança (KICH *et al.*, 2005; SCHWARZ, 2009). Com isso, um importante fator relacionado com a disseminação de *Salmonella* é a limpeza e desinfecção inadequada das instalações (HIRSH, 1990), o que foi confirmado por trabalhos que verificaram a presença residual da bactéria nas instalações como sendo um fator importante para a infecção de novos lotes alojados (BELOEIL *et al.*, 2004; MÜLLER *et al.*, 2009). Nesse sentido, Dorr *et al.*(2009) identificaram que de 10% a 20% das baias de terminação eram positivas antes de receberem novos suínos. Assim sendo, a capacidade de *Salmonella* de sobreviver e multiplicar-se no ambiente e o ciclo fecal-oral contínuo que pode estabelecer-se na granja, demonstram que práticas de limpeza e desinfecção efetivas são cruciais para a redução do risco de manutenção do agente no ambiente (BERENDS *et al.*, 1996; RAJIC *et al.*, 2002b), sobretudo considerando que estudos demonstram que *Salmonella* pode infectar suínos expostos ao ambiente contaminado após um período de duas horas (HURD *et al.*, 2001; ROSTAGNO *et al.*, 2003).

Embora *Salmonella* possa sobreviver por longos períodos no ambiente, os animais portadores são o maior reservatório e representam um importante perigo (BOYEN *et al.*, 2008). Um agravante dessa condição é a mistura de lotes de diferentes origens, que é apontada por diferentes autores como um dos fatores de risco mais importantes (LO FO WONG *et al.*, 2004; KICH *et al.*, 2005; FOSSE *et al.*, 2009; SCHWARZ, 2009). Adicionalmente, trabalhos observaram que granjas de terminação que abatem mais de 3500 animais por ano têm um elevado risco de excreção fecal, indicando o tamanho das criações também como fator de risco (GARCIA-FELIZ *et al.*, 2009). No entanto, outros trabalhos não encontraram esta associação (VAN DER WOLF *et al.*, 2001; LO FO WONG *et al.*, 2004), o que pode estar relacionado com o fato de que o aumento do tamanho do rebanho não necessariamente reflete na maior lotação nas baias, bem como granjas maiores podem dispor das condições necessárias para a implementação de efetivas medidas de biossegurança e boas práticas de manejo (LO FO WONG *et al.*, 2004). Nesse sentido, o manejo dos lotes em sistema todos dentro-todos fora (LO FO WONG *et al.*, 2004) e o maior número de dias de vazio sanitário (SCHWARZ, 2009) apresentaram efeito protetor contra a infecção.

Outras falhas de biossegurança, como a ausência de cerca na granja e ausência de controle de roedores (KICH *et al.*, 2005) também são apontados como fatores de risco, bem como o acúmulo de dejetos no ambiente da granja, que constitui uma fonte

potencial de transmissão de *Salmonella*, além de atrair roedores e outros animais que acabam por disseminar a bactéria nas instalações (SCHWARZ, 2009).

Quanto ao momento da infecção dos animais, *Salmonella* pode estar presente em todas as fases de produção. Trabalhos desenvolvidos na União Europeia apresentam os suínos de reprodução como uma importante fonte de disseminação de *Salmonella* na cadeia de produção (EFSA, 2009). Berends (1998) estimaram que entre 1% e 10% da infecção de suínos terminados tem origem ainda nas Unidades de Produção de Leitões (UPLs). Entretanto, em estudos realizados em granjas no sul do Brasil (MÜLLER, 2005; SCHWARZ *et al.*, 2006; SILVA, L.E. *et al.*, 2006) a fase de terminação foi identificada como ponto crítico de difusão da infecção, a exemplo do que foi também descrito por Letellier *et al.* (1999) em rebanhos canadenses e Bahnsen *et al.* (2005) em criações nos Estados Unidos. Em pesquisa realizada por Dorr *et al.* (2009) foi observado o aumento significativo da prevalência de *Salmonella* da creche para o abate, passando de 6,4% para 56,7%, de 5% para 65% e de 0% para 50%, respectivamente nas três granjas avaliadas.

Em diferentes estudos (BERENDS *et al.*, 1998; MÜLLER, 2005; SILVA, L.E. *et al.*, 2006) a ração contaminada foi apontada como sendo um dos veículos de infecção dos animais. Em trabalho desenvolvido por Benschop *et al.* (2008) o uso de ração comprada foi associado com a soropositividade dos rebanhos e relacionou a associação ao fato de que essas rações são quase exclusivamente peletizadas, o que corrobora com outros trabalhos que demonstraram que a ração peletizada foi associada com o aumento do risco de infecção dos animais (GARCIA-FELIZ *et al.*, 2009). Nessa linha, Kich *et al.* (2005) identificaram o uso de ração seca, em relação à úmida, associada à alta soroprevalência, enquanto em outros trabalhos a ração na forma líquida, contendo produtos fermentados, que originam grande quantidade de ácidos orgânicos, foi identificada como fator de proteção à infecção (VAN DER WOLF *et al.*, 2001). De forma adicional, foi observada a estocagem de ingredientes de ração desprotegidos de outros animais, caracterizando-se como fator de risco para a infecção por *Salmonella* (KICH *et al.*, 2005).

Em relação à formulação das rações, tem-se que a utilização de farinhas de origem animal no preparo das rações é apontada como principal fonte de introdução de *Salmonella* (NASCIMENTO & SILVA, 1994), embora ingredientes de origem vegetal também possam servir de fonte de contaminação para os alimentos (SCHWARTZ, 2000). Fialho *et al.* (1985) encontraram 5,8% de amostras de ingredientes de origem

animal positivas para *Salmonella*. De acordo com Oliveira (1996), a recontaminação cruzada dos componentes da ração de origem animal (farinha de vísceras, por exemplo) se dá após o processamento, devido às falhas na estrutura como a proximidade da fábrica com a plataforma de desembarque de frangos para o abate. Outros autores isolaram *Salmonella* em diferentes etapas do processo de produção em fábricas de ração para suínos, identificando a recepção e o armazenamento como críticos (PELLEGRINI *et al.*, 2009). Assim, a ração deve ser sempre considerada como potencial veículo de *Salmonella* para os animais (FEDORKA-CRAY *et al.*, 2000).

Considerando as diferentes fontes de infecção dos animais na granja e as elevadas prevalências bacteriológicas e sorológicas detectadas nos rebanhos infectados (DORN-IN *et al.*, 2009; CARDINALE *et al.*, 2010), verifica-se que a infecção por *Salmonella* na granja é um importante fator que influencia a contaminação das carcaças ao abate (BAHNSON *et al.*, 2006).

#### **2.4. Infecção dos animais durante o transporte e espera pré-abate**

A infecção de suínos com *Salmonella* pode ocorrer na granja, entretanto, o transporte e a espera pré-abate também serão momentos críticos para a infecção dos lotes (BERENDS *et al.*, 1996; SWANENBURG, 2001d; ROSTAGNO *et al.*, 2010). Berends *et al.* (1996), apontam que entre 5 e 30% dos animais podem excretar *Salmonella* no período final da terminação e que esta percentagem pode dobrar durante o transporte e espera. Assim, considerando que no estudo conduzido por Silva, L.E., *et al.* (2006) 28,6% dos animais foram soropositivos e 75% estavam excretando *Salmonella* nas fezes quando do início da fase de terminação, tem-se que o potencial de amplificação da infecção nas etapas de transporte e espera pré-abate é muito grande.

De acordo com Williams e Newell (2001), a infecção durante o transporte para o frigorífico ocorre se não houver limpeza e desinfecção adequadas dos caminhões, ou quando existirem animais excretando *Salmonella* durante o transporte. Trabalhos demonstraram que o estresse do transporte até o abatedouro reduz a resistência do animal podendo levá-lo a disseminar o microrganismo, contaminando os caminhões (WILCOCK & SCHWARTZ, 1993; LÁZARO *et al.*, 1997). Nesse sentido, foi demonstrado por Rostagno *et al.* (2002b) que 83,3% dos caminhões amostrados eram contaminados com *Salmonella*. Corroborando com estes achados, pesquisa desenvolvida por Dorr *et al.* (2009) identificou uma prevalência de 100% nos caminhões amostrados antes do carregamento dos leitões para o transporte da unidade

de creche para a terminação e uma prevalência variando de 67,7% a 100% antes do transporte para o abatedouro. Assim, é possível afirmar que a contaminação residual de caminhões utilizados para o transporte de suínos pode influenciar na prevalência de animais positivos nas unidades de terminação (DORR *et al.*, 2009) e ao abate (VAN DER WOLF *et al.*, 1999; DORR *et al.*, 2009).

Os suínos podem tornar-se infectados durante o transporte e na espera pré-abate devido ao estresse nessas etapas (VYT *et al.*, 2006) em função da mistura com suínos infectados/excretando e contato com um ambiente contaminado se as baias de espera não foram bem limpas e desinfetadas (BERENDS *et al.*, 1996; SWANENBURG *et al.*, 2001b). Nesse sentido, pesquisas demonstram que nas baias de espera e áreas sujas dos matadouros a prevalência de *Salmonella* pode ser de até 100% (BOTTELDOORN *et al.*, 2003).

Assim, trabalhos realizados por Swanenburg *et al.* (2001a) e Rostagno *et al.* (2002a) relatam que o alto nível de contaminação com *Salmonella* nas baias de espera pré-abate pode ter efeito significativo no número de suínos infectados ao abate, não somente através do efeito da associação do estresse, mas também como uma fonte de infecção. Corroborando com esses achados, De Busser *et al.* (2008) identificaram o risco de contaminação de carcaças na linha de abate em abatedouros onde a presença de *Salmonella* nas baias de espera foi observada. Em estudo mais recente, os resultados demonstraram que a prevalência de *Salmonella* nas baias de espera variou entre 0% e 100%, determinando que a inadequada limpeza e desinfecção, bem como o tempo de espera caracterizam-se como fatores importantes para a disseminação do patógeno (DE BUSSER *et al.*, 2011).

No entanto, limpeza e desinfecção de baias de espera podem unicamente prevenir a contaminação cruzada com *Salmonella* de outras granjas, mas não daquelas já presentes no grupo (BERENDS *et al.*, 1996). Assim, em grupos de suínos positivos, os animais são quatro vezes mais suscetíveis de (re)infecção com *Salmonella* a partir de outros indivíduos do rebanho do que a partir de outros rebanhos (BERENDS *et al.*, 1997).

Conforme Berends *et al.* (1998), 90% das novas infecções que ocorrem durante o transporte são causadas pelo mesmo sorovar já presente no rebanho. Nessa linha, outro trabalho demonstrou que a maioria das cepas isoladas de amostras de suínos ao abate pode ser relacionada com cepas isoladas da espera antes do abate (VIEIRA-PINTO, 2006). Adicionalmente, foi encontrado o mesmo perfil genômico dos isolados

no conteúdo cecal e/ou linfonodos mesentéricos nos isolados de caminhões e baias de espera, mas não nas amostras do ambiente das granjas, ressaltando a importância do sistema de limpeza dos caminhões e destacando o papel das baias de espera na infecção por *Salmonella* (DORR, 2009). Nessa mesma linha, Letellier *et al.* (2009) identificaram, através de análise de PFGE, que a maioria dos isolados de carcaças eram similares aos identificados nos animais ou no ambiente pré-evisceração, indicando que atenção pode ser dada para regular lavagem e desinfecção das áreas de espera, particularmente após o abate de lotes de rebanhos altamente infectados. Corroborando com esses resultados, De Busser *et al.* (2011) também identificaram o mesmo perfil genômico dos isolados na área da espera e na cavidade oral dos animais em 95% dos casos, e na área de espera e carcaças em 52,6% dos casos, confirmando a importância da espera como fonte primária de *Salmonella* dos suínos abatidos.

## **2.5. Importância de animais portadores de *Salmonella* ao abate**

Estudos têm demonstrado a associação entre a infecção do animal antes do abate e a contaminação da carcaça (SORENSEN *et al.*, 2004; McDOWELL *et al.*, 2007). Nesse sentido, os resultados de estudo desenvolvido por Letellier *et al.* (2009) demonstraram que carcaças de rebanhos onde mais de 20% dos animais eram soropositivos tinham cinco vezes maior probabilidade de serem positivas que carcaças de rebanhos negativos. Adicionalmente, a infecção dos tecidos linfáticos (tonsilas e linfonodos) foi indicada como um importante reservatório de *Salmonella* e com importante papel como fonte de contaminação durante o processo de abate (VIEIRA-PINTO *et al.*, 2010). Estudos desenvolvidos no Canadá demonstraram que quando as carcaças eram positivas, a maioria dos linfonodos mesentéricos também eram positivos (75 de 86), sugerindo a transferência de *Salmonella* a partir de tecidos infectados (LETELLIER *et al.*, 2009). Nesse sentido, a ocorrência de *Salmonella* em linfonodos intactos na carcaça também foi analisada nos trabalhos desenvolvidos por Alves *et al.* (1994) e Castagna *et al.* (2004 a), demonstrando um risco elevado para a saúde pública do abate de animais portadores.

A grande importância da identificação de animais portadores deve-se ao fato de que os suínos são a fonte primária de *Salmonella* no abatedouro (EFSA, 2008b) e que estes podem contaminar o ambiente, os equipamentos e as carcaças durante o abate (WILCOCK & SCHWARTZ, 1993; TEUNIS *et al.*, 2010). Animais carreadores abrigam *Salmonella* em seus órgãos internos (ALBAN & STÄRK, 2005), de forma que

o corte do intestino ou linfonodos pode resultar em contaminação da carcaça e das carcaças subsequentes (MÔO *et al.*, 1980; DE BUSSER *et al.*, 2008).

Estudos demonstraram que há uma forte correlação entre o número de animais carreando *Salmonella* nas fezes e o número de carcaças contaminadas ao final da linha de abate. Esta correlação reflete uma série de processos incluindo contaminação direta, em que *Salmonella* que entra no abatedouro em um animal é transferida para a carcaça originada daquele animal, e contaminação cruzada, em que *Salmonella* que entra no abatedouro em um animal é transferida em uma ou mais carcaças de animais anteriormente negativos, por contato direto ou indireto durante o processo (BERENDS *et al.*, 1997). Corroborando nesse sentido, estudos sugerem que a presença de *Salmonella* no conteúdo intestinal pode representar um substancial risco de contaminação das carcaças, justificando cuidado para evitar a ruptura das vísceras ou extravasamento de seu conteúdo durante o processo de abate (BAHNSON *et al.*, 2006). Nessa mesma linha, Swanenburg *et al.* (2001a) demonstraram o risco potencial de animais portadores durante o processo, encontrando correlação significativa entre presença em tonsilas e conteúdo intestinal com carcaças positivas na linha de abate. Botteldoorn *et al.* (2003) também identificaram significante associação entre o número de animais que excretava nas fezes e/ou era carreador em linfonodos mesentéricos e o número de carcaças contaminadas ao fim da linha de abate. A associação entre conteúdo intestinal positivo e linfonodos mesentéricos positivos também foi verificado por Vieira-Pinto *et al.* (2006).

No Brasil, há grande variabilidade na prevalência identificada nas diferentes regiões do país. Em estudo realizado no Rio Grande do Sul, foi demonstrado que a prevalência de suínos portadores assintomáticos de *Salmonella* em linfonodos mesentéricos e conteúdo intestinal, no momento do abate, foi de 55,6% (BESSA *et al.*, 2004). Em pesquisa realizada em pequeno abatedouro no Estado de Santa Catarina, *Salmonella* foi isolada em 100% (6/6) do conteúdo intestinal (SEIXAS *et al.*, 2009). Na região Oeste do Estado do Paraná, foi verificada uma prevalência média de 17,33% (0% a 30,0%) em linfonodos mesentéricos (SPOLAORE, 2007). Em estudo realizado em três diferentes empresas na Região Sul do Brasil, a frequência de isolamento a partir de linfonodos mesentéricos variou de 62,5% a 85,0% enquanto a soroprevalência variou entre 73,8% e 83,2% (SCHWARZ *et al.*, 2009b). Menores prevalências foram encontradas nas regiões Sudeste e Centro-Oeste. No Estado de São Paulo a pesquisa desenvolvida por Teixeira (2006) confirmou o isolamento bacteriano em 23,91% das

amostras de fezes, carcaças e linfonodos. No Estado de Mato Grosso, houve a identificação de 11,54 % de amostras de tonsilas e 19,39% de linfonodos mesentéricos positivos para *Salmonella* (SILVA, M.C. *et al.*, 2009), os menores resultados encontrados.

Em pesquisa realizada por Sorensen *et al.* (2004) foi demonstrada forte associação entre a sorologia do rebanho e a prevalência de *Salmonella* encontrada no conteúdo cecal e na superfície das carcaças. Para cada 10% de aumento da sorologia do rebanho, foi observada uma variação da chance (odds ratio) de 1,3 para 1,5 no isolamento de *Salmonella*. Em pesquisa desenvolvida no Brasil, a chance para isolamento positivo aumentou 1,5 vezes para cada 25% de aumento na soroprevalência (KICH *et al.*, 2007).

Assim, a diminuição da entrada de animais portadores no matadouro é um ponto crucial entre as medidas de controle de *Salmonella* de forma que a melhor e mais permanente solução seria produzir animais de abate livres de *Salmonella* (BERENDS *et al.*, 1997). No entanto, considerando que a erradicação de *Salmonella* é um objetivo impraticável na suinocultura moderna (WEGENER *et al.*, 2003) muitas pesquisas têm buscado a redução do índice de animais portadores, principalmente considerando que animais positivos podem aumentar o nível de contaminação no abatedouro (DE BUSSER *et al.*, 2011).

Assim, uma das linhas de pesquisa propostas é a utilização de vacinas (LETELLIER *et al.*, 2001; HAESEBROUCK *et al.*, 2004), havendo resultado favorável em avaliação realizada no Brasil, onde foi observada a redução de 53% na prevalência em linfonodos e uma diminuição de 55% na soroprevalência dos animais tratados em relação ao grupo controle (SCHWARZ, 2009). A adição de probióticos na ração dos animais também tem sido cada vez mais utilizada (NOGUEIRA, 2010), com trabalhos demonstrando o efeito positivo do uso de cepas de *Lactobacillus* sp. e *Pediococcus* sp. na redução do número de leitões portadores de *Salmonella* (CASEY *et al.*, 2007). A adição de mananoligossacarídeos na dieta de suínos também foi identificada como capaz de reduzir a excreção de *Salmonella*, sendo indicada como uma alternativa para diminuir a contaminação ambiental na granja e no pré-abate (CALVEYRA, 2010). O uso de bacteriófagos também é apresentado como tratamento alternativo para a redução do número de portadores e apresentou resultados positivos em pesquisa realizada em aves (FIORENTIN *et al.*, 2005). No entanto, em outra pesquisa utilizando a mesma associação de fagos, mas em suínos, o protocolo testado não foi capaz de controlar a

infecção ou diminuir a excreção fecal de *Salmonella* em animais de terminação infectados artificialmente (NOGUEIRA, 2010).

Outra forma de prevenção da contaminação cruzada durante transporte, espera e abate é a indicação de que lotes livres de *Salmonella* deveriam ser separados de animais provenientes de rebanhos infectados ou com *status* desconhecidos, uma vez que a amplificação de animais infectados e a maior prevalência ao abate aumentam o risco de contaminação da carcaça e produtos em grau semelhante (BERENDS *et al.*, 1996).

## 2.6. Métodos Diagnósticos

A prevalência de infecção por *Salmonella* pode ser estimada pela sorologia ou pelo isolamento da bactéria (VAN DER GAAG, 2004). A fase zootécnica em que será importante determinar a prevalência também pode variar, podendo focar nas granjas que produzem animais para o abate ou nos rebanhos que distribuem fêmeas e leitões para outras granjas, e que podem contribuir para a disseminação de *Salmonella* (SANDBERG *et al.*, 2002). Assim, é possível determinar se as estratégias de controle de *Salmonella* serão intensificadas no pré-abate ou no pós-abate (ALBAN *et al.*, 2010), sobretudo considerando que controlar a prevalência de *Salmonella* na produção primária pode ter um impacto benéfico na qualidade microbiológica das carcaças e da carne, porém tem um custo elevado (EFSA, 2008b).

A sorologia do rebanho e a pesquisa do agente em conteúdo cecal são apropriados para monitorar *Salmonella* no pré-abate, enquanto suaves de carcaça são mais apropriados para o monitoramento pós-abate, refletindo a prevalência do rebanho e o efeito do abatedouro (SORENSEN *et al.*, 2004). No entanto, estudos demonstraram que amostras de conteúdo cecal e linfonodos mesentéricos também podem ser considerados para uma melhor estimativa da prevalência de *Salmonella* ao abate (ROSTAGNO, 2006). Adicionalmente, pesquisas têm demonstrado que o *status* sorológico do rebanho ou do lote nem sempre é correlacionado com a contaminação das carcaças (ROSSEL *et al.*, 2008).

### 2.6.1. Isolamento

Os testes bacteriológicos indicam se *Salmonella* está presente na amostra colhida (CHRISTENSEN & RUDEMO, 1998). Assim, a baixa sensibilidade de uma única amostra para detectar *Salmonella* (BAGER & PETERSEN, 1991 Apud VAN WINSEN *et al.*, 2001) e a excreção fecal intermitente de baixo número de *Salmonella* por

portadores sem sinais clínicos (GALLAND *et al.*, 2000) podem representar uma limitação da técnica, podendo haver resultados falso negativos (EFSA, 2008a). Além disso, algumas células de *Salmonella* podem estar injuriadas pelo processamento ou condições ambientais, dificultando o crescimento em meios de cultura (VARNAM & EVANS, 1991).

Diferenças nos resultados podem ser causadas, ainda, pelo tipo de amostra (colhida na granja ou no frigorífico), delineamento de amostragem (volume e número de coletas), e procedimentos de diagnóstico (pools e método de cultivo) (VAN DER WOLF *et al.*, 2001). Ocorre, ainda, que a presença de bactérias interferentes nas amostras, pode mascarar a presença de *Salmonella* nas amostras (FIERENS & HUYGHEBAERT, 1996).

Assim, com o intuito de aumentar a probabilidade de isolamento, adota-se uma metodologia que consiste em três etapas: pré-enriquecimento, enriquecimento seletivo e isolamento em meio sólido. O pré-enriquecimento tem o objetivo de recuperar as células injuriadas. O enriquecimento seletivo visa inibir a microbiota acompanhante e promover a elevação do número de *Salmonella*, enquanto o isolamento em meio sólido seletivo tem por objetivo promover o desenvolvimento preferencial de colônias de *Salmonella*, com características típicas para posterior confirmação bioquímica e sorológica (VARNAM & EVANS, 1991; MICHAEL, 2003).

Por conta dessas múltiplas etapas, a técnica de análise microbiológica convencional é demorada, podendo demandar de cinco até sete dias. São ainda trabalhosas, devido à necessidade de muitos reagentes e vidraria, principalmente se for processado um grande número de amostras, como as que são exigidas na indústria de alimentos. Neste caso, a técnica, apesar de confiável, se mostra de baixa praticidade, principalmente para a rotina de inspeção sanitária, a qual necessita de resultados rápidos e seguros para liberar, ou não, os lotes para consumo (VON RÜCHTER, 2006). Assim, vários estudos têm sido realizados avaliando alternativas de diagnóstico, como Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) e Ensaio Imunoenzimático de detecção, que possam permitir o diagnóstico mais rápido e preciso (YOSHIMASU *et al.*, 2001; WU, CHIH-CHUAN *et al.*, 2003; FUNK *et al.*, 2005; MACIOROWSKI *et al.*, 2006; NOWAK *et al.*, 2007; MAGLIULO *et al.*, 2007). Também, em ocasiões em que o número de bactérias é muito baixo, podendo impedir sua identificação (McCABE *et al.*, 2011) ou quando as bactérias não podem ser cultivadas para o isolamento (PETERSSON *et al.*,

2010), técnicas de detecção molecular podem ser utilizadas para o diagnóstico de *Salmonella* (HERRERA-LEON *et al.*, 2007; McGUINNESS *et al.*, 2009 ).

### 2.6.2. Sorologia

Um dos elementos de um programa de controle é a rápida e correta identificação de rebanhos com alta soroprevalência (ALBAN *et al.*, 2002). Assim, se o objetivo for identificar rebanhos que foram expostos à *Salmonella*, a sorologia pode ser aplicada ao invés da análise microbiológica de amostras fecais (SANDBERG *et al.*, 2002).

Para tanto, nas plantas de abate, a classificação da soroprevalência do rebanho de origem deve ser conhecida na entrega dos animais ao abatedouro (NOWAK *et al.*, 2007), podendo ser utilizada no manejo da higiene na linha de processamento (CHRISTENSEN & RUDEMO, 1998). Isto é possível, pois de forma geral suínos em um grupo são abatidos sucessivamente, não havendo mistura de animais dentro do grupo ou entre grupos (VAN DER GAAG *et al.*, 2004). Outros autores também compartilham a ideia de que abater rebanhos livres de *Salmonella* separadamente de rebanhos infectados pode ser útil para reduzir a contaminação de carcaças. Isto foi demonstrado por estudos em que suínos de rebanhos livres de *Salmonella* apresentaram níveis de contaminação pós-abate menores que aqueles oriundos de rebanhos infectados (SWANENBURG *et al.*, 2001c).

Na Dinamarca, uma das bases do controle da *Salmonella* tem sido o teste de ELISA, constituído de uma mistura de lipopolissacarídeos (LPS) extraídos de *S. Typhimurium* e *S. Choleraesuis*, por serem os mais prevalentes naquele país (MOUSING *et al.*, 1996). Em estudos realizados no Brasil, Kich *et al.* (2007) concluíram que um ELISA indireto desenvolvido a partir do sorovar *Typhimurium*, que possui antígenos comuns aos sorovares prevalentes na Região Sul do Brasil (BESSA *et al.*, 2001) apresenta-se como uma ferramenta adequada para a determinação da severidade da infecção e identificação dos fatores de risco associados.

Desta forma, o uso do teste de ELISA para estabelecer a soroprevalência de *Salmonella* em granjas de suínos tem várias vantagens, podendo-se destacar a maior sensibilidade e a fácil padronização entre estudos e países (VAN DER WOLF *et al.*, 2001). Os esforços no sentido de padronizar o teste, no entanto, não têm sido exitosos. Maior exemplo disso é o fato de que os dados de monitoramento realizado por Estados Membros da União Europeia não puderam ser comparados devido às diferenças dos testes empregados nas análises (EFSA, 2008a).

No entanto, esta ferramenta também apresenta limitações. O teste de ELISA fornece indícios da ocorrência de infecção por *Salmonella* em um animal nos 30 aos 120 dias antes da coleta da amostra (GALLAND *et al.*, 2000) sendo o período de soroconversão é de aproximadamente duas semanas (VAN DER WOLF *et al.*, 2001; VAN DER GAAG *et al.*, 2004). Esta característica impede que o teste possa ser utilizado para determinar a prevalência em um curto espaço de tempo (HURD *et al.*, 2002b), pois nem sempre representaria o *status* atual do rebanho (SWANENBURG *et al.*, 2001d). Assim, um rebanho pode ser sorologicamente negativo, mas todos os suínos amostrados apresentarem-se positivos para *Salmonella* no isolamento bacteriológico (BOTTELDOORN *et al.*, 2003) e, assim, contaminarem a linha de abate e outras carcaças. Isto decorre de infecções recentes, que não serão detectadas pela sorologia, como é o caso dos animais que tenham se infectado durante o transporte ou período de espera antes do abate (FEDORKA-CRAY *et al.*, 1994). Este fato foi verificado em estudo que observou um índice de isolamento maior que a prevalência sorológica em lotes de suínos, sugerindo a infecção imediatamente antes do abate (SWANENBURG *et al.*, 2001c). Outros autores também observaram a presença de animais positivos no isolamento de *Salmonella* e que eram soronegativos (BOTTELDOORN *et al.*, 2003; SILVA, L.E. *et al.*, 2006).

Outra limitação do ELISA é não poder ser utilizado como teste individual, uma vez que nem todos os suínos soroconvertem imediatamente após inoculação ou enquanto excretam *Salmonella* nas fezes. Isto foi demonstrado em estudo no qual a soroconversão iniciou no sétimo dia pós-inoculação, porém no 22º dia pós-infecção, 3% dos animais ainda não haviam soroconvertido (NIELSEN *et al.*, 1995). Outro aspecto dos testes sorológicos, que diz respeito ao fato que diferentes testes de ELISA variam em sensibilidade de acordo com os antígenos incluídos no teste (VAN WINSEN *et al.*, 2001).

Porém, observa-se que, diferente da excreção intermitente de *Salmonella* nas fezes, níveis de anticorpos no soro não flutuam diariamente (GALLAND *et al.*, 2000), de forma que a estabilidade da resposta imune permite detectar animais portadores que possam ter entrado em contato com a bactéria (NIELSEN *et al.*, 1995), embora um animal portador possa tornar-se sorologicamente negativo (VAN DER GAAG *et al.*, 2004).

A associação entre o *status* sorológico do animal e o isolamento de *Salmonella* foi demonstrada em diferentes trabalhos (BAUM *et al.*, 1997; BURKHART *et al.*,

1997; STEGE *et al.*, 2000; ALBAN *et al.*, 2002; KRANKER *et al.*, 2002; RAJIC *et al.*, 2002a). Exemplo dessa associação é o estudo desenvolvido por Letellier *et al.* (2009) onde foi observado que, quando a sorologia dos animais era positiva, as carcaças foram positivas em 67% dos casos (122 de 183), indicando que o *status* sorológico positivo é fortemente correlacionado com o *status* positivo das carcaças. No entanto, uma questão central é a forma como interpretar a associação entre sorologia e isolamento, pois os resultados sorológicos de um rebanho podem ser interpretados diferentemente, conforme o ponto de corte aplicado ao validar o teste (ALBAN *et al.*, 2002; HAUTEKIET *et al.*, 2006; CORTIÑAS-ABRAHANTES *et al.*, 2009). Portanto, as estimativas de prevalência de *Salmonella* obtidas por sorologia e isolamento podem diferir (STEGE *et al.*, 2000), como demonstrado nos estudos de Fedorka-Cray *et al.*, (1997) e Silva, L.E. *et al.*, (2006).

Rebanhos suínos podem ser classificados como negativos/positivos para *Salmonella* baseado nos resultados do ELISA, utilizando amostras de sangue coletadas na linha de abate. Pode-se, ainda, combinar o resultado do isolamento a partir de tonsilas, linfonodos e conteúdo intestinal, gerando informações sobre a infecção na granja, durante transporte e na espera (SWANENBURG *et al.*, 2001c), o que pode auxiliar também na detecção de excretores latentes (HURD *et al.*, 2002a). Estas observações indicam que, coletando-se mais do que uma amostra por animal, aumenta-se a chance de detectar um suíno positivo (SWANENBURG *et al.*, 2001c; HURD *et al.*, 2002a).

No programa de controle dinamarquês de *Salmonella*, é assumido que rebanhos com uma alta porcentagem de suínos soropositivos ao abate têm uma elevada probabilidade de apresentarem suínos infectados por *Salmonella* e, dessa forma, uma alta proporção de animais excretores (CHRISTENSEN *et al.*, 1999). No entanto, estudos indicam que a soroconversão não prediz a probabilidade de que *Salmonella* esteja presente nas carcaças no momento do abate (FEDORKA-CRAY *et al.*, 1997), enquanto outros concluem que a prevalência bacteriológica encontrada no frigorífico não é um bom indicativo da real prevalência de rebanho (VAN DER WOLF *et al.*, 1999). Ocorre ainda, que estudos têm relatado a variabilidade da capacidade dos abatedouros em lidar com os animais positivos para *Salmonella* (SORENSEN *et al.*, 2004; DE BUSSER *et al.*, 2011), de forma que esta particularidade deve ser considerada, pois pode interferir na identificação da associação entre a sorologia do rebanho e a prevalência de isolamento nas carcaças (SORENSEN *et al.*, 2004).

### 2.6.3. Quantificação

Geralmente as amostras de alimentos são submetidas a métodos de detecção de *Salmonella*, mas protocolos de quantificação não são rotineiramente utilizados (BOROWSKY *et al.*, 2007).

Indicadores como a contagem de heterotróficos aeróbicos podem ser utilizados para determinar a carga microbiana geral de um alimento. Outra técnica para a quantificação dos microrganismos em amostras de alimentos é o Método do Número Mais Provável, que consiste de diluições seriadas das amostras em meios de cultura apropriados. Observa-se que os trabalhos que utilizam este método, apresentam variações nos protocolos de preparação das amostras (SINELL *et al.*, 1990; ESCARTIN *et al.*, 1995; DUFRENNE *et al.*, 2001). O trabalho realizado por Prendergast *et al.* (2009) demonstrou a quantificação de *Salmonella* em produtos suínos variando entre <0,30 a 2,10 NMP/g. Em trabalho conduzido no Sul do Brasil foram testados dois protocolos e encontradas contagens variando entre <3 e 240ufc /g<sup>-1</sup> nas amostras de carne suína moída analisadas (BOROWSKI *et al.*, 2007).

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

### 2.6.4. Avaliação genotípica

A identificação dos diferentes sorotipos isolados a partir das mais variadas origens, como granja, transporte e abatedouro, busca determinar a origem da infecção e/ou contaminação por *Salmonella*. No entanto, estudos têm demonstrado a predominância de certos sorotipos, como *S. Typhimurium* e *S. Derby* nos rebanhos suínos (SORENSEN *et al.*, 2004; VYT *et al.*, 2006; EFSA, 2008b; EFSA, 2009). Dessa forma, melhor avaliação epidemiológica dos subgrupos faz-se necessária, a fim de que se possa determinar os fatores de risco e as cadeias de transmissão.

A macro-restrição do DNA total, seguida de eletroforese em campo pulsado - “Pulsed-field Gel Eletrophoresis” (PFGE) possui elevado poder de diferenciação e por isso tem sido considerada uma técnica padrão de tipificação molecular (OLIVE *et al.*, 1999) para classificação e rastreamento da origem de isolados (WONDERLING *et al.*, 2003), através da detecção de relação clonal (BOUVET *et al.*, 2002). Por este motivo,

tem grande valor epidemiológico na diferenciação de linhagens patogênicas e no monitoramento de sua propagação na população.

O princípio do PFGE é a utilização de uma técnica especial de eletroforese para separar grandes fragmentos cromossômicos gerados pela clivagem do DNA cromossômico com enzimas de restrição de corte raro (SALYERS, 1994 APUD BESSA, 2006). A técnica utiliza equipamento específico onde a polaridade da corrente elétrica é alternada em intervalos pré-determinados, propiciando a migração de fragmentos de alto peso molecular (10 a 800Kb). Os padrões resultantes são altamente específicos para linhagens de uma variedade de organismos (OLIVE *et al.*, 1999).

## **2.7 Contaminação das carcaças durante o processo de abate**

A espera pré-abate e a alta contaminação do ambiente do matadouro são, provavelmente, as maiores fontes de contaminação por *Salmonella* antes do abate (HURD *et al.*, 2001; SWANENBURG *et al.*, 2001b). Botteldoorn *et al.* (2003) demonstraram que *Salmonella* estava presente nas amostras de ambiente de todos os matadouros pesquisados, variando entre 33 e 75%, e concluíram que a alta positividade de carcaças presente já no início do abate, em um dos frigoríficos estudados, foi provavelmente devido à contínua fonte de contaminação ambiental. Assim, carcaças positivas resultam de dois parâmetros: o *status-Salmonella* dos animais entregues e a higiene do ambiente (BOTTELDOORN *et al.*, 2003).

Em muitos casos, a diversidade de *Salmonella* no ambiente do abatedouro reflete a microbiota dos suínos que foram entregues naquele dia (SWANENBURG *et al.*, 2001c; BOTTELDOORN *et al.*, 2003). Outra parte da microbiota do ambiente reflete a microbiota dos suínos entregues ao longo do tempo, não sendo isolados dos animais abatidos naquele dia, representando a microbiota residente do frigorífico (SWANENBURG *et al.*, 2001c).

A contaminação cruzada a partir do ambiente pode ocorrer via pessoal ou equipamentos, formando complexos ciclos de *Salmonella* entre suínos infectados e o ambiente do abatedouro, o que acaba sendo determinante para a origem e prevalência da contaminação nas carcaças (BOTTELDOORN *et al.*, 2004). Botteldoorn *et al.* (2003) observaram que 25% das amostras das linhas de abate apresentaram-se positivas antes do início das atividades e 86% durante as atividades. Nesse sentido, o dia de amostragem também foi identificado como um risco significativo para o ambiente do abatedouro, onde os dados de trabalho sugerem progressiva redução na higiene do

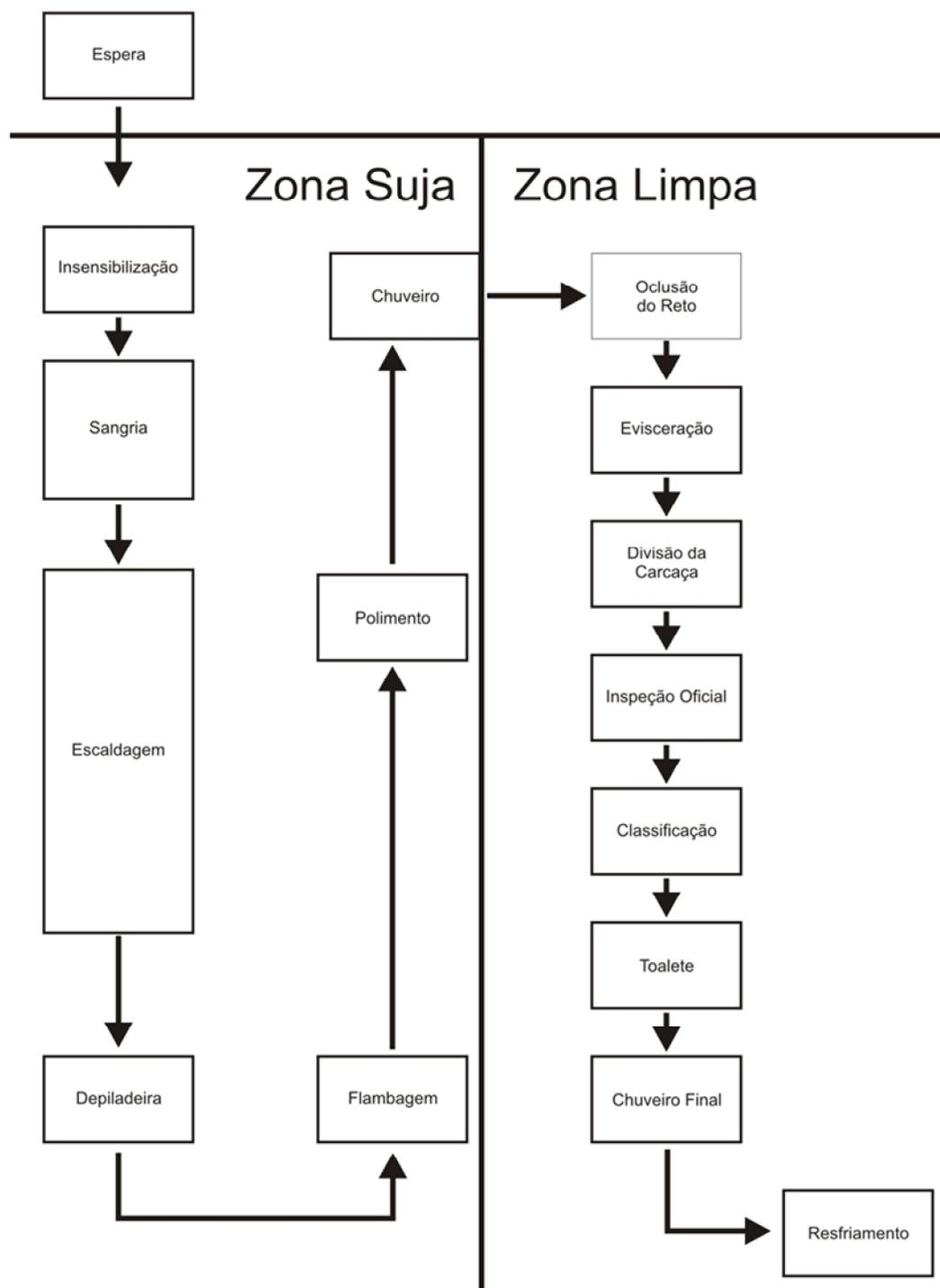
abatedouro no final da semana (McDOWELL *et al.*, 2007). Por outro lado, o isolamento de *Salmonella* do ambiente antes de iniciar as atividades é um indicativo de ineficiência da higienização (BOTTELDOORN *et al.*, 2003).

A presença de patógenos nas fezes de um suíno pode contaminar várias carcaças subsequentes (LETELLIER *et al.*, 2009), ocasionando a contaminação cruzada desde o ambiente do abatedouro até as carcaças (BOTTELDOORN *et al.*, 2004). Em seu estudo, Botteldoorn *et al.* (2003) estimaram que 29% da contaminação de carcaças foi cruzada. Em outro estudo, os resultados demonstram que o isolamento de *Salmonella* nas carcaças após o abate foi parcialmente causado por rebanhos infectados que foram abatidos antes e parcialmente por microbiota residual do abatedouro (SWANENBURG *et al.*, 2001d). Nesse sentido, estudos indicam que animais infectados são mais propensos a originar carcaças contaminadas (BERENDS *et al.*, 1997; EFSA, 2008b). Outro ponto a ser considerado é a limpeza dos animais ao entrarem para o abate. Pesquisa desenvolvida no Canadá identificou este fator de risco como significativamente associado à presença de *Salmonella* nas carcaças e sugeriu que a lavagem dos animais antes do abate pode reduzir os níveis de contaminação da pele (LETELLIER *et al.*, 2009). Estes resultados são compartilhados pelo estudo de Vieira-Pinto *et al.* (2006) cuja ocorrência de contaminação cruzada foi detectada, uma vez que um genótipo identificado em diferentes suínos abatidos no mesmo dia foi encontrado em carcaças positivas.

Embora para alguns estudos o risco de ocorrência de contaminação tenha sido o mesmo nas diferentes etapas avaliadas no processo de abate (**Figura 1**) (LIMA *et al.*, 2004), alguns estágios do abate são apontados com tendo pequeno ou nenhum impacto na contaminação por *Salmonella*, enquanto outros são reconhecidos como altamente relevantes (EFSA, 2010). Durante estes estágios, as carcaças podem ser contaminadas com fezes e bactérias podem espalhar-se por toda carcaça e para carcaças subsequentes (BORCH *et al.*, 1996).

Um grande número de suínos é usualmente escaldado no mesmo volume de água do tanque de escaldagem, que rapidamente torna-se contaminada com sujidades, fezes, ingesta e bactérias carreadas pelos suínos. (BOLTON *et al.*, 2003). Assim, se patógenos, incluindo *Salmonella*, sobreviverem na água da escalda, essa etapa pode aumentar significativamente o risco de contaminação de carcaças (HALD *et al.*, 1999). Nesse sentido, pesquisa realizada por Letellier *et al.* (2009) identificou a água da escalda como

sendo um dos fatores de risco significativamente associados com o *status Salmonella* das carcaças ao final do processo de abate.



**Figura 1.** Diagrama da linha de abate de suínos, da recepção dos animais ao resfriamento das carcaças.

No entanto, o risco de contaminação via água da escalda pode ser minimizado se a temperatura da água for suficientemente alta (BOLTON *et al.*, 2003). Trabalhos têm apontado que a redução de bactérias durante a escalda é dependente das condições de tempo-temperatura utilizadas (BORCH *et al.*, 1996; EFSA, 2010). No estudo de Pearce *et al.* (2004) foi demonstrado que não há recuperação de *Salmonella* das amostras de água do tanque de escalda, quando a temperatura durante o processamento for de no mínimo 61°C. Nessas condições foi observado o decréscimo da presença de *Salmonella* nas carcaças de 31% para 1%. Botteldoorn *et al.* (2003) também demonstraram que as amostras de água da escalda obtidas durante o abate nunca foram positivas. Nesses casos, a temperatura da água da escalda durante as atividades foi mantida entre 60 e 62°C.

Durante o processo de depilação, material fecal pode ser espalhado na superfície das carcaças (BORCH *et al.*, 1996) de forma que o equipamento de depilação pode ser uma significativa fonte de contaminação (DAVIES *et al.*, 1999; EFSA, 2010). Assim, em outro estudo, Berends *et al.* (1997) estimaram que de 5 a 15% de toda contaminação de carcaças ocorre durante a depilação, de forma que a inadequada limpeza da depiladora caracteriza um fator de risco muito importante. A implicação da depiladora também pôde ser observada em um estudo onde houve um aumento no número de carcaças contaminadas após a depilação, passando de 1% após a escalda para 7% após depilação, com aumento da contagem na ordem de  $2.0 \log_{10} \text{ UFC.cm}^2$  (PEARCE *et al.*, 2004).

Embora as carcaças possam sofrer recontaminação durante a depilação, a etapa seguinte do processo de abate, a flambagem, apresenta significativo efeito na redução do número de bactérias (BORCH *et al.*, 1996), sendo considerado o mais efetivo estágio para a inativação microbiana (EFSA, 2010). O processo de flambagem reduz significativamente o nível de contaminação superficial, embora a bactéria possa sobreviver em dobras profundas da pele (base e orifício dos ouvidos) e nos folículos dos pelos (BERENDS *et al.*, 1997). Alban *et al.* (2005) afirmaram que a flambagem é a única etapa no processo de abate, onde *Salmonella* pode ser removida.

Como resultado da flambagem, dados demonstraram uma redução na presença de *Salmonella* de 7% para 0%, com uma redução na contagem de  $2.5 \log_{10} \text{ UFC.cm}^2$  (PEARCE *et al.*, 2004). Estes achados confirmam que poucos microrganismos presentes na pele dos animais sobrevivem à flambagem (BERENDS *et al.*, 1997). Porém, o efeito da flambagem é dependente do tempo de exposição no equipamento e da temperatura a

qual a carcaça é submetida (EFSA, 2010), de tal forma que para ser um Ponto Crítico de Controle numa futura Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle - APPCC, será necessário padronizar este processo (PEARCE *et al.*, 2004).

Apesar da eficiência desta etapa, é relatada a recontaminação durante a etapa subsequente de polimento, o que pode ser atribuído ao equipamento, que é de difícil higienização (BORCH *et al.*, 1996). Assim, uma segunda etapa de flambagem após o polimento pode ser útil para evitar que contaminação entre na área limpa do abatedouro (DE BUSSER *et al.*, 2011).

Segundo Berends *et al.* (1997), a evisceração inadequada é um dos fatores de risco mais importantes, sendo inclusive apontada como um ponto crítico de controle (BOTTELDOORN *et al.*, 2004). Dessa forma, o potencial risco de contaminação ao abate pode ser aumentado por técnicas incorretas de evisceração (VIEIRA-PINTO *et al.*, 2006), tais como o extravasamento de material fecal e ou perfuração durante o manuseio (EFSA, 2010). Assim, o corte do intestino ou linfonodos pode resultar em contaminação das carcaças e das carcaças subsequentes (DE BUSSER *et al.*, 2008). Cerca de 55 a 90% da contaminação de carcaças ocorre durante a evisceração (BERENDS *et al.*, 1997), indicando a importância de boa higiene do processo de abate, uma vez que trabalhos têm indicado que carcaças derivadas de suínos com linfonodos negativos podem sofrer contaminação cruzada a partir de outras carcaças e do ambiente (EFSA, 2008b).

Águas residuais também são apontadas como possível veículo de *Salmonella*, uma vez que a cabeça e partes da carcaça podem entrar em contato com a umidade ou água que escorre a partir de áreas contaminadas durante o processamento (BERENDS *et al.*, 1997). Ao lado disto, aerossóis gerados no enxágue das carcaças na evisceração podem também funcionar como veículo de transmissão de bactérias para as carcaças (BOTTELDOORN *et al.*, 2004). Nesse sentido, estudo identificou a lavagem final como responsável pelo aumento na contagem bacteriana para entre 3.6 e 3.8 log UFC.cm<sup>2</sup> (BOLTON *et al.*, 2002).

Pode-se observar que da fase da evisceração até o resfriamento pode ocorrer a inversão do *status* das carcaças, dependendo do perfil de risco do abatedouro. Uma carcaça originada de um suíno infectado pode ser livre de *Salmonella* se a evisceração for conduzida cuidadosamente, sem contaminar a carcaça. Por outro lado, os suínos livres de *Salmonella* podem resultar em carcaças positivas pela contaminação cruzada a partir de outras carcaças ou equipamentos (VAN DER GAAG *et al.*, 2004). Isto pode

ser explicado pelo fato de que na área limpa do abatedouro nenhuma etapa está disponível para a redução da contaminação das carcaças (DE BUSSER *et al.*, 2011). Assim, melhorar a desinfecção de equipamentos poderá reduzir a probabilidade de contaminação durante a evisceração (ALBAN *et al.*, 2005), de forma que se o processo de abate é bem conduzido, suínos com a presença de *Salmonella* no trato gastrointestinal teoricamente não irão resultar em carcaças positivas (SWANENBURG *et al.*, 2001c). Nesse sentido, foi observada variação entre abatedouros, sugerindo que melhores práticas de higiene podem reduzir a prevalência de *Salmonella* em carcaças (ALGINO *et al.*, 2009; BAPTISTA *et al.*, 2010). Isto é de grande importância uma vez que carcaças contaminadas não serão reconhecidas durante a inspeção veterinária após o abate (SWANENBURG *et al.*, 2001c) e conseqüentemente todos os estágios posteriores poderão amplificar a contaminação dos produtos (DELHALLE *et al.*, 2009).

O abate sanitário pode reduzir a prevalência, mas não previne totalmente a contaminação das carcaças por *Salmonella* (GOLDBACH *et al.*, 2006). Isto ocorre porque a recontaminação de carcaças suínas durante o abate, embora indesejável, é inevitável e ocorre em toda a linha de abate, persistindo nos processos subsequentes (HUFFMAN *et al.*, 2002). Assim, para melhorar a segurança dos alimentos, diferentes procedimentos de intervenção podem ser adotados nos abatedouros. Dentre eles, a otimização da higiene do abate e a descontaminação de carcaças, física e química, podem ser empregados (MORILD *et al.*, 2010), sobretudo nos casos onde a prevalência de patógenos em carcaças deve ser reduzida a níveis não obtidos por melhora na higiene do abate e intervenção em nível de granja (LAWSON *et al.*, 2009)

Lavagem com água quente é rotineiramente utilizada nos abatedouros e tem mostrado ser efetiva na remoção de contaminantes físicos/visíveis (SOFOS *et al.*, 1998). A técnica implica na exposição das carcaças a elevadas temperaturas, acima de 80°C por 15s em uma cabine para reduzir a concentração de bactérias nas carcaças. O método é utilizado na Dinamarca em abate de suínos originários de granjas com elevado nível de *Salmonella* (LAWSON *et al.*, 2009). Resultados de estudos demonstraram uma significativa redução na contagem microbiana em carcaças suínas após tratamento por vapor (PIPEK *et al.*, 2006). Uma desvantagem da metodologia é o gasto excessivo de água e energia, bem como a necessidade de investimento na cabine de descontaminação (LAWSON *et al.*, 2009). Outras tecnologias de tratamento físico são a do Vácuo-vapor e o Vapor-ultrassom. A primeira está aprovada na Dinamarca para a remoção de contaminação fecal visível. O vácuo remove o material fecal e o vapor inativa a

contaminação bacteriana no ponto de aplicação, podendo ser aplicada antes da evisceração ou após a divisão da carcaça. A segunda consiste em um jato de vapor a 130°C através de um apito que gera um som de alta frequência (30 –40KHz). O mecanismo de ação consiste em que o vapor mata os microrganismos enquanto o ultrassom aumenta o acesso à bactéria, removendo o efeito protetivo do ar na superfície (LAWSON *et al.*, 2009). A eficiência destes tratamentos depende da temperatura e tempo de duração (MORILD *et al.*, 2010). Apesar das diferentes tecnologias disponíveis, os resultados de pesquisa desenvolvida por Gill *et al.* (2003) sugerem que a máxima redução de bactérias nas carcaças pode ser obtida por lavagem e pasteurização, sem outros tratamentos que são rotineiramente aplicados em carcaças.

A descontaminação química envolve a aplicação de uma substância química em uma etapa durante o processo de abate. As substâncias que têm sido extensivamente estudadas são os ácidos orgânicos (lático, acético, cítrico, fumárico) (HUGAS *et al.*, 2008), que são frequentemente usados como uma intervenção econômica e eficiente para reduzir o número e prevalência de bactérias patogênicas em alimentos (RAJKOVIC *et al.*, 2010). Outras substâncias usadas para descontaminação de carne incluem Cloro, fosfato trissódio, cloreto de sódio acidificado e peroxiácidos (HUGAS *et al.*, 2008). O ácido lático é encontrado na forma de uma solução a 2% aplicada na superfície das carcaças antes do resfriamento (LAWSON *et al.*, 2009) e pesquisas têm demonstrado o efeito na redução da contagem e prevalência de patógenos alimentares e da carga microbiana da carcaça (HUFFMAN *et al.*, 2002). Carpenter *et al.* (2010) demonstraram que apenas ácido lático resultou em algum acréscimo no nível de descontaminação em relação à lavagem somente com água e que o ácido acético apresentou atividade residual para prevenir o crescimento de patógenos. Em condições laboratoriais, os resultados da utilização de solução de ácido lático a 2% a 55°C por 5 segundos sugere uma redução de aproximadamente 1.5log UFC.cm<sup>2</sup> (CHRISTIANSEN, 2008 APUD LAWSON *et al.*, 2009). Contudo, as mudanças na microbiota natural da carne causadas pela descontaminação trazem riscos como o aumento da tolerância dos patógenos ao ácido (RAJKOVIC *et al.*, 2010) e o aumento do crescimento devido a redução da competição com a microbiota (HUGAS *et al.*, 2008).

Outras tecnologias de descontaminação têm sido estudadas. Dentre elas, encontramos o uso de algumas bactérias que podem produzir bacteriocinas, que são compostos proteínicos antimicrobianos que têm efeito letal ou bacteriostático em outros microrganismos. A bacteriocina mais estudada é a nisina, que é produzida pelo

*Lactobacillus lactis* subsp. *lactis* e é efetiva contra bactérias Gram-positivas. (HUGAS *et al.*, 2008). O congelamento e estocagem a baixas temperaturas também são apresentados como alternativas por reduzirem a prevalência e número de contaminantes em produtos cárneos (HUGAS *et al.*, 2008). Corroborando com essa opinião, Algino *et al.* (2009) identificaram o efeito positivo do aumento do tempo de resfriamento das carcaças antes do processamento (de um dia para dois) sobre a prevalência de *Salmonella*. O uso de bacteriófagos também tem sido demonstrado experimentalmente para redução de *C. jejuni* e *Salmonella* Enteritidis na pele de frangos (ATTERBURY *et al.*, 2003; GOODE *et al.*, 2003). Estudos têm observado o efeito positivo de tratamentos com radiação no controle microbiano e de formação de amins biogênicas (MIN *et al.*, 2007). Por fim, a contagem viável total das amostras tratadas foi reduzida em 0.96log e 1.3log com o uso de spray com sal e combinação de sais, respectivamente, demonstrando ser adequada para a extensão do tempo de prateleira e melhoria da qualidade sensorial e microbiológica da carne (LATHA *et al.*, 2009).

A combinação de técnicas pode ter efeito sinérgico na inibição do crescimento ou redução da prevalência e contagem de contaminantes das carcaças (HUGAS *et al.*, 2008). Nessa linha de pensamento, resultados demonstraram que múltiplas intervenções sequenciais são mais eficientes na redução de bactérias na superfície das carcaças do que uma única intervenção isolada (KOOHMARAIE *et al.*, 2005). Corroborando com esta afirmação, trabalhos demonstraram que o uso de vapor e spray de ácido lático foi efetivo em reduzir a contagem microbiana na superfície de carcaças suínas e inibir o crescimento microbiano durante a estocagem (PIPEK *et al.*, 2006).

No entanto, há de se considerar que embora a descontaminação de carnes ou carcaças possa ter um efeito na redução do número de patógenos, a recontaminação com outros patógenos durante o corte ou embalagem pode resultar em maior crescimento nos produtos descontaminados que nos não tratados, devido à perda de competição dos microrganismos não patogênicos (NISSEN *et al.*, 2001). Nesse sentido, pesquisas mais recentes têm demonstrado a descoberta de mudanças nas propriedades das bactérias em aderir à pele após descontaminação, podendo potencialmente impactar em contaminação cruzada na linha de processamento da carne (MORILD *et al.*, 2010).

Em relação ao emprego de descontaminantes, verifica-se que estas estratégias são bem estabelecidas para bovinos e frangos, mas não muito utilizadas para suínos (HUGAS *et al.*, 2008), com um limitado número de estudos descrevendo o efeito de

descontaminação nessa espécie (MORILD *et al.*, 2010) e não é prática comum na União Europeia (LAWSON *et al.*, 2009).

Além disso, há as limitações legais da aplicação destes tratamentos. Embora a maioria das substâncias químicas tenham sido sugeridas e autorizadas como intervenções nos Estados Unidos, elas não são permitidas na União Europeia (HUGAS *et al.*, 2008). Apesar de no ano de 2004 a União Europeia ter fornecido base legal para permitir o uso de substâncias que não água potável para descontaminar produtos de origem animal, métodos químicos necessitam ser aprovados pela *European Food Safety Authority* – EFSA (EU, 2004). Exemplo disso é que a utilização de ácido lático ainda não foi autorizada em plantas processadoras de carne na União Europeia, pois não foi positivamente avaliada pelo Comitê da EFSA devido à documentação insuficiente (EFSA 2006a). Embora a legislação brasileira, no momento, permita a utilização de tratamentos químicos para a descontaminação de carcaças de animais, a Circular 640/2004 (BRASIL, 2004) proíbe essa prática nos estabelecimentos exportadores, independente do mercado de destino dos produtos, visando atender à legislação dos países de destino dos produtos em que a utilização é proibida.

Deve-se considerar, ainda, que um dos fatores que determinarão o sucesso de certas novas tecnologias é a aceitação dos produtos pelos consumidores e comércio internacional (RAJKOVIC *et al.*, 2010) e a viabilidade socioeconômica do emprego das técnicas (GOLDBACH *et al.*, 2006).

É importante ainda se ter o entendimento de que, apesar da descontaminação poder ser uma efetiva medida para reduzir a carga microbiana de carcaças, ela não pode ser utilizada como medida primária. Pode unicamente ser considerada uma medida adicional, para maior redução no número e prevalência de microrganismos patogênicos, seguindo a aplicação de Boas Práticas de Fabricação e não as substituindo (HUGAS *et al.*, 2008).

A etapa seguinte da cadeia produtiva, o processo de cortes, pode ser considerada uma etapa de alto risco de contaminação. A contaminação cruzada entre carcaças e entre cortes pode ocorrer diretamente ou pela esteira, facas ou mesas (BOUVET *et al.*, 2002). Estudos têm demonstrado que a prevalência de *Salmonella* nas plantas de cortes e processamento variou entre 0% a 50% e demonstraram que a prevalência em carne picada variou entre 0,3% e 4,3% (DELHALLE *et al.*, 2009). Em outra pesquisa foi demonstrado que 63 dos 69 cortes positivos foram originados de carcaças negativas (BOUVET, 2002) e, adicionalmente, estudo realizado por Prendergast *et al.* (2008)

observou a associação direta entre a contaminação de *Salmonella* nos cortes suínos e superfícies de equipamentos, demonstrando claramente o potencial de contaminação cruzada de equipamentos e superfícies de contato no ambiente da sala de desmancha. Em trabalho complementar, a contagem de *Enterobacteriaceae* encontrada em cortes coletados no comércio (açougues e supermercados) foi maior que aquela identificada previamente nos cortes nos abatedouros (PRENDERGAST, D.M. *et al.*, 2009), demonstrando o efeito da manipulação sobre a carga microbiana dos produtos. As altas contagens de microrganismos são um indicador de má higiene durante o processamento (PRENDERGAST *et al.*, 2009) ou quebra da cadeia de frio durante a distribuição da carne (CROWLEY *et al.*, 2005). Assim, nas etapas de corte e processamento de carne suína os parâmetros mais importantes no que diz respeito à contaminação são a higiene na manipulação e a relação tempo-temperatura de cada estágio, de forma que abusos podem criar situações que permitem a sobrevivência e propagação de *Salmonella* presente nos alimentos (LO FO WONG *et al.*, 2002).

Outra questão importante é o cuidado ao interpretar os resultados obtidos, uma vez que a prevalência de *Salmonella* em suínos difere em função do tipo de amostra que foi coletada. No estudo da contaminação na linha de abate, os resultados das amostras de superfície de carcaças e fígado indicam a higiene durante o processo de abate; os resultados de tonsilas, linfonodos e conteúdo retal combinados com resultados sorológicos fornecem informações sobre o *status* de infecção do suíno antes do processo de abate (na granja, durante transporte ou na espera) (SWANENBURG *et al.*, 2001c).

Desta forma, observa-se grande variação na prevalência média de *Salmonella* relatada nos estudos. Botteldoorn *et al.* (2003) observaram uma prevalência média de *Salmonella* de 37% em carcaças antes do resfriamento. Em outros trabalhos, no entanto, a frequência média de isolamento nas carcaças foi bem inferior, sendo de 9,6% em pesquisa desenvolvida por Sorensen *et al.* (2004) e 8,9% em estudo de Ghafir *et al.* (2008).

Em avaliação realizada pela *European Food Safety Authority* em 13 dos Estados-Membros da União Europeia, entre outubro de 2006 e setembro de 2007, a prevalência observada de *Salmonella* em carcaças foi de 8,3%, com uma em cada doze carcaças positivas ao isolamento. Neste grupo de Estados-Membros a prevalência de *Salmonella* em carcaças variou de 0,0% a 20,0% (EFSA, 2008a).

Em estudo realizado por Castagna *et al.* (2004b) em matadouro no sul do Brasil foi demonstrado 83,33% de portadores de *Salmonella* em linfonodos submandibulares/

tonsilas. Esses linfonodos, por sua vez, permanecem na carcaça após o abate por estarem aderidos à musculatura da cabeça e por serem de difícil remoção, sendo aproveitados para a elaboração de embutidos. Segundo os autores, 93,94% dos produtos elaborados (massa de embutidos) produzidos a partir dessa matéria-prima estavam contaminados. A avaliação da presença de *Salmonella* em carcaças ainda é pouco estudada no Brasil (LIMA *et al.*, 2004; TEIXEIRA, 2006; SEIXAS *et al.*, 2009), com resultados variando entre 2,19% a 29,2% dos suabes de carcaça positivos ao isolamento.

A avaliação dos diferentes sorotipos identificados nas amostras isoladas pode auxiliar na identificação das possíveis fontes de infecção ou contaminação. No ambiente dos matadouros estudados no oeste da Bélgica, região grande produtora de suínos daquele país, os sorotipos mais prevalentes foram *S. Typhimurium* (38,6%), *S. Livingstone* (21%) e *S. Derby* (21%). No mesmo estudo, *S. Typhimurium* foi isolada de 71% das carcaças contaminadas nos abatedouros visitados. Nesse estudo, diferenças nos sorotipos entre dias de amostragem e entre abatedouros foram observadas, o que demonstra que os resultados obtidos dependem do abatedouro (higiene e qualificação de pessoal), do momento da amostragem e da origem e número de suínos infectados que foram entregues para o abate (BOTTELDOORN *et al.*, 2003). Em pesquisa realizada na União Europeia, todos os 24 Estados-Membros participantes apresentaram resultados positivo para *Salmonella* em suínos e isolaram *S. Typhimurium*; em 20 Estados-Membros detectou-se *S. Derby*. Estes dados demonstram uma prevalência observada de 4,7% para *S. Typhimurium*, variando de 0,0% a 16,1%, e de 2,1% para *S. Derby*, variando entre 0,0% e 6,5% (EFSA, 2008a).

Em outro estudo, os sorotipos mais comuns em carcaças (*Derby*, *Johannesburg*, *Anatum* e *Typhimurium*) também foram os mais encontrados nos produtos elaborados (SCHLOSSER *et al.*, 2000). Em outro estudo, Botteldoorn *et al.* (2004) identificaram o mesmo sorotipo em carcaças, fezes e linfonodos mesentéricos dos animais, sugerindo que durante a evisceração tenha ocorrido a contaminação. Estes resultados diferem daqueles encontrados em estudo de Wonderling *et al.* (2003) que verificaram que as carcaças estavam contaminadas com sorotipos diferentes daqueles encontrados nas fezes dos animais. Buscando melhor determinar a origem da contaminação/infecção, diversos trabalhos têm demonstrado o perfil de PFGE em amostras positivas de diferentes fontes (OLIVEIRA *et al.*, 2006, MICHAEL *et al.*, 2006). Botteldoorn *et al.* (2004), utilizando-se de técnicas fenotípicas e moleculares, verificaram que suínos infectados e o ambiente de abate eram os determinantes na contaminação das carcaças.

Em trabalho desenvolvido por Prendergast *et al.* (2009) idêntico perfil PFGE foi recuperado em diferentes amostras, indicando a ocorrência de contaminação cruzada. Já o estudo de Vieira-Pinto *et al.* (2010) revelou que 70% dos isolados de tonsilas estavam associados às amostras de linfonodos mandibulares.

## 2.8 Programas de Controle

O Programa Dinamarquês de controle de *Salmonella* teve início em 1995, com a categorização dos rebanhos em três níveis de soropositividade (níveis 1, 2 e 3) utilizando análise sorológica (ELISA) de suco de carne. De posse da classificação dos rebanhos, ações foram desenvolvidas a campo para os rebanhos de maior soropositividade (2 e 3) incluindo a supervisão veterinária aos criadores, adoção de medidas de higiene e, para os rebanhos de nível 3, especiais precauções de higiene ao abate (MOUSING *et al.*, 1997).

Os estágios iniciais do programa foram focados significativamente nas medidas de controle pré-abate, nas granjas, mas adicionalmente medidas pós-abate têm sido introduzidas, incluindo etapas no processo de abate similares ao APPCC desenvolvido pelos Estados Unidos, incluindo ações como uso de bolsas plásticas para proteger o reto antes da evisceração, abate em separado de rebanhos com alta soroprevalência e uso de enxague com água quente antes do resfriamento (HURD *et al.*, 2008).

A análise retrospectiva dos dados do programa demonstra que, exceto pelos primeiros anos (1994-1998), as ações adotadas nas granjas tiveram mínimo impacto na redução do número de carcaças positivas e casos humanos de salmonelose atribuídos a suínos, sendo a maior redução identificada nesses casos até 2003 devido à melhoria nos processos de abate. A análise prospectiva dos dados demonstra que melhores resultados não podem ser alcançados unicamente com intervenções nas granjas e mostrou que a descontaminação de carcaças é um efetivo meio para reduzir os riscos humanos (HURD *et al.*, 2008).

Na União Europeia o controle de *Salmonella* teve início com o Regulamento (EC) No 2160/2003, que instituiu o controle de *Salmonella* e outros agentes zoonóticos. A partir de então, visando reduzir a incidência de doenças transmitidas por alimentos, cada um dos Estados Membros ficou responsável por instituir um programa de controle, buscando atingir as metas impostas pela Comunidade (EU, 2003). Assim, ao final do ano de 2005 foi publicada a (EC) No 2073/2005, que trouxe os novos critérios microbiológicos, instituindo o plano de amostragem para carcaças suínas onde, de um

total de 50 amostras testadas, é tolerado um máximo de cinco positivas para *Salmonella* (EU, 2005). Desde o início do programa, vários outros estudos têm sido conduzidos pela *European Food Safety Authority* - EFSA para estimar a prevalência de *Salmonella* em suínos (EFSA, 2008a) e determinar os fatores associados com a contaminação ao abate (EFSA 2008b). Adicionalmente, outros estudos têm avaliado a importância dos rebanhos de reprodução sobre a infecção por *Salmonella* em suínos (EFSA, 2009) e o uso de descontaminantes (EFSA, 2006a), entre outros.

Nos Estados Unidos, em 1999, o *Food Safety and Inspection Service* - FSIS do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos instituiu o Modelo genérico de APPCC para abate de suínos em sequência ao modelo já criado em 1996 para abate de aves (FSIS, 1999).

No Brasil, os controles específicos de *Salmonella* existentes estão relacionados unicamente à criação e abate de aves, sendo respectivamente o Plano Nacional de Sanidade Avícola (BRASIL, 2007a), instituído pela Instrução Normativa N°56/2007 e o Programa de Redução de Patógenos (BRASIL, 2003), normatizado pela Instrução Normativa N°70/2003. Para suínos, a única referência direta ao controle de *Salmonella* é a Circular 130/2007 (BRASIL, 2007), que consiste em uma orientação aos estabelecimentos quanto aos requisitos necessários para habilitação para o comércio com a União Europeia e que muito pouco é seguida, principalmente considerando as restrições de mercado para aquele bloco. Em relação aos produtos destinados aos demais mercados internacionais e mercado interno, atualmente a legislação em vigor é o Ofício Circular N° 12/2010 (BRASIL, 2010) que fez a padronização das frequências e planilhas para monitoramento oficial dos elementos de inspeção, controles estes anteriormente instituídos pelas Circulares 175 e 176/2005 (BRASIL, 2005). Os elementos de inspeção englobam os requisitos básicos para a garantia da inocuidade dos produtos, incluindo o Programa de Procedimentos Padrão de Higiene Operacional – PPHO, o Programa de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle – APPCC e, num contexto mais amplo, as Boas Práticas de Fabricação – BPFs. O Sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle – APPCC foi instituído pela Portaria 46 de 1998 (BRASIL, 1998), que determinou a sua implantação gradativa nas indústrias de produtos de origem animal sob o regime do Serviço de Inspeção Federal – SIF. Adicionalmente, os padrões microbiológicos dos alimentos são regulamentados pela RDC 12, da Agência de Vigilância Sanitária – ANVISA, que estabelece que os mesmos devem ser isentos de *Salmonella* (BRASIL, 2001).

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. Caracterização do Estudo

Foi conduzido um estudo longitudinal, onde a unidade observacional foi a carcaça suína amostrada por suabe de superfície em quatro pontos da linha de abate de três matadouros-frigoríficos (**Tabela 1**) sob Inspeção Federal, localizados no sul do Brasil. Os matadouros-frigoríficos foram escolhidos de forma intencional, tendo como critérios: estar habilitado para o mercado interno e exportação; estar localizado nos estados do Rio Grande do Sul ou Santa Catarina; e concordar em participar do estudo. Cada estabelecimento foi amostrado ao menos duas vezes e, em cada visita as coletas foram conduzidas em um período de quatro horas a partir do início do primeiro turno de abate. A primeira carcaça foi escolhida ao acaso e as demais foram amostradas em intervalo de 20 minutos. Um fragmento de intestino foi colhido de todas as carcaças amostradas. Os lotes de suínos abatidos no turno de amostragem foram avaliados quanto à prevalência de animais soropositivos para *Salmonella*. Amostras de água do tanque de escalda foram colhidas no turno de amostragem, sendo a primeira na hora zero (antes do início do abate) e as demais em intervalos de uma hora. No Frigorífico C, onde a escaldagem era feita por aspersão, não foram colhidas amostras de água. Foram colhidos suabes de ambiente no piso da baía de espera, e no piso e parede da sala de evisceração e entrada da câmara fria em todas as visitas.

**Tabela 1:** Caracterização da linha de abate dos três matadouros-frigoríficos incluídos no estudo, no que se refere à velocidade da linha e procedimentos nas etapas de escalda, flambagem e oclusão do reto.

<b>Frigorífico</b>	<b>Abate Hora*</b>	<b>Tipo de Escaldagem</b>	<b>Tipo de Flambagem</b>	<b>Tipo de Oclusão do Reto</b>
<b>A</b>	290	Imersão	Automatizado	Lacre plástico
<b>B</b>	270	Imersão	Manual	Barbante
<b>C</b>	400	Aspersão	Automatizado	Saco plástico

\* velocidade da nórea no momento do abate

#### 3.2. Colheita de amostras

Foram realizadas três amostragens nos Frigoríficos A (outubro e novembro de 2007 e maio de 2009) e B (março, abril e julho de 2008) e duas no Frigorífico C (julho e agosto de 2008).

### 3.2.1. Sangue

A coleta das amostras de sangue foi realizada no momento da sangria dos animais. Sangue de 25 animais de cada lote abatido no turno de amostragem foi colhido em tubos de ensaio. A amostra de sangue foi deixada em repouso para coagulação e, após, armazenada em caixa isotérmica à temperatura ambiente. O número de amostras de sangue colhido por lote era suficiente (IC 95%) para estimar a soroprevalência do lote, considerando uma prevalência esperada de 65% (Kich *et al.*, 2005), e um erro aceitável de  $\pm 15\%$  (TOMA *et al.*, 1999). No total, cinco, seis e cinco lotes foram amostrados nos Frigoríficos A, B e C, respectivamente.

### 3.2.2. Carcaças

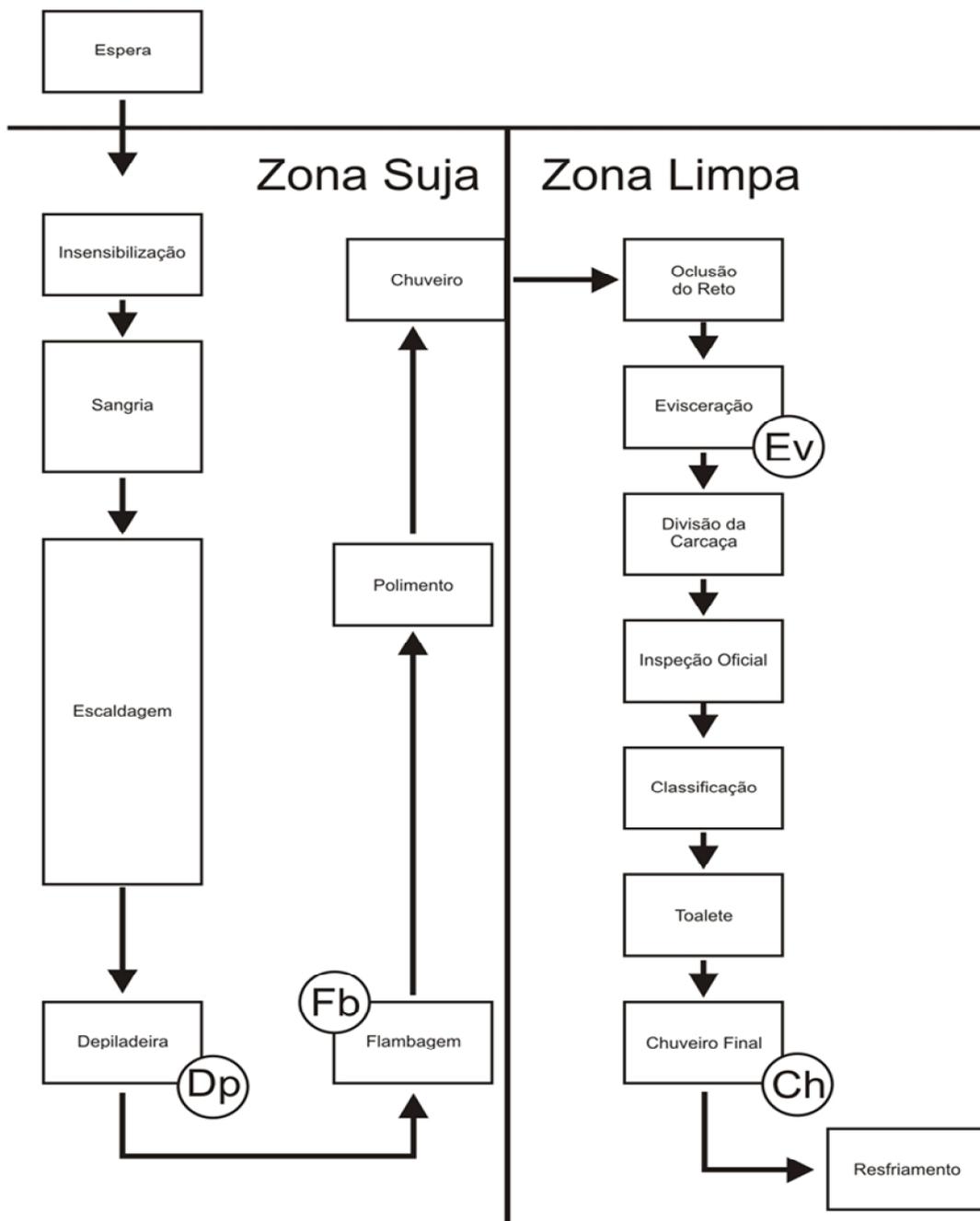
As carcaças foram amostradas em quatro pontos distintos ao longo da linha de abate: após depilação, após flambagem, após evisceração e após o chuveiro final (**Figura 2**). Quando da amostragem no primeiro ponto, cada carcaça foi marcada para permitir sua identificação nos pontos subsequentes de amostragem da linha.

Uma amostra de superfície das carcaças em cada ponto foi colhida por meio de esponjas confeccionadas em fibra de celulose, medindo 7 x 5cm, previamente esterilizadas e dispostas em saco plástico estéril contendo 55mL de água peptonada tamponada 1% (APT, Merck, Darmstadt, Alemanha), volume este suficiente para as análises previstas. No momento da coleta, a esponja era levemente comprimida para eliminação do excesso de líquido, retirada da embalagem, e friccionada numa área de 300cm<sup>2</sup>, delimitada por um molde de papel estéril. Um novo molde era utilizado a cada amostra colhida. O operador usava luvas descartáveis, trocada antes de cada colheita de amostra. O local de eleição para a amostragem das carcaças foi a paleta, baseado na disposição das carcaças na nória, a qual favorece a deposição de contaminantes nessa área (BERENDS *et al.*, 1997) e a necessidade de realizar a coleta com a nória em movimento. Após a colheita da amostra a esponja era recolocada no saco plástico contendo APT e mantida em caixas isotérmicas com gelo reciclável. No total, 37, 38 e 34 carcaças foram amostradas nos Frigoríficos A, B e C, respectivamente.

### 3.2.3. Fragmento de intestino

Foi colhido fragmento de intestino correspondente a todas as carcaças amostradas. Após o exame das vísceras pela Inspeção Federal, estas foram colocadas em bandejas plásticas e desviadas para uma área anexa da linha de abate onde foi

coletada uma porção de intestino (cólón ascendente). A região do intestino foi ligada com barbante em suas extremidades, excisada e a amostra acondicionada, individualmente, em saco plástico para transporte, sob refrigeração, ao laboratório.



**Figura 2:** Identificação dos pontos de amostragem ao longo da linha de abate de suínos: Dp= após depilação, Fb= após flambagem, Ev= após evisceração e Ch= após chuveiro final.

#### 3.2.4. Água do tanque de escalda

Amostras de água foram colhidas em frascos estéreis de tampa rosca com capacidade de 500mL. Antes de cada coleta, era feita a leitura da temperatura da água da escalda no termo-registrador contínuo. A seguir, o frasco era aberto, imerso no tanque de escalda, imediatamente fechado, identificado e acondicionado em caixa isotérmica com gelo reciclável. Em cada visita nos Frigoríficos A e B foram colhidas cinco amostras de água em intervalos de uma hora, sendo a primeira na hora zero, antes do início do abate.

#### 3.2.5. Baias de espera

A colheita de amostra do piso das baias de espera foi realizada antes do início do abate. Foram utilizados propés descartáveis estéreis, calçados pelo operador que caminhava na baia em várias direções. Após, o propé era descalçado e disposto em saco plástico estéril contendo 55mL de APT.

#### 3.2.6. Ambiente

As amostras de ambiente dos frigoríficos foram colhidas ao final do turno de amostragem. Foram utilizadas as mesmas esponjas adotadas para a colheita de amostras de carcaça. Após a retirada de excesso de líquido a esponja era friccionada numa área, de 300cm<sup>2</sup>, delimitada por molde estéril. Foi colhida uma amostra individual em cada local: piso e parede na área de evisceração e na entrada da câmara fria. Após a colheita da amostra, a esponja era recolocada no saco plástico contendo 55mL de APT e mantida em caixa isotérmica com gelo reciclável.

### **3.3. Processamento das amostras**

As amostras dos Frigoríficos A e B foram transportadas até o Laboratório de Medicina Veterinária Preventiva da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, onde foram analisadas. As amostras do Frigorífico C foram processadas na Embrapa Suínos e Aves.

#### 3.3.1. Sangue

As amostras de sangue foram centrifugadas por 10 minutos a 600G. O soro separado foi transferido para microtubos, em alíquotas de 1mL e congelado em

duplicata. Posteriormente, todas as amostras foram enviadas para a Embrapa Suínos e Aves, onde foram testadas para a presença de anticorpos anti-*Salmonella*.

### 3.3.2. Carcaça

As esponjas acondicionadas nos sacos plásticos contendo 55mL de APT foram homogeneizadas de forma que as bactérias colhidas na superfície da carcaça ficassem suspensas no líquido. Essa suspensão passou a constituir a amostra de carcaça e assim será denominada a partir de agora. Alíquotas de cada amostra foram empregadas para a pesquisa qualitativa (presença/ausência) e para quantificação de *Salmonella*.

### 3.3.3. Conteúdo intestinal

Uma área da superfície externa do fragmento de intestino foi esterilizada por meio de uma espátula aquecida. Nessa área foi realizada a incisão da parede intestinal, com uma tesoura estéril, e retirado o conteúdo por meio de espátula estéril. Foram retirados 25g de conteúdo intestinal de cada amostra, que foram submetidos à pesquisa qualitativa de *Salmonella*.

### 3.3.4. Água do tanque de escalda

Os frascos contendo as amostras de água foram agitados e foi retirada uma alíquota de 25mL para pesquisa qualitativa de *Salmonella*.

### 3.3.5. Amostras de ambiente

As amostras colhidas na baia de espera (propé) e no piso e parede da área de evisceração e entrada da câmara fria (esponjas) foram homogeneizadas com o diluente (APT) contido no interior do saco de coleta e 10mL de suspensão foram colhidos para pesquisa qualitativa de *Salmonella*.

## 3.4. Pesquisa de anticorpos anti-*Salmonella*.

As amostras de soro de cada lote foram testadas para presença de anticorpos da classe IgG, por meio de um teste de ELISA indireto. Esse teste foi desenvolvido por KICH *et al.*(2007), a partir dos antígenos somáticos 1, 4, 5 e 12 de *Salmonella* Typhimurium, comuns aos sorovares prevalentes na Região Sul do Brasil (BESSA *et al.*, 2004). Placas de ELISA de 96 poços (Dynex, Immulon, Unitech Universal Technology, Medley, USA) cobertos com 100µL de antígeno produzido como descrito

por Kich *et al.* (2007) diluído (1:2000) em 0,5M de tampão carbonato (pH 9,6) e mantido à -70°C. Antes do uso, as placas foram lavadas três vezes com PBS pH 7,4 acrescido de 0,05% Tween 20 (PBS-T). O soro diluído (1:400) em PBS-T adicionado de 1% de albumina sérica bovina (PBS-TA) foi pipetado nas placas em triplicata. Após incubação por 30 minutos à 37°C as placas eram lavadas. Em cada poço foram adicionados 100µL de imunoglobulina anti-IgG de suíno conjugada com peroxidase diluída 1:25.000 em PBS-TA. As placas foram incubadas á 37°C por uma hora. Após lavagens sucessivas, a reação foi revelada pelo substrato (3,5 µL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> , 230µL NaOH, 10mL de 3,3',5,5' tetrametil-benzidina). Após 15 minutos à temperatura ambiente, a reação foi interrompida por 50µL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2M. Os testes foram avaliados em leitor de placas (Titertek- Multiscan, Flow Laboratories, USA) no comprimento de onda 450nm. O ponto de corte utilizado para o teste foi a Densidade Ótica de 0,169. Os resultados foram expressos em frequência de animais positivos nos lotes testados.

### **3.5. Pesquisa qualitativa de *Salmonella***

A metodologia de análise da presença/ausência de *Salmonella* adotada para este trabalho foi previamente testada por Michael *et al.* (2003). A técnica compreende uma etapa de pré-enriquecimento, seguida de enriquecimento seletivo em caldo, isolamento em meio sólido seletivo e confirmação de colônias suspeitas por provas bioquímicas e aglutinação com soro polivalente somático.

Na etapa de pré-enriquecimento, amostras de conteúdo intestinal (25g) ou de água (25mL) foram adicionadas a 225mL de APT em sacos plásticos estéreis (Bag Stomacher), os quais foram homogeneizados em *Stomacher* durante 60 segundos e posteriormente incubados a uma temperatura de 37°C por 18 horas. Para análise das amostras de carcaças e amostras de ambiente uma alíquota de 10mL foi adicionada a 90mL de APT e incubada á 37°C por 18 horas.

Após a etapa de pré-enriquecimento, alíquotas de 1mL e 0,1mL de cada amostra incubada em APT foram inoculadas, respectivamente, em 9mL de caldo Tetrionato Müller-Kauffmann (TT, Merck, Darmstadt, Alemanha) e em 9,9mL de caldo Rappaport-Vassiliadis (RV, Merck) e incubadas em banho-maria a 42°C por 24 horas.

Após, com o auxílio de alça de platina, foram retiradas alíquotas de cada tubo de enriquecimento seletivo (10µL) e semeadas em meios seletivos indicadores: ágar Xilose Lisina Tergitol-4 (XLT-4, Oxoid, Basingstoke, UK) para as amostras de conteúdo

intestinal e baias de espera e ágar Xilose Lisina Desoxicolato (XLD, Oxoid, Basingstoke, UK) para as amostras de carcaça, água e ambiente. Ambos os meios foram incubados por 24-48 horas a 37°C.

Uma colônia típica por placa com crescimento foi isolada em ágar Triptona Soja (TSA, Merck, Darmstadt, Alemanha). Culturas puras foram submetidas a provas bioquímicas: Ágar Três Açúcares-Ferro (TSI, Merck, Darmstadt, Alemanha) e ágar Lisina-Ferro (LIA, Merck, Darmstadt, Alemanha) e o-nitrofenil-β-D-galactopiranosídeo (ONPG). Os meios foram preparados conforme instruções do fabricante e interpretados conforme MacFaddin (2000). Para confirmação de *Salmonella* foi realizada a prova da aglutinação em lâmina com Soro *Salmonella* Polivalente Somático (Probac, São Paulo). Nesta prova a amostra bacteriana isolada em ágar TSA, foi misturada sobre uma lâmina com solução tampão PBS, fazendo uma suspensão de volume inferior ao da gota de soro. Após, foi adicionada uma gota do soro polivalente sobre a suspensão e homogeneizada por um a dois minutos. A presença de grumos na suspensão, num período de até dois minutos, foi considerada como resultado positivo para *Salmonella*.

### **3.6. Quantificação de *Salmonella***

Para a quantificação de *Salmonella* nas amostras de carcaça foi adotado o método do Número Mais Provável (NMP), conforme BAM (2006).

Três alíquotas de diferentes volumes (10mL, 1mL e 0,1mL) da amostra foram adicionadas a 10mL de APT. Para os volumes de 10mL utilizou-se água peptonada tamponada dupla concentração. Todos os tubos foram incubados a 37°C por 18 horas, como etapa de pré-enriquecimento. A partir da água peptonada tamponada, alíquotas de 0,1mL de cada tubo de pré-enriquecimento foram inoculadas em 9,9mL de caldo Rappaport-Vassiliadis (RV, Merck) e incubadas em banho de água a 42°C por 24 horas. Após 24 horas de incubação, com o auxílio de alça de platina, foram retiradas alíquotas de cada tubo de enriquecimento seletivo e semeadas em meio seletivo indicador ágar Xilose Lisina Desoxicolato (XLD, Oxoid, Basingstoke, UK) e incubados por 24-48 horas a 37°C.

Foi selecionada para identificação uma colônia por placa com crescimento típico, isolada em ágar Triptona Soja (TSA, Merck, Darmstadt, Alemanha) e após, submetida a provas bioquímicas e aglutinação com soro polivalente somático como descrito em 3.5. O número de placas de ágar XLD, com colônias confirmadas como

*Salmonella*, em cada uma das séries de volumes de amostra foi utilizado para o cálculo do NMP, conforme tabela publicada pelo BAM (2006). O valor obtido na tabela equivaleu ao NMP por mililitro de amostra. Como a amostra era composta por 55mL de APT (vide item 3.3.2), na qual estava suspenso o material colhido pela esponja friccionada numa área de 300cm<sup>2</sup> de carcaça, cada mililitro da amostra equivalia a uma área de 5,45cm<sup>2</sup> da mesma (SILVA, N. *et al.*, 2010).

### **3.7. Caracterização dos isolados de *Salmonella***

Todos os isolados confirmados como *Salmonella* conforme descrito nos itens 3.5 e 3.6 foram armazenados congelados (-20<sup>o</sup>C) em caldo Infusão de Cérebro e Coração acrescido de 20% de glicerol. Paralelamente, os isolados foram enviados a Fundação Instituto Oswaldo Cruz para caracterização de antígenos somáticos e flagelares de acordo com o sistema Kauffman-White. Os resultados permitiram a determinação do sorovar dos isolados.

### **3.8. Análise de Macrorestrição de isolados**

Isolados de *Salmonella* obtidos de carcaças no último ponto de amostragem (após chuveiro final), e os isolados pertencentes ao mesmo sorovar provenientes de carcaça, conteúdo intestinal e ambiente na mesma coleta foram submetidos à análise de macro-restrição do DNA total, seguida de eletroforese em campo pulsado – Pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) (RIBOT *et al.*, 2006), seguindo protocolo do Pulsed-Net (<http://www.cdc.gov/pulsenet/protocols.htm>). Os isolados foram submetidos à digestão com as enzimas *Xba*I (Fermentas, St, Leon-Rot, Germany) e *Bln*I (Fermentas, St, Leon-Rot, Germany). A eletroforese foi realizada em gel de agarose 1% utilizando tampão 0,5X Tris-borato-EDTA em um sistema CHEF DR-II (BioRad Laboratories, Hercules, USA) com 6Volts/cm por 20 horas a 14<sup>o</sup>C com um tempo inicial de mudança de polaridade de 2 minutos e 16 segundos e um tempo final de mudança de polaridade de 63,8 segundos. *Salmonella* Braenderup (ATCC# BAA-664) serviu como referência de tamanho dos fragmentos gerados. Após a eletroforese, o gel foi corado em solução de brometo de etídio (2 $\mu$ g/mL, Sigma, St. Louis, USA), fotografado em transiluminador e a imagem capturada e digitalizada pelo sistema Kodak 2200 (Rochester, New York, USA). O perfil de macrorestrição foi analisado visualmente e cada posição de banda foi determinada. Isolados com uma banda de diferença foram considerados como sendo de pulsotipos diferentes.

### 3.9. Análise Estatística.

Para verificar se há associação entre os níveis de contaminação das carcaças e infecção dos suínos e os frigoríficos estudados (Frigoríficos A, B e C), o método de regressão logística foi utilizado. Modelos de regressão logística univariada para variável resposta binária (1/0) foram construídos utilizando os dados agrupados por carcaças ( $n = 109$ ) tendo como variável independente (X) os frigoríficos e as seguintes variáveis dependentes (Y), para cada modelo: contaminação da carcaça em pelo menos um ponto, conteúdo intestinal (indicativo de suíno infectado) e isolamento de *Salmonella* nos pontos avaliados, denominados de Dp, Fb, Ev e Ch. Regressão logística ordinal foi realizada para verificar a associação entre contaminação da carcaça classificada de forma ordinal (0 = carcaça negativa em todos os pontos, 1 = positiva em um ponto e 2 = positivo em mais de um ponto, variando de 2 a 4) e os frigoríficos estudados.

Os dados também foram agrupados por coleta ( $n = 8$ ) para avaliar a associação entre a infecção dos animais e a contaminação das carcaças ao abate. Neste modelo de regressão logística, a variável dependente (Y) é composta pelo número de positivos sobre o total avaliado, uma proporção. A interação entre infecção (conteúdo intestinal) e frigorífico foi testada e comparada com o modelo utilizando as variáveis preditoras independentemente. Através do critério AIC (Akaike Information Criterion), verificou-se que o melhor modelo era o que utilizava a interação entre frigorífico e infecção dos animais. Como este tipo de modelo (variável resposta uma proporção) está sujeito a superdispersão, esta foi corrigida pelo método de Williams.

Em todos os modelos o frigorífico de referência (utilizado como comparativo) foi o frigorífico A.

Qui-quadrado da independência com uma tabela 4 x 2 foi realizado para verificar se havia diferença na frequência de contaminação nos pontos de coletas agrupados. Adicionalmente, regressão logística univariada foi realizada para verificar a associação entre contaminação da carcaça e infecção do animal.

Em todas as análises foi utilizado um nível alfa de significância igual a 5%.

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O controle da contaminação por *Salmonella* em carcaças suínas necessita de medidas de intervenção em todas as etapas de produção, desde a granja até o abate. Nesse contexto, o presente estudo analisou etapas da linha de abate de três matadouros-frigoríficos sob Inspeção Federal que contribuíram para o controle ou para a disseminação de *Salmonella* em carcaças suínas.

A importância de animais portadores, que sofreram infecção por *Salmonella* na granja, como fonte de contaminação de carcaças ao abate foi relatada (BAHNSON *et al.*, 2006), sendo demonstrado que o número de carcaças positivas é maior em lotes com animais portadores (EFSA, 2008b). Os primeiros esforços no sentido de propor programas de controle visaram identificar e reduzir suínos portadores (MOUSING *et al.*, 1997). A ferramenta adotada para a identificação de lotes com alta prevalência de portadores foi a pesquisa de anticorpos, por meio de testes de ELISA, a qual demonstrou uma forte associação com o risco de isolamento de *Salmonella* ao abate (NIELSEN *et al.*, 1995; ALBAN *et al.*, 2002; McDOWELL *et al.*, 2007). Lotes com alta prevalência de soropositivos constituiriam uma fonte muito importante para a contaminação cruzada por *Salmonella* no abatedouro (VYT *et al.*, 2006).

A evidência, apresentada por Hurd *et al.* (2001), que a ingestão de *Salmonella* resultava na invasão do trato gastrointestinal em duas horas, corroborou para a observação de que os suínos podem ser infectados durante o transporte e a espera pré-abate (BERENDS *et al.*, 1996; SWANENBURG *et al.*, 2001b; ROSTAGNO *et al.*, 2010), tornando-se fonte de introdução da bactéria na linha de abate mesmo sem apresentarem um *status* sorológico positivo.

Diversos estudos comprovaram que o alto nível de contaminação das baias de espera pode ter efeito significativo no número de suínos infectados ao abate (SWANENBURG *et al.*, 2001a; ROSTAGNO *et al.*, 2002a). Nesse sentido, De Busser *et al.* (2008) identificaram risco de contaminação por *Salmonella* em carcaças na linha de abate em abatedouros onde a presença dessa bactéria foi observada nas baias de espera. A grande variabilidade na frequência de baias positivas (0% e 100%), e a importância da limpeza e desinfecção, bem como do tempo de espera antes do abate como fatores para a disseminação de *Salmonella* foram demonstradas (DE BUSSER *et al.*, 2011).

Em resumo, o animal portador de *Salmonella* no trato gastrointestinal no momento do abate decorre da sua exposição à essa bactéria durante o alojamento nos diversos sítios de criação ou durante a permanência no caminhão de transporte ou nas baias de espera pré-abate.

No presente estudo, um total de 392 soros provenientes de 16 lotes abatidos em três matadouros-frigoríficos do sul do Brasil foram testados pelo teste de ELISA desenvolvido por Kich *et al.* (2007), observando-se variação na frequência de soropositivos nos lotes entre 35% e 100% (**Tabela 2**) (**APENDICES A, B e C**). Resultados igualmente elevados de soroprevalência em lotes de suínos abatidos foram relatados anteriormente na região sul do Brasil por Kich *et al.* (2005), Silva, L.E. *et al.*, (2006) e Schwarz *et al.*, (2009b) que encontraram 65%, 76,9% e 83,2%, respectivamente, de animais soropositivos ao abate, indicando que há exposição à infecção nas granjas de suínos nessa região. A alta variabilidade na soroprevalência entre lotes, granjas e regiões é uma situação observada não apenas nos estudos conduzidos no Brasil. Dorn-In *et al.* (2009), em estudo conduzido na Tailândia, relatam resultados que variaram entre 27% e 100%, enquanto um inquérito sorológico em rebanhos da União Europeia encontrou soroprevalências entre 0% e 64% (EFSA, 2009).

**Tabela 2:** Frequência (%) de resultados positivos na sorologia e no isolamento de *Salmonella* a partir de conteúdo intestinal e carcaças suínas em três matadouros-frigoríficos do sul do Brasil, 2007-2009.

Frigorífico /coleta	Sorologia		Conteúdo Intestinal		Carcaça *	
	Positivos	%	Isolamento	%	Isolamento	%
A1	9/25	36,0	0/12	0	0/12	0
A2	17/48	35,4	1/12	8,3	0/12	0
A3	48/50	96,0	3/13	23,1	1/13	7,7
<b>Total A</b>	<b>74/123</b>	<b>60,2</b>	<b>4/37</b>	<b>10,8</b>	<b>1/37</b>	<b>2,7</b>
B1	20/42	47,6	2/13	15,4	0/13	0
B2	48/50	96,0	5/13	38,5	9/13	69,2
B3	53/55	96,4	0/12	0	2/12	16,7
<b>Total B</b>	<b>121/147</b>	<b>82,3</b>	<b>7/38</b>	<b>18,4</b>	<b>11/38</b>	<b>28,9</b>
C1	63/63	100,0	13/17	76,5	2/17	11,8
C2	58/59	98,3	2/17	11,8	2/17	11,8
<b>Total C</b>	<b>121/122</b>	<b>99,2</b>	<b>15/34</b>	<b>44,1</b>	<b>4/34</b>	<b>11,8</b>
<b>Total Global</b>	<b>316/392</b>	<b>80,6</b>	<b>26/109</b>	<b>23,8</b>	<b>16/109</b>	<b>14,7</b>

\*Após chuva final.

Com exceção das amostras das baias de espera coletadas na primeira visita aos abatedouros A e B, todas as demais resultaram em isolamento de *Salmonella* em todas as amostras colhidas. A presença de *Salmonella* nessas amostras demonstra o risco de transmissão cruzada entre os animais durante o período de espera pré-abate, contribuindo para a presença da bactéria no trato gastrointestinal como demonstrado em estudos anteriores (SWANENBURG *et al.*, 2001b; ROSTAGNO *et al.*, 2010). Assim, a situação de elevada infecção na granja, demonstrada pela soroprevalência, associou-se à exposição a um ambiente pré-abate contaminado, como constatado pelo isolamento de *Salmonella* de amostras colhidas do piso das baias de espera dos três abatedouros.

Dos 109 intestinos avaliados nesse estudo, 26 (23,8%) resultaram em isolamento de *Salmonella* a partir de seu conteúdo. Houve isolamento em todas as coletas, exceto na primeira do Frigorífico A (A1) e na última do Frigorífico B (B3), com a prevalência de positivos variando entre 0% e 76,5% nas coletas (**Tabela 2**). O Frigorífico C foi aquele que apresentou número significativamente maior de animais com conteúdo intestinal positivo 15/34 (44,1%;  $P < 0,01$ ). Nesse sentido, a análise dos dados determinou que, em média, houve 6,51 vezes mais chance de isolar *Salmonella* do conteúdo intestinal dos animais no Frigorífico C do que no Frigorífico A.

Entretanto, não houve correlação entre a soroprevalência dos lotes abatidos e a frequência de isolamento de *Salmonella* nas amostras de conteúdo intestinal dos animais ( $P = 0,22$ ), concordando com os estudos de Sorensen *et al.* (2004), Stege *et al.* (2000) e Silva, L.E., *et al.* (2006), onde as estimativas da sorologia dos lotes e o isolamento a partir das amostras do conteúdo intestinal também diferiram. Os resultados positivos em testes sorológicos refletem uma exposição prévia à *Salmonella* e os anticorpos persistem mesmo que haja a cura da infecção; por outro lado a soroconversão pode não ter ocorrido nas infecções recentes (VAN DER GAAG *et al.*, 2004). A discrepância entre resultados, decorre também da característica intermitência na excreção fecal de *Salmonella* (NIELSEN *et al.*, 1995; FUNK *et al.*, 2001) e da sensibilidade das técnicas de isolamento, que apesar de elevada não é de 100%, podendo levar a resultados falso-negativos (EFSA, 2008a). Esses aspectos podem ser ilustrados pela ausência de *Salmonella* nas amostras de conteúdo intestinal na primeira coleta do Frigorífico A e última do Frigorífico B, apesar da elevada soroprevalência dos lotes. Assim, a dinâmica da infecção natural pode ser considerada responsável pela falta de associação entre a sorologia e a bacteriologia (RAJIC *et al.*, 2002a, FUNK *et al.*, 2005). Entretanto, a determinação da soroprevalência, mesmo sendo um pobre indicador de infecção atual

(EFSA, 2008a), permanece como um método valioso para categorizar rebanhos com vistas à adoção de medidas de intervenção nas granjas (CORTINAS-ABRAHANTES *et al.*, 2009).

Das 109 carcaças amostradas no final da linha de abate (após o chuveiro final), 16 (14,7%) foram positivas para *Salmonella*, com frequência variando entre 0 e 69,2%. Não ocorreu isolamento nessa etapa do abate em três dias de amostragem (A1, A2 e B1), oportunidades estas em que a soroprevalência dos lotes abatidos foi inferior a 50% (36%, 35,4% e 47,6%, respectivamente). No entanto, quando da análise dos resultados, foi observado que não houve correlação entre a sorologia dos lotes e o número de carcaças positivas após o chuveiro final ( $P= 0.42941$ ). Da mesma forma, a análise por regressão logística demonstrou não haver associação significativa entre a presença de *Salmonella* no conteúdo intestinal e a contaminação das carcaças ( $P= 0,57$ ). Ilustra essa observação o fato de que o Frigorífico C, onde houve um número significativamente maior de isolamentos de *Salmonella* de conteúdo intestinal, não foi o que apresentou maior frequência de carcaças positivas ao final da linha de abate. A ausência de associação verificada pode ser explicada pela variabilidade das práticas adotadas na linha de abate dos matadouros-frigoríficos, levando a uma maior, ou menor, contaminação de carcaças por *Salmonella* (SORENSEN *et al.*, 2004; DE BUSSEER *et al.*, 2011).

Isto pode ser evidenciado pela análise dos frigoríficos individualmente. Adotando um modelo de regressão logística onde os dados são analisados considerando as coletas ( $n=8$ ) e a proporção de isolamentos de *Salmonella* em relação ao total de amostras colhidas no ponto analisado, constatou-se interação significativa (coeficiente 0,57;  $P<0,01$ ) entre a proporção de carcaças positivas ao final da linha de abate e o isolamento em conteúdo intestinal apenas no Frigorífico B. Em outras palavras, este resultado sugere que ocorre um aumento do número de carcaças contaminadas de acordo com o aumento do número de animais portadores, ou seja, a presença intestinal de *Salmonella* é preditiva da contaminação das carcaças no Frigorífico B. Estes achados estão de acordo com a afirmação de Berends *et al.* (1997) de que o animal portador de *Salmonella* é o primeiro ponto de controle ao abate, porém não é o único, pois as etapas da linha de abate contribuem tanto para o controle como para o aumento da contaminação de carcaças.

No presente estudo, os resultados obtidos nas mesmas carcaças amostradas em duas etapas da zona suja (após depilação e após flambagem) e da zona limpa (após

evisceração e após chuveiro final), demonstraram a variação no isolamento e no número de *Salmonella* verificados entre etapas e entre matadouros-frigoríficos.

Os dados de literatura acerca do risco de contaminação das carcaças na etapa de escaldagem são divergentes. Alguns estudos apontam que essa etapa pode aumentar significativamente o risco de contaminação de carcaças (HALD *et al.*, 1999; LOMONACO *et al.*, 2009), enquanto outros autores têm demonstrado que o risco de contaminação via água da escalda pode ser minimizado se a temperatura da água for suficientemente alta (BOLTON *et al.*, 2003). No presente estudo, nenhuma das 30 amostras, colhidas no tanque de escaldagem dos Frigoríficos A e B, resultou em isolamento de *Salmonella*. Este resultado é compatível com a temperatura aferida no tanque, a qual nunca foi inferior a 61°C. Esse dado concorda com o descrito por Botteldoorn *et al.* (2003), que demonstraram que amostras de água de escalda obtidas durante o abate sempre foram negativas, quando a temperatura da água foi mantida entre 60 e 62°C. A ausência de *Salmonella* em amostras de água da escalda também foi relatada em outros estudos (BORCH *et al.*, 1996; BOLTON *et al.*, 2003; PEARCE *et al.*, 2004), indicando que a manutenção da temperatura da água acima de 60 °C evita que essa etapa propicie a contaminação cruzada das carcaças, apesar de, eventualmente, não ter a capacidade de eliminar completamente as bactérias presentes na carcaça.

O primeiro ponto de amostragem na linha de abate (após depilação) resultou no isolamento de *Salmonella* em carcaças nos três frigoríficos em todos os dias de amostragem, com os Frigoríficos A e C apresentando menores frequências de detecção. No Frigorífico A houve isolamento em seis das 37 carcaças (16,2%), enquanto no Frigorífico C o isolamento foi confirmado em sete das 34 carcaças (20,6%). Estes resultados são superiores àqueles relatados por Lima *et al.* (2004) que identificaram 10% de carcaças positivas nesta etapa do processamento. Já no Frigorífico B *Salmonella* foi isolada em 17 das 38 carcaças (44,7%) (**Tabela 3**). A análise pelo teste de Qui-quadrado da independência das etapas de abate avaliadas indicou que houve uma frequência estatisticamente significativa maior ( $P=0,004$ ) de isolamento de *Salmonella* após a etapa de depilação

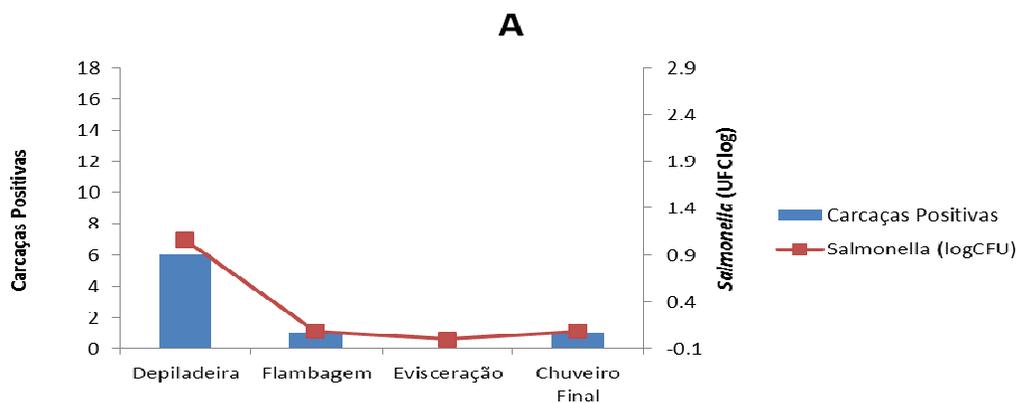
Estudo conduzido nas diferentes etapas de abate observou aumento da contagem de microrganismos aeróbios mesófilos após a depilação em cerca de 2.0 log<sub>10</sub>UFC (PEARCE *et al.*, 2004). No presente estudo, foi conduzida a estimativa do número de *Salmonella* como o parâmetro de comparação. Foi possível identificar dois perfis distintos na quantificação de *Salmonella* entre os Frigoríficos após a depilação. Nas

amostras dos Frigoríficos A e C a quantificação média na área amostrada foi de 0.69  $\log_{10}$ UFC e 0.24  $\log_{10}$ UFC, respectivamente, resultados estes muito inferiores aos observados no Frigorífico B, que apresentou quantificação média de 1.78  $\log_{10}$ UFC, com variação entre 0.079  $\log_{10}$ UFC e 3.079  $\log_{10}$ UFC (**Figuras 3, 4 e 5**). Apesar de não ter sido realizada uma colheita de amostras imediatamente antes da entrada na depiladeira, é possível supor que esse equipamento contribuiu para a contaminação cruzada das carcaças, uma vez que outros estudos mostraram que a presença de *Salmonella* no equipamento de depilação pode ser uma fonte de contaminação na linha de abate (GILL & BRYANT, 1993). Por conseguinte, a etapa de depilação é considerada como um importante fator de risco para a contaminação de carcaças (BERENDS *et al.*, 1997; DAVIES *et al.*, 1999; PEARCE *et al.*, 2004; EFSA, 2010), principalmente se associada a falhas na preparação ao abate, como a não realização adequada do jejum dos animais - favorecendo o extravasamento de conteúdo intestinal, e a inadequada higienização dos animais imediatamente antes da insensibilização.

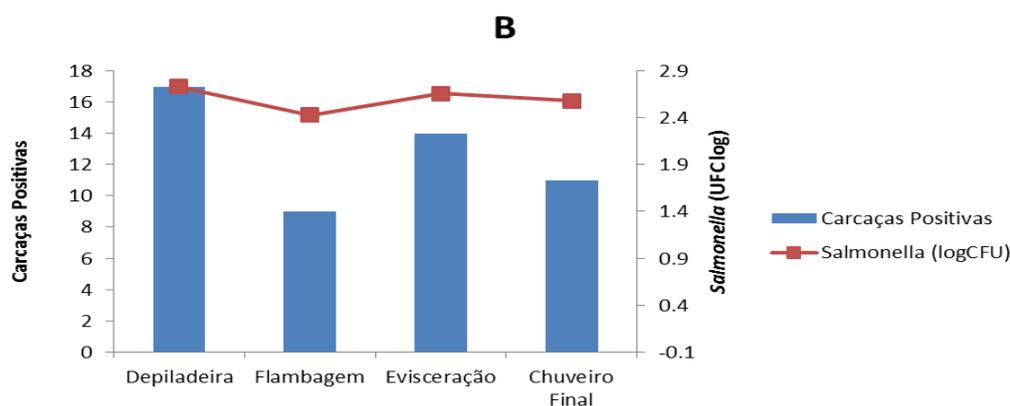
**Tabela 3:** Frequência de carcaças com isolamento de *Salmonella* nos diferentes pontos de coleta em três matadouros-frigoríficos no sul do Brasil, 2007-2009.

Frigorífico /coleta	Pontos de Coleta				Total (%)
	Dp	Fb	Ev	Ch	
<b>A1</b>	1/12	0/12	0/12	0/12	
<b>A2</b>	2/12	0/12	0/12	0/12	
<b>A3</b>	3/13	1/13	0/13	1/13	
<b>Total A</b>	6/37 (16,2%)	1/37 (2,7%)	0/37	1/37 (2,7%)	8/148 (5,4%)
<b>B1</b>	5/13	0/13	1/13	0/13	
<b>B2</b>	8/13	6/13	10/13	9/13	
<b>B3</b>	4/12	3/12	3/12	2/12	
<b>Total B</b>	17/38 (44,7%)	9/38 (23,7%)	14/38 (36,8%)	11/38 (28,9%)	51/152 (33,5%)
<b>C1</b>	5/17	0/17	0/17	2/17	
<b>C2</b>	2/17	1/17	2/17	2/17	
<b>Total C</b>	7/34 (20,6%)	1/34 (2,9%)	2/34 (5,9%)	4/34 (11,8%)	14/136 (10,3%)
<b>Total</b>	<b>30/109 (27,5)</b>	<b>11/109 (10,1)</b>	<b>16/109 (14,7)</b>	<b>16/109 (14,7)</b>	<b>73/436 (16,7%)</b>

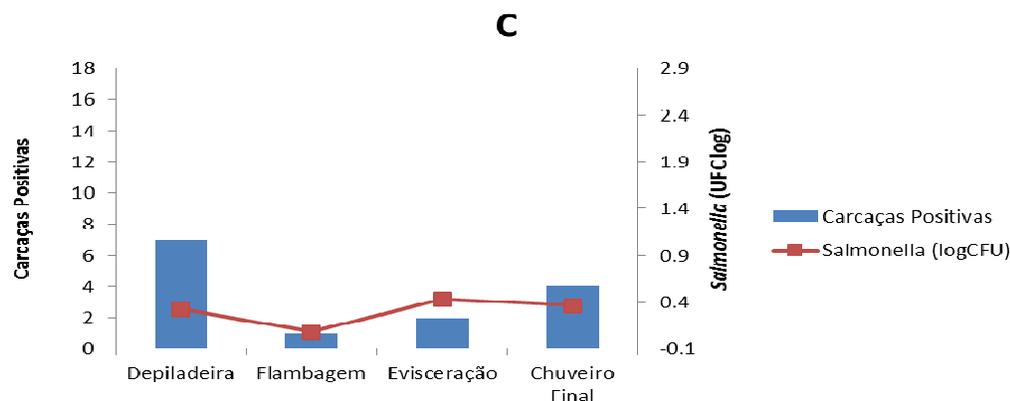
Dp= Após Depilação; Fb= Após Flambagem; Ev= Após Evisceração; Ch= Após Chuveiro final.



**Figura 3:** Total de carcaças positivas e contagem média (log UFC) de *Salmonella* em 300 cm<sup>2</sup> de área amostrada em quatro etapas de abate no Frigorífico A.



**Figura 4:** Total de carcaças positivas e contagem média (log UFC) de *Salmonella* em 300 cm<sup>2</sup> de área amostrada em quatro etapas de abate no Frigorífico B.



**Figura 5:** Total de carcaças positivas e contagem média (log UFC) de *Salmonella* em 300 cm<sup>2</sup> de área amostrada em quatro etapas de abate no Frigorífico C.

A elevada contaminação das carcaças do Frigorífico B após a etapa de depilação, associada à baixa frequência de isolamento a partir do conteúdo intestinal dos animais, concorda com os resultados de estudos que indicam que a presença de *Salmonella* nas fezes de poucos suínos pode contaminar cruzadamente muitas carcaças durante o processamento (WONDERLING *et al.*, 2003; TEUNIS *et al.*, 2010).

A etapa subsequente (após flambagem) apresentou efeito positivo para o controle da contaminação das carcaças nos três frigoríficos (**Tabela 3**) (**Figuras 3, 4 e 5**), com uma redução de mais de 80% das amostras isoladas nos Frigoríficos A e C nesta etapa em relação à etapa anterior, e de 17 para 9 (47%) no Frigorífico B. A redução da contaminação das carcaças pôde ser observada, ainda, pela redução da contagem de *Salmonella* nas carcaças. No Frigorífico A foi constatada redução de 0.69 log<sub>10</sub>UFC para 0.08 log<sub>10</sub>UFC em relação à etapa anterior; e nos Frigoríficos B e C passando, respectivamente, de 1.78 log<sub>10</sub>UFC para 1.01 log<sub>10</sub>UFC e de 0.24log<sub>10</sub>UFC para 0.08 log<sub>10</sub>UFC. Estes dados confirmam estudos que relataram que a etapa de flambagem não é suficiente, por si só, para eliminar a contaminação na superfície das carcaças, mas tem um efeito significativo na redução do número de bactérias (BORCH *et al.*, 1996; PEARCE *et al.*, 2004), sendo considerado o mais efetivo estágio para a inativação microbiana (EFSA, 2010). Contudo, cabe a observação de que o isolamento de *Salmonella* após esta etapa favorece a manutenção da contaminação das carcaças nas fases posteriores de abate e processamento, uma vez que apenas a flambagem é capaz de eliminar *Salmonella* na linha de processamento (ALBAN *et al.*, 2005).

A grande diferença entre os resultados obtidos nesta etapa, nos Frigoríficos A e C, em relação ao Frigorífico B pode ser atribuída à variação do nível da contaminação identificada nas carcaças na etapa anterior e às condições em que se deu o processamento na etapa de flambagem. Os Frigoríficos A e C dispõem de equipamentos similares de flambagem, que consistem de queimadores automáticos, que aplicam, sobre toda a superfície das carcaças, chamas de grande intensidade, garantindo temperaturas de aproximadamente 700°C (informação pessoal) por tempo determinado, conforme previamente padronizado em cada indústria. Já no Frigorífico B, a flambagem era realizada com queimadores manuais, sem a garantia do efeito tempo-temperatura sobre as carcaças, sendo a atividade realizada conforme a percepção de necessidade do colaborador que a executa, e que é focado na remoção dos pelos e não como forma de tratamento para a redução de contaminantes. Estas observações são contrárias às afirmações de Bolton *et al.* (2002) que relacionaram o melhor efeito de

descontaminação da flambagem manual à possibilidade de poder ser aplicada mais consistentemente para todas as áreas da carcaça, atingindo maiores reduções no número de bactérias do que os queimadores automáticos. No presente estudo, o emprego de queimadores manuais não permitiu a adequada realização da etapa, o que é traduzido pela baixa eficácia na redução da contaminação das carcaças no Frigorífico B em relação aos outros estabelecimentos e confirma a informação da EFSA (2010) de que o efeito da flambagem é dependente do tempo de exposição no equipamento e da temperatura a qual a carcaça é submetida.

Entre a etapa de flambagem e a evisceração ocorrem dois passos intermediários da linha de abate denominados polimento e oclusão do reto. Em relação ao primeiro, a recontaminação das carcaças pode ser atribuída ao equipamento, que é de difícil higienização (BORCH *et al.*, 1996; DE BUSSE *et al.*, 2011). Em relação à oclusão do reto, os estabelecimentos empregavam diferentes técnicas (**Tabela 1**) que podem ter influenciado na contaminação das carcaças após a evisceração.

Os resultados observados após a etapa de evisceração diferiram entre os três frigoríficos. No Frigorífico A não houve isolamento nas carcaças nesta etapa (**Tabela 3**) (**Figuras 3, 4 e 5**). No Frigorífico B pôde ser observado um aumento no número de carcaças positivas, que passou de nove para 14, com elevação da contagem média de  $1.01 \log_{10}\text{NMP}$  para  $1.90 \log_{10}\text{NMP}$ . No Frigorífico C, também foi observado incremento no número de carcaças positivas, passando de uma para duas, e aumento da contagem média de *Salmonella* de  $0.08 \log_{10}\text{UFC}$  para  $0.41 \log_{10}\text{UFC}$ .

Lima *et al.* (2004) também observou aumento de contaminação nas carcaças após a evisceração, como obtido nos Frigoríficos B e C. No presente estudo, o ponto de coleta de amostras não permite fazer uma relação direta do isolamento de *Salmonella* com o processo de evisceração, pois não foi constatada a ruptura de intestino nas carcaças amostradas, de forma que a contaminação identificada nos Frigoríficos B e C pode ser decorrente do polimento, da inadequada oclusão do reto, da evisceração ou da soma de todas as etapas. Especificamente em relação ao Frigorífico C, pode ainda estar relacionada com a observação de uma falha operacional que resultou na “queda” do reto durante a oclusão para o interior da cavidade abdominal. No entanto, apesar da falha observada, a utilização da bolsa plástica, pode ter prevenido uma maior contaminação nesta etapa, concordando com estudos que indicam que o uso de bolsa plástica previne a contaminação fecal, contribuindo para que a frequência de *Salmonella* após a evisceração não seja ainda mais alta (BOLTON *et al.*, 2002; LIMA *et al.*, 2004). O

Frigorífico A, por sua vez, utilizava um lacre plástico que resultava na oclusão completa do reto, o que o barbante utilizado no Frigorífico B não permitia.

A frequência de *Salmonella* observada após o chuveiro final foi bastante diversa entre os três frigoríficos, sendo de 2,7%; 28,9% e 11,8% nos Frigoríficos A, B e C, respectivamente, com uma média de 14,7% (**Tabela 3**) (**Figuras 3, 4 e 5**). Estes achados são inferiores aos observados por Botteldorn *et al.* (2003) que identificaram *Salmonella* em 37% das carcaças antes do resfriamento. Os achados nos Frigoríficos A e C estão em conformidade com aqueles identificados na União Européia onde a prevalência média em carcaças foi de 8,3%, (0,0% a 20,0% (EFSA, 2008a).

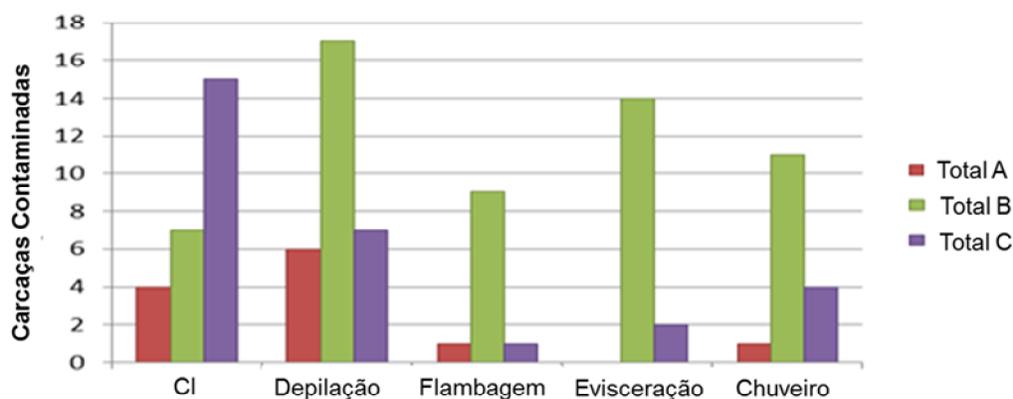
Na avaliação após o chuveiro final, os Frigoríficos A e C apresentaram aumento no número de carcaças positivas, passando de zero para uma e de duas para quatro, respectivamente, enquanto no Frigorífico B houve redução no número de carcaças contaminadas, passando de 14 para 11 amostras positivas. Os resultados dos Frigoríficos A e C corroboram com os achados de Bolton *et al.* (2002) que identificaram a lavagem final como responsável pelo aumento na contaminação das carcaças. Entretanto, várias etapas anteriores ao chuveiro final (divisão da carcaça e toalete) também podem ter contribuído para a presença de *Salmonella*.

Na análise do efeito dos frigoríficos sobre a contaminação das carcaças nas diferentes etapas do abate avaliadas (**Figura 6**), verificou-se que no Frigorífico B em relação ao A: (i) houve 4,18 vezes mais chances de isolar *Salmonella* após a depilação; (ii) 11,17 vezes mais chances de se isolar após a flambagem; e (iii) 14,66 vezes mais chances de se isolar após o chuveiro final. Na comparação do Frigorífico C com o A não houve diferença estatística significativa.

Considerando as carcaças que apresentaram resultado positivo em pelo menos um dos pontos amostrados, a avaliação dos dados permitiu demonstrar que, em média, houve 7,92 vezes mais chance de isolar *Salmonella* na carcaça, em pelo menos um dos pontos de coleta, no Frigorífico B comparado com o Frigorífico A ( $P < 0,01$ ) e que houve uma tendência de maior chance de isolamento de *Salmonella* no Frigorífico C ( $P = 0,07$ ) quando comparado com o Frigorífico A. Adicionalmente, foi possível verificar que o Frigorífico B (OR=9,24) apresentou uma tendência significativa ( $P < 0,01$ ) em relação ao Frigorífico A de apresentar carcaças contaminadas em mais de um ponto.

É importante a observação acerca da contaminação de uma mesma carcaça em mais de uma etapa amostrada, pois este dado é um indicativo de falha das Boas Práticas de Fabricação nas operações de abate e de falha operacional das etapas. Nesse sentido,

foram observados 14 casos de isolamento de *Salmonella* da mesma carcaça em diferentes etapas amostradas, sendo um no Frigorífico A e 13 no Frigorífico B (Tabela 4). Destes 14 casos, em 13 as carcaças apresentaram o mesmo sorovar nas diferentes amostras, o que permite melhor caracterizar a persistência da contaminação (Tabela 5).



**Figura 6.** Total de amostras positivas para *Salmonella* em conteúdo intestinal (CI) e carcaças nos diferentes pontos de amostragem dos Frigoríficos A, B e C.

**Tabela 4:** Número de carcaças com isolamento de *Salmonella* em mais de uma amostra coletada, de acordo com o perfil de amostras positivas, nos Frigoríficos A, B e C.

Frigoríficos	Perfil de amostras positivas	Ocorrências dos perfis
A	DpFb	1
B	DpFbEvCh	5
	DpFbEv	2
	EvCh	5
	DpFb	1
C		0
<b>Total</b>		<b>14</b>

Dp= Após Depilação; Fb= Após Flambagem; Ev= Após Evisceração; Ch= Após Chuveiro final.

A avaliação do ambiente dos frigoríficos demonstrou que em menor ou maior grau todos os estabelecimentos apresentavam contaminação nas instalações, com o Frigorífico B apresentando as frequências mais elevadas. Esta observação está de acordo com o estudo de Botteldoorn *et al.* (2003) que demonstraram que *Salmonella* estava presente nas amostras de ambiente de todos os matadouros pesquisados.

Os sorovares identificados nas amostras de ambiente (Typhimurium e Derby) também foram isolados nas carcaças amostradas, evidenciando a disseminação de *Salmonella* no frigorífico.

**Tabela 5:** Sorovares de *Salmonella* identificados em amostras colhidas em baias de espera, conteúdo intestinal e carcaças suínas nas diferentes etapas de abate em três matadouros-frigoríficos (A, B, C) do Sul do Brasil.

Coletas	Baias de Espera	Conteúdo Intestinal	Carcaças			
			Depilação	Flambagem	Evisceração	Chuveiro Final
A1			Derby (1)			
A2	Typhimurium	Infantis (4)	Derby (2) Derby/Typhimurium (1)			
A3	Agona Typhimurium	Agona (10) Typhimurium (5,12)	Typhimurium (2,12,13)	Typhimurium (2)		Typhimurium (13)
B1		Panama (5) Typhimurium (12)	Typhimurium (6,7,10,12) <i>Salmonella enterica</i> (3)		Typhimurium (8)	
B2	Derby	Derby (3,4,11) Panama (8) Senftenberg (2)	Derby (4,5,7,8,13) Typhimurium (2,3) Derby/Typhimurium (9)	Derby (6,13) Panama (5) Typhimurium (3) Panama/Typhimurium (9) Derby/Panama (4)	Derby (4,5,8) Panama (1,11,13) Typhimurium (9) Derby/Panama (7) Panama/Typhimurium (12) Brandenburg/Derby (10)	Derby (4,5,7,8,9,11) Derby/Panama (6,12) Infantis/Panama (1)
B3	Panama Typhimurium		Panama (11) Typhimurium (1,2) Panama/Typhimurium (12)	Panama (11,12) <i>Salmonella enterica</i> (1)	Panama (11) Typhimurium (12) <i>Salmonella enterica</i> (1)	Panama (11,12)
C1	<i>Salmonella enterica</i>	Derby (5,7,11) Infantis (13) Typhimurium (1,2,3,6,17) Derby/Typhimurium (4,9) Montevideo/Typhimurium (10) <i>Salmonella enterica</i> (16)	Derby (16) Typhimurium (1,5,12) Derby/Typhimurium(8)			Derby/Typhimurium (5) Derby (14)
C2	<i>Salmonella enterica</i>	Derby (5) Typhimurium (17)	Derby (10,12)	Typhimurium (5)	Derby/Typhimurium (9) <i>Salmonella enterica</i> (8)	Derby (1,12)

\*entre parênteses, identificação das carcaças

De um total de 132 isolados de *Salmonella* obtidos, a sorotipificação revelou oito diferentes sorovares. Em 16 das amostras positivas para *Salmonella* foram identificados mais de um sorovar. Os sorovares, Derby (n= 47; 35,6%), Typhimurium (n=46; 34,8%) e Panama (n=21; 15,9%) foram os mais frequentes. Estes dados corroboram com os relatados na União Européia (EFSA, 2009), onde os sorovares Typhimurium e Derby foram os mais comumente encontrados em suínos ao abate na maioria dos países membros.

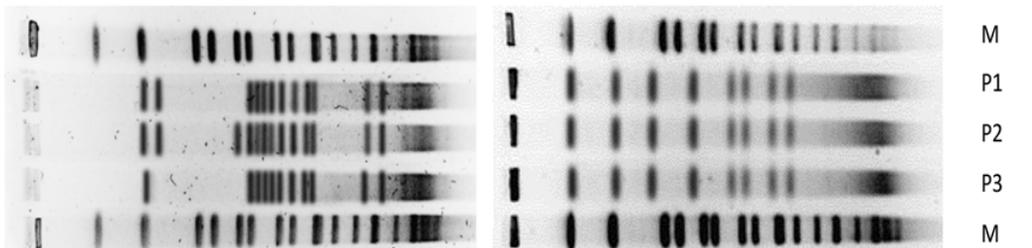
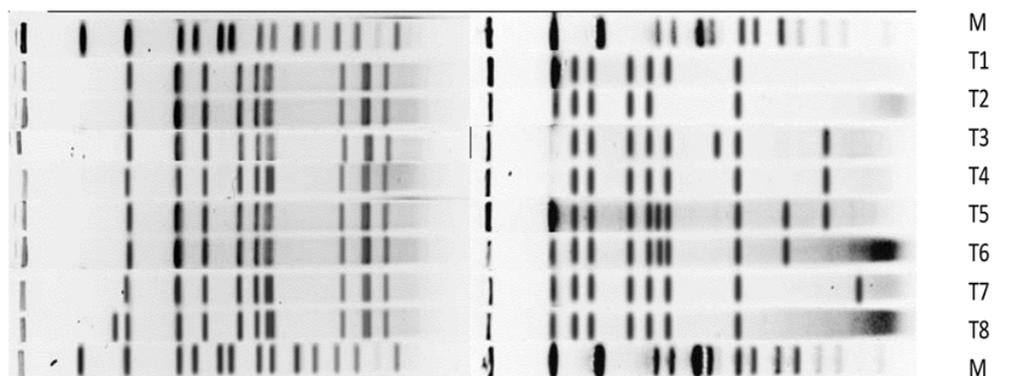
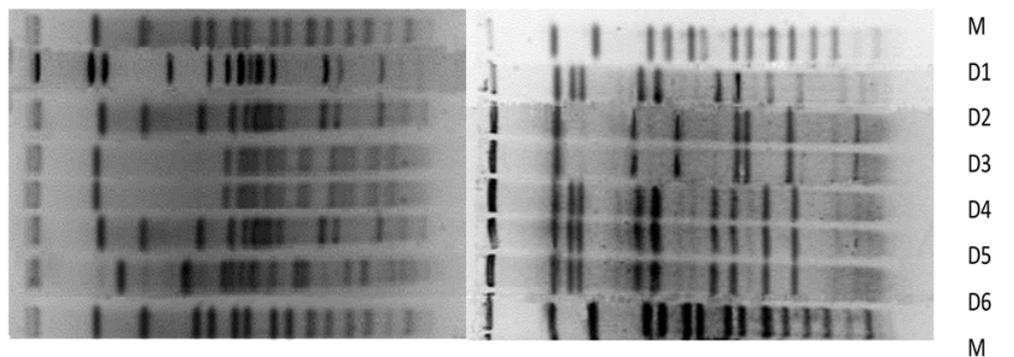
Os resultados da sorotipificação dos isolados de *Salmonella* (**Tabela 5**) permite verificar a presença de sorovares comuns nas baias de espera, conteúdo intestinal e carcaças em diferentes etapas do abate. Resultados similares foram relatados por Sorensen *et al.* (2004), McDowell *et al.* (2007) e De Busser *et al.* (2008) e levam a supor que grupos clonais circulam dentro dos frigoríficos.

Para confirmar a presença de grupos clonais de *Salmonella* nos frigoríficos estudados, todos os isolados dos sorovares que estavam presentes nas carcaças após o chuveiro final foram caracterizados por macro-restrição de DNA com as enzimas *XbaI* e *BlnI*. Os sorovares Panama, Derby e Typhimurium apresentaram, respectivamente, três, seis e oito pulsotipos no PFGE (**Figura 7, Tabela 6**).

A única carcaça positiva após o chuveiro final no Frigorífico A (13Ch) apresentou dois diferentes pulsotipos do sorovar Typhimurium, sendo um deles (Ty2) também encontrado nas amostras das baias de espera e o outro similar a um isolado da mesma carcaça no ponto de coleta após a depilação (Ty1).

Na segunda coleta do Frigorífico B (B2), todas as amostras de *S. Derby* isoladas de carcaças, conteúdo intestinal, baias de espera e ambiente foram classificadas em um único pulsotipo comum (De1), enquanto as amostras de *S. Panama* isoladas de duas carcaças após o chuveiro final na coleta B3 (11Ch e 12Ch) apresentaram perfil similar aos isolados das mesmas carcaças após a depilação e isolados da baia de espera (Pn1).

Na primeira amostragem do Frigorífico C, um isolado de *S. Derby* de carcaça após o chuveiro final (5Ch) foi similar a um isolado de conteúdo intestinal (7CI) e a isolados de duas carcaças após a depilação (8Dp e 16Dp), constituindo o pulsotipo De2. A segunda carcaça positiva após o chuveiro final (14Ch) apresentou isolado de pulsotipo (De5) similar aos isolados do conteúdo intestinal (4CI e 5CI). Na amostragem C2, o sorovar Derby isolado em duas carcaças após o chuveiro final (1Ch e 12Ch) apresentaram isolados de mesmo perfil, similar aos isolados do conteúdo intestinal (5CI) e de carcaças após a depilação (10Dp) e evisceração (9Ev).

**S. Panama**PFGE – *Xba*IPFGE – *Bln*I*Xba*I+*Bln*I**S. Typhimurium**PFGE – *Xba*IPFGE – *Bln*I*Xba*I+*Bln*I**S. Derby**PFGE – *Xba*IPFGE – *Bln*I*Xba*I+*Bln*I

**Figura 7:** Perfil de macro-restrição (PFGE) de sorovares de *Salmonella* isolados em três matadouros –frigoríficos do Sul do Brasil. M= *Salmonella* Branderup ATCC#BAA-664.

**Tabela 6.** Distribuição de pulsotipos de três sorovares de *Salmonella* encontrados em carcaças após o Chuveiro Final em amostras colhidas em matadouros-frigoríficos do Sul do Brasil

<b>Frigorífico/coleta</b>	<b>Sorovar</b>	<b>Pulsotipo</b>	<b>Fonte de isolamento</b>
A3	Typhimurium	Ty1	13Dp*, 13Ch
		Ty2	Espera, 13Ch
		Ty3	2Dp
		Ty4	2Fb, 12CI
		Ty5	13Dp, Ambiente,
		Ty6	13Dp
		Ty7	5CI
		Ty8	12Dp
B2	Derby	De1	Espera, 3CI, 4CI, 4Dp, 4Fb, 4Ev, 4Ch, 5Dp, 5Ev, 5Ch, 6Fb, 6Ch, 7Dp, 7Ev, 7Ch, 8Dp, 8Ev, 8Ch, 9Dp, 9Ch, 10Ev, 11CI, 11Ch, 12Ch, 13Dp, 13Fb, Ambiente
B3	Panama	Pn1	Espera, 11Dp, 11Fb, 11Ch, 12Dp, 12Ch
		Pn2	11Ev
		Pn3	12Fb
C1	Derby	De2	5Ch, 7CI, 8Dp, 16Dp
		De3	9CI
		De4	11CI
		De5	4CI, 5CI, 14Ch
C2	Derby	De5	1Ch, 5CI, 9Ev, 10Dp, 12Ch
		De6	12Dp

\*O número representa a carcaça amostrada e as letras a etapa da linha de abate.

CI- Conteúdo Intestinal; Dp- Após Depiladeira; Fb- Após Flambagem; Ev- Após Evisceração; Ch- Após Chuveiro Final.

Os dados da análise de macrorestrição permitem demonstrar a ocorrência do mesmo perfil genômico nos isolados das baias de espera e das carcaças dos animais nas coletas A3, B2 e B3 (pulsotipos Ty2, De1 e Pn1, respectivamente), confirmando a importância da baia de espera na contaminação das carcaças. De Busser *et al.* (2011) também identificaram o mesmo perfil genômico nos isolados na área da espera e carcaças em 52,6% dos casos estudados.

Outra observação é a ocorrência do mesmo pulsotipo identificado nas amostras de conteúdo intestinal e após a depilação, em outros pontos de coleta na mesma carcaça e em diferentes carcaças (pulsotipos Ty1, De1, Pn1, De5). Esse resultado reforça a hipótese que essa etapa serviu como disseminadora de grupos *Salmonella*, o que está de

acordo com os trabalhos que apontam que no processo de depilação, material fecal pode ser espalhado na superfície das carcaças (BORCH *et al.*, 1996) de forma que o equipamento de depilação pode ser uma importante fonte de contaminação de carcaças (DAVIES *et al.*, 1999; EFSA, 2010), permitindo que a presença de patógenos nas fezes de um suíno contamine várias carcaças (LETELLIER *et al.*, 2009). Estes achados corroboram com os resultados de diferentes trabalhos (OLIVEIRA *et al.*, 2006; MAGISTRALI *et al.*, 2006; BOTTELDOORN *et al.*, 2004; PRENDERGAST *et al.*, 2009; DE BUSSER *et al.*, 2011), que também identificaram isolados de mesmo pulsotipo em diferentes amostras colhidas em matadouros.

A análise das características estruturais e operacionais dos frigoríficos avaliados, em conjunto com os resultados encontrados em relação à sorologia dos lotes e o nível de contaminação das baias de espera, do conteúdo intestinal e das carcaças, aliado à classificação fenotípica e genotípica dos isolados de *Salmonella*, permite algumas inferências.

Apesar de não ter havido associação entre a sorologia dos lotes e a contaminação da carcaça final, observa-se que a chegada ao matadouro de lotes com soroprevalência menos elevadas (<50%) apresentou uma tendência de menor número de carcaças positivas, independente dos procedimentos adotados na linha de abate. Ao contrário, em situações de alta soroprevalência, o que constitui o perfil típico dos lotes suínos no sul do Brasil, os procedimentos adotados pelo matadouro-frigorífico são determinantes da presença de *Salmonella* na carcaça ao final da linha de abate. A contínua chegada ao frigorífico de animais portadores de *Salmonella* no trato gastrointestinal, com a consequente contaminação de baias de espera e transmissão cruzada para outros animais do lote, contribui para a disseminação de grupos clonais dessa bactéria. A entrada desses animais na linha de abate e as etapas até a depilação, e, principalmente a passagem na depiladeira, contribuem de forma importante para a disseminação dos grupos clonais na superfície da carcaça, tendo sido demonstrado que esse ponto é onde se encontrou o maior número de carcaças positivas. Entretanto, os isolados distribuídos são eliminados em grande parte por uma eficiente etapa de flambagem. A situação, em termos de contagem de *Salmonella*, que as carcaças apresentam após a etapa de flambagem, e entram na zona limpa são cruciais, pois até o final da linha haverá uma tendência de amplificação do número de carcaças positivas e da contagem média por carcaça.

Assim, a análise dos dados permite recomendar a utilização de equipamento automatizado e eficaz para execução da etapa de flambagem para alcançar melhores resultados no controle de *Salmonella* e procedimentos nas etapas anteriores à depilação, como a observação do jejum e um banho eficiente dos animais, para a menor contaminação da depiladeira com fezes.

## 5. CONCLUSÕES

1. Independente do número de animais portadores de *Salmonella*, as etapas do processamento influenciam positivamente, ou negativamente, na contaminação das carcaças ao final da linha de abate, dependendo das técnicas executadas no frigorífico e da aplicação adequada das Boas Práticas de Fabricação;
2. Dentre as etapas, aquelas realizadas até a depilação são as mais importantes para a disseminação de grupos clonais de *Salmonella*;
3. Os procedimentos de flambagem são responsáveis por eliminar/diminuir os grupos clonais. O não controle adequado da contaminação nessa etapa acarreta na disseminação e multiplicação nas etapas subsequentes de processamento até o produto final.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIEPCS. Relatório ABIEPCS 2009. **Associação Brasileira da Indústria Produtora e Exportadora de Carne Suína – ABIEPCS**. Disponível em: <http://www.abiepcs.org.br/pt/relatorios.html>.

ALBAN, L.; STEGE, H.; DAHL, J. The new classification system for slaughter-pig herds in the Danish *Salmonella* surveillance-and-control program. **Preventive Veterinary Medicine** n. 53, p.133 – 146, 2002.

ALBAN, L., STÄRK, K.D.C. Where should the effort be put to reduce the *Salmonella* prevalence in the slaughtered swine carcass effectively? **Preventive Veterinary Medicine** n.68, p.63-79, 2005.

ALBAN, L., *et al.* Description of Extended Pre-Harvest Pig *Salmonella* Surveillance-and-Control Programme and its Estimated Effect on Food Safety Related to Pork. **Zoonoses and Public Health** n. 57 (1), p. 6-15, 2010.

ALGINO, R.J., *et al.* Factors associated with *Salmonella* prevalence on pork carcasses in very small abattoirs in Wisconsin. **Journal of Food Protection**. v.72, n.4, p.714-721, 2009.

ALVES, J. C. *et al.* *Salmonella* em linfonodos de suínos normais abatidos no estado do Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária** v. 16, n. 4, p.172-176, 1994.

ATTERBURY, R.J., *et al.* Application of host-specific bacteriophages to the surface of chicken skin leads to reduction in recovery of *Campylobacter jejuni*. **Applied and Environmental Microbiology** v.69, n.10, p.6302-6306, 2003.

BAGGESEN, D. L. *et al.* Critical control points (CPC) in pig herds in relation to subclinical *Salmonella* infection. In: IPVS CONGRESS, 14., 1996, Bologna. **Proceedings**. Bologna, p. 171, 1996.

BAHNSON, P.B. *et al.* Association between on-farm and slaughter plant detection of *Salmonella* in market-weight swine. **Journal of Food Protection** v.68, p.246-250, 2005.

BAHNSON, P.B., *et al.* Herd-level risk factors for *Salmonella* enterica subsp. enterica in U.S. market pigs. **Preventive Veterinary Medicine** n. 76, p. 249-262, 2006.

BAM, **Bacteriological Analytical Manual**, Appendix 2 - Most Probable Number from Serial Dilutions. Disponível em: <http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM/default.htm>, 2006.

BAPTISTA, F.M., DAHL, J., NIELSEN, L.R. Factors influencing *Salmonella* carcass prevalence in Danish pig abattoirs. **Preventive Veterinary Medicine** n. 95, p. 231-238, 2010.

BAUM, D. H. *et al.* Epidemiologic studies of *Salmonella* in swine using culture and ELISA. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON EPIDEMIOLOGY AND CONTROL OF *SALMONELLA* IN PORK, 2., 1997, Copenhagen. **Proceedings**. Copenhagen. 1997.

BELOEIL, P., *et al.* Risk factors for *Salmonella enterica* subsp. *enterica* shedding by market-age pigs in French farrow-to-finish herds. **Preventive Veterinary Medicine** v.63, p.103-120, 2004.

BENSCHOP, J. *et al.* Towards incorporating spatial risk analysis for *Salmonella* seropositivity into Danish swine surveillance programme. **Preventive Veterinary Medicine** n.83, p.347-359, 2008.

BERENDS, B.R., *et al.* Identification and quantification of risk factors in animal management and transport regarding *Salmonella* in pigs. **International Journal of Food Microbiology** n.30, p.37-53, 1996.

BERENDS, B.R. *et al.* Identification and quantification of risk factors regarding *Salmonella* sp. on pork carcasses. **International Journal Food Microbiology** n.36, p. 199-206, 1997.

BERENDS, B.R. *et al.* Impact on human health of *Salmonella* sp. on pork in The Netherlands and the anticipated effects of some currently proposed control strategies. **International Journal of Food Microbiology** n. 44, p. 219–229, 1998.

BESSA, M. C.; COSTA, M.; CARDOSO, M. Prevalence of *Salmonella* sp. in slaughtered pigs in Rio Grande do Sul. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON THE EPIDEMIOLOGY AND CONTROL OF *SALMONELLA* IN PORK, 4., 2001, Leipzig. **Proceedings**. Leipzig, 2001.

BESSA, M. C.; COSTA, M.; CARDOSO, M. Prevalência de *Salmonella* em suínos abatidos em frigoríficos do RS. **Pesquisa Veterinária Brasileira** v.24, n.2, p.80-84, abr/jun. 2004.

BESSA, M. C. **Caracterização fenotípica e genotípica de amostras de *Salmonella enterica* sorovar Typhimurium isoladas de suínos no Rio Grande do Sul**. Tese (Doutorado) – Faculdade de Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil, 2006.

BESSA, M.C., *et al.* Phenotypic and genetic characterization of *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium isolated from pigs in Rio Grande do Sul, Brazil. **Research in Veterinary Science** n.83, p.302-310, 2007.

BLAHA, T.H. Manejo da qualidade na granja, segurança alimentar pré-abate e certificação da indústria suinícola. In: Iº Conferência Internacional Virtual sobre Qualidade da Carne Suína. 2001. Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, **Anais**. p 11-16, 2001.

BOLTON, D.J., *et al.* Washing and chilling as critical control points in pork slaughter hazard analysis and critical control point (HACCP) systems. **Journal of Applied Microbiology** n.92, p.893-902, 2002.

BOLTON, D.J., *et al.* Decontamination of pork carcasses during scalding and the prevention of *Salmonella* cross-contamination. **Journal of Applied Microbiology** n.94, p.1036-1042, 2003.

BORCH, E., NESBAKKEN, T., CHRISTENSEN, H. Hazard identification inswine slaughter with respect to foodborne bacteria. **International Journal of Food Microbiology** n.30, p.9-25, 1996.

BOROWSKI, L., *et al.* Sensibilidade e resistência de amostras de *Salmonella* Typhimurium isoladas de suínos abatidos no Rio Grande do Sul/Brasil frente aos desinfetantes químicos quaternários de amônio e iodoform. **Ciência Rural** v36, n.56, p.1474-1479, 2006.

BOROWSKI, L., SCHMIDT V., CARDOSO, M. Estimation of most probable number of *Salmonella* in minced pork samples. **Brazilian Journal of Microbiology** v38, p.544-546, 2007.

BOTTELDOORN, N., *et al.* *Salmonella* on pig carcasses: positive pigs and cross contamination in the slaughterhouse. **Journal of Applied Microbiology** n.95, p.891-903, 2003

BOTTELDOORN, N., *et al.* Phenotypic and Molecular Typing of *Salmonella* Strains reveals Different Contamination Sources in Two Commercial Pig Slaughterhouse. **Applied and Environmental Microbiology** n.70, p.5305-5314, 2004.

BOUVET, J., *et al.* Effects of cutting process on pork meat contamination by verotoxin-producing *Escherichia coli* (VTEC) and *E. coli* O157:H7. **International Journal of Food Microbiology** n.77, p.91-97, 2002.

BOYEN, F. *et al.* Non-typhoidal *Salmonella* infections in pigs: A closer look at epidemiology, pathogenesis and control. **Veterinary Microbiology** n.130, p.1-19, 2008.

BRASIL. **Portaria N°46/1998** - Institui o Sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle – APPCC. Disponível em: [www.agricultura.gov.br](http://www.agricultura.gov.br). 1998.

BRASIL. **Resolução - RDC n° 12** - Regulamento Técnico Sobre Padrões Microbiológicos Para Alimentos. Disponível em: [www.agricultura.gov.br](http://www.agricultura.gov.br). 2001.

BRASIL. **Instrução Normativa N°70/2003** - Programa de Redução de Patógenos. Disponível em: [www.agricultura.gov.br](http://www.agricultura.gov.br). 2003.

BRASIL. **Circular N° 640/2004/DCI/DIPOA** – Uso de descontaminantes de carcaças em estabelecimentos habilitados à exportação. Disponível em: [www.agricultura.gov.br](http://www.agricultura.gov.br). 2004

BRASIL. **Circulares N° 175 e N° 176/2005** - Procedimentos de Verificação dos Programas de Autocontrole. Disponível em: [www.agricultura.gov.br](http://www.agricultura.gov.br). 2005.

BRASIL. **Circular N° 130/2007/CGPE/DIPOA** - Exportações de carne suína para os estados-membros da União Européia. Disponível em: [www.agricultura.gov.br](http://www.agricultura.gov.br). 2007.

BRASIL. **Instrução Normativa N°56/2007** - Plano Nacional de Sanidade Avícola. Disponível em: [www.agricultura.gov.br](http://www.agricultura.gov.br). 2007a.

BRASIL. **Ofício Circular N° 12/2010** – Aves e Suínos – Padronização das frequências e planilhas para a verificação oficial dos elementos de inspeção. Disponível em: [www.agricultura.gov.br](http://www.agricultura.gov.br). 2010.

BRASIL. **Sistema de Informações Gerenciais do Serviço de Inspeção Federal -SIGSIF** - Disponível em: [www.agricultura.gov.br](http://www.agricultura.gov.br). 2011.

BURKHART, K., *et al.* Correlation of *Salmonella* sp. in pigs at slaughter as determined by bacterial culture and *Salmonella* ELISA. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON EPIDEMIOLOGY AND CONTROL OF *SALMONELLA* IN PORK, 2., 1997, Copenhagen. **Proceedings**. Copenhagen, 1997.

CALVEYRA, J.C. **Efeito da adição de ácidos orgânicos e prebióticos na dieta sobre a excreção de *Salmonella* Typhimurium em suínos em fase de crescimento e terminação infectados experimentalmente**. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil, 2010.

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

CARDINALE, E., MAEDER, S., PORPHYRE, V., DEBIN, M. *Salmonella* in fattening pigs in Reunion Island: Herd prevalence and risk factors for infection. **Preventive Veterinary Medicine** n.96, p.281-285, 2010.

CARPENTER, C.E., *et al.* Efficacy of washing meat surfaces with 2% levulinic, acetic, or lactic acid for pathogen decontamination and residual growth inhibition. **Meat Science** (2010), doi/;. 10.1016/j.meatsci.2010.12.032, 2010.

CASEY, P.G. *et al.* A five-strain probiotic combination reduces pathogen shedding and alleviates disease signs in pigs challenged with *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. **Applied and Environmental Microbiology** v.73, n.6, p.1858-1863, 2007.

CASTAGNA, S.M.F. *et al.* Presença de *Salmonella* sp. no trato intestinal, em tonsilas/linfonodos submandibulares de suínos ao abate. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia** v. 56, n. 3, p. 300-306, June 2004a.

CASTAGNA, S.M.F. *et al.* Prevalência de suínos portadores de *Salmonella* sp. ao abate e contaminação de embutidos frescal. **Acta Scientiae Veterinariae** v. 32, n.2, p. 141-147. 2004b.

CHRISTENSEN, J.; RUDEMO, M. Multiple change-point analysis applied to the monitoring of *Salmonella* prevalence in Danish pigs and pork. **Preventive Veterinary Medicine** n.36, p.131 – 143, 1998.

CHRISTENSEN, J. *et al.* *Salmonella* level of Danish herds based on serological examination of mest-juice samples and *Salmonella* occurrence measured by bacteriological follow-up. **Preventive Veterinary Medicine** n.40, p.277 – 292, 1999.

CLARKE, R.C.; GYLES, C.L. *Salmonella*. In: GYLES, C.L.; CHARLES, O.T. **Pathogenesis of bacterial infections in animals** 2 ed. Ames: Iowa State University, 1993. p. 133-153, 1993.

CORTIÑAS ABRAHANTES, J. *et al.* *Salmonella* serosurveillance: Different statistical methods to categorize pig herds based on serological data. **Preventive Veterinary Medicine** n. 89, p.59-66, 2009.

CROWLEY, H. Enterobacteriaceae in beef products from retail outlets in Republic of Ireland and comparison of the presence and counts of *E. coli* O157:H7 in these products. **Food Microbiology** n.22, p.409-414, 2005.

DAVIES, R.H., MCLAREN, I.M., BEDFORD, S. Distribution of *Salmonella* contamination in two pig abattoirs. In INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON EPIDEMIOLOGY AND CONTROL OF *SALMONELLA* IN PORK 3. Pp. 267-272. **Proceedings**. Washington, D.C. 1999.

DE BUSSER, E.V., *et al.* *Salmonella* contamination rate along the slaughter line in 5 different Belgian slaughterhouses. In: IPVS CONGRESS, 20. 2008, Durban, South Africa. **Proceedings**. Durban, 2008. p. 180, 2008.

DE BUSSER, E.V. *et al.* Detection and characterization of *Salmonella* in lairage, on pig carcasses and intestines in five slaughterhouses. **International Journal of Food Microbiology** (2011), doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2011.01.009. 2011.

DELHALLE, L., *et al.* *Salmonella* surveillance and control at post-harvest in the Belgian pork meat chain. **Food Microbiology** n.26, p.265-271, 2009.

DORN-IN, S., *et al.* A cross-sectional study of *Salmonella* in pre-slaughter pigs in a production compartment of northern Thailand. **Preventive Veterinary Medicine** n.88, p. 15-23, 2009.

DORR, P.M., *et al.* Longitudinal study of *Salmonella* dispersion and role of environmental contamination in commercial swine production systems. **Applied and Environmental Microbiology** v.75, n.6, p.1478-1486, 2009.

DUFRENNE, J., *et al.* Quantification of the Contamination of Chicken and Chicken Products in the Netherlands with *Salmonella* and *Campylobacter*. **Journal of Food Protection** n.64, p.538-541, 2001.

EFSA. Opinion of the Scientific Panel on Biological Hazards on the request from Commission related to “Risk assessment and mitigation options of *Salmonella* in pig production”. **EFSA Journal** 341, 1-131. Disponível em: [www.efsa.europa.eu](http://www.efsa.europa.eu), 2006.

EFSA. Opinion from the Scientific Panel on Biological Hazards on the evaluation of the efficacy of L (+) Lactic acid for carcass decontamination - “Evaluation of the efficacy of the lactic acid on poultry carcasses”. **EFSA Journal** 342, 1-6. Disponível em: [www.efsa.europa.eu](http://www.efsa.europa.eu), 2006a.

EFSA. Report of the Task Force on Zoonoses Data Collection on the analysis of the baseline survey on the prevalence of *Salmonella* in slaughter pigs, Part A: *Salmonella* prevalence estimates. **EFSA Journal** 135, 1-111. Disponível em: [www.efsa.europa.eu](http://www.efsa.europa.eu), 2008a.

EFSA. Report of the Task Force on Zoonoses Data Collection on the Analysis of the baseline survey on the prevalence of *Salmonella* in slaughter pigs, Part B: factors associated with *Salmonella* infection in lymph nodes, *Salmonella* surface contamination of carcasses, and the distribution of *Salmonella* serovars. **EFSA Journal** 206, 1-111. Disponível em: [www.efsa.europa.eu](http://www.efsa.europa.eu), 2008b.

EFSA. Analysis of the baseline survey on the prevalence of *Salmonella* in holdings with breeding pigs, in the EU, 2008, Part A: *Salmonella* prevalence estimates. **EFSA Journal** 2009; 7(12): [93 pp.]. doi:10.2903.1377. Disponível em: [www.efsa.europa.eu](http://www.efsa.europa.eu), 2009.

EFSA. Quantitative Microbiological Risk Assessment on *Salmonella* in slaughter and Breeder pigs: Final Report. **EFSA Journal** 2010 (Accepted for Publication on 12/04/2010); 1-437. Disponível em: [www.efsa.europa.eu](http://www.efsa.europa.eu), 2010

ESCARTIN, E.F., *et al.* Incidence and level of *Salmonella* serovars in raw pork obtained from Mexican butcher shops. **Food Microbiology** n.12, p.435-439, 1995.

EU. **Regulation (EC) No 2160/2003**. Official Journal of the European Union 12.12.2003.

EU. **Regulation (EC) No 853/2004** of the European Parliament and of the Council of 29 April 2004 laying down specific hygiene rules for food of animal origin. 2004.

EU. **Regulation (EC) No 2073/2005** on microbial criteria for foodstuffs. Official Journal of the European Union. L 338, 22.12.2005.

FEDORKA-CRAY, P.J., *et al.* Transmission of *Salmonella* Typhimurium to swine. **Veterinary Microbiology** n.41, p.333-344, 1994.

FEDORKA-CRAY, P.; McKEAN, J.D.; BERAN, G.W. Prevalence of *Salmonella* in swine and pork: A farm to consumer study. **ISU Swine Research Report**, 1997. Disponível em: <<http://www.extension.iastate.edu/Pages/ansci/swinereports/asl-1507.pdf>> Acesso em: 03 dezembro de 2010.

FEDORKA-CRAY, P.J.; GRAY, J.T.; WRAY, C. *Salmonella* infection in pigs. In: WRAY, C, WRAY, A. **Salmonella in domestic animals**. New York, CABI, 2000. Cap. 11 p.191-208. 2000.

FIALHO, E. T. *et al.* Análise proximal e ocorrência de Salmonelas em alimentos e concentrados protéicos utilizados em rações de suínos. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Centro Nacional de Pesquisa de Suínos e Aves, 1985. p. 1 – 4. (**Comunicado Técnico**, n. 87), 1985.

FIERENS, H.; HUYGHEBAERT, A. Screening of *Salmonella* in naturally contaminated feeds with rapid methods. **International Journal of Food Microbiology** n.31, p. 301 – 309, 1996.

FIORENTIN, L., *et al.* Oral treatment with bacteriophages reduces the concentration of *Salmonella* Enteritidis PT4 in caecal contents of broilers. **Avian Pathology** v.34, n.3, p.258-263, 2005.

FOSSE, J., *et al.* Prevalence and risk factors for bacterial food-borne zoonotic hazards in slaughter pigs: a review. **Zoonoses and Public Health** n.56, p.429-454, 2009.

FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia de Alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1996. 181 p. 1996.

FSIS, Food Safety and Inspection Service. **Generic HACCP model for pork slaughter**. Disponível em <http://www.fsis.usda.gov/index.htm>, 1999.

FUNK, J.A.; DAVIES, P.R.; NICHOLS, M.A. Longitudinal study of *Salmonella* enterica in growing pigs reared in multiple-site swine production systems. **Veterinary Microbiology** n.83, p.45 – 60, 2001.

FUNK, J.A., HARRIS, I.T., DAVIES, P.R. Comparison of fecal culture and Danish Mix-ELISA for determination of *Salmonella* enterica subsp. enterica prevalence in growing swine. **Veterinary Microbiology** n.107, p.115-126, 2005.

GALLAND, J.C. *et al.* Prevalence of *Salmonella* in beef feeder steers as determined by bacterial culture and ELISA serology. **Veterinary Microbiology** n.76, p.14 –151, 2000.

GARCÍA-FELIZ, C., *et al.* Herd-level risk factors for faecal shedding of *Salmonella* entérica in Spanish fattening pigs. **Preventive Veterinary Medicine** n.91, p.130-136, 2009.

GEIMBA, M.P., *et al.* Serological characterization and prevalence of spvR genes in *Salmonella* sp. isolated from foods involved in foodborne outbreaks occurred in Rio Grande do Sul, South of Brazil. **Journal of Food Protection** n. 6.7, p. 1229-1233, 2004.

GHAFIR, Y., DAUBE, G. Comparison of swabbing and destructive methods for microbiological pig carcass sampling. **Applied Microbiology** n.47, p.322-326, 2008.

GILL, C.O., BRYANT, J. The presence of *Escherichia coli*, *Salmonella* and *Campylobacter* in pigs carcasses dehairing equipment. **Food Microbiology** n.10, p.337-344, 1993.

GILL, C.O. *et al.* Microbiological effects of carcass decontaminating treatments at four beef packing plants. **Meat Science** n.65, p.1005-1011, 2003.

GOLDBACH, S.G., *et al.* A cost-benefit analysis of *Salmonella*-control strategies in Danish pork production. **Preventive Veterinary Medicine** n.77, p.1-14, 2006.

GOODE, D., *et al.* Reduction of experimental *Salmonella* and *Campylobacter* contamination of chicken akim by application of lytic bacteriophages. **Applied and Environmental Microbiology** v.69, n.8, p.5032-5036, 2003.

GRIMONT, *et al.* Taxonomy of the Genus *Salmonella*. In: Wray, C. & Wray, A. (ed.) **Salmonella in domestic animals**. Londres, UK, p.567-578, 2000.

GUIBOURDENCHE, M. *et al.* Supplement 2003 – 2007 (No. 47) to the White-Kauffmann-Le Minor scheme. **Research in Microbiology** n.161, p.26-29, 2010.

HAESEBROUCK, F. *et al.* Efficacy of vaccines against bacterial disease in swine: what can we expect? **Veterinary Microbiology** n.100, p.255-268, 2004.

HALD, T., WEGENER, H.C. Quantitative assessment of the sources of human salmonellosis attributable to pork. IN: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON EPIDEMIOLOGY AND CONTROL OF *SALMONELLA* IN PORK 3, 1999, Washington DC. **Proceedings**, pp 200-205. Washington DC, August 1999.

HAUTEKIET, V., *et al.* Development of a sanitary risk index for *Salmonella* in pig husbandry. In: IPVS CONGRESS, 19. 2006, Copenhagen, Denmark. **Proceedings**. Copenhagen, 2006. p. 372, 2006.

HERRERA-LEON, S., *et al.* Blind comparison of traditional serotyping with three multiplex PCRs for the identification of *Salmonella* serotypes. **Research in Microbiology** n.158, p.122-127, 2007.

HIRSH, D.C. *Salmonella*. In: BIBERSTEIN, D.V.M.; ZEE, Y.C. **Review of veterinary microbiology**. Boston: Blackwell Scientific Publications, Inc., 1990. p. 110-115, 1990.

HOLT, J. G.; KRIEG, N. R.; SNEATH, P. H. *et al.* **Bergey's Manual of Determinative Bacteriology**. 9.ed. Williams & Wilkins, 1994. 787 p, 1994.

HUFFMAN, R.D., *et al.* Current and future technologies for the decontamination of carcasses and fresh meat. **Meat Science** v.62, n.3, p.285-294, 2002.

HUGAS, M., EIRINI, T. Pros e cons of carcass decontamination: The role of the European Food Safety Authority. **Meat Science** v.78, p.43-52, 2008.

- HURD, H.S., *et al.* The effect of lairage on *Salmonella* isolation from market swine. **Journal of Food Protection** n.64, p.939-944, 2001.
- HURD, H.S. *et al.* *Salmonella* enterica infections in market swine with and without transport and holding. **Applied and Environmental Microbiology** v.68, n.5, p. 2375 – 2381, 2002a.
- HURD, H.S., *et al.* Measuring *Salmonella* prevalence in finish swine; evaluation of three methods In: IPVS CONGRESS, 17., 2002, Iowa. **Proceedings**. Iowa: IPVS, 2002b. p. 313, 2002b.
- HURD, H.S., *et al.* Risk-based analysis of the Danish pork *Salmonella* program: past and future. **Risk Analysis** n.28, p.341-351, 2008.
- KICH, J.D., *et al.* Fatores associados à soroprevalência de *Salmonella* em rebanhos comerciais de suínos. **Ciência Rural** v. 35, n.2, p.398-405, 2005.
- KICH, J.D., *et al.* Development and application of an enzyme-linked immunosorbed assay to antibodies against prevalent *Salmonella* serovars in swine in southern Brazil. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**. Sep; 19(5):510-517, 2007.
- KOOHMARAIE, M., *et al.* Post-harvest interventions to reduce/eliminate pathogens in beef. **Meat Science** n.71, p.79-91, 2005.
- KRANKER, S. *et al.* Longitudinal investigation of *Salmonella* Typhimurium in integrated swine herds In: IPVS CONGRESS, 17., 2002, Iowa. **Proceedings**. Iowa: IPVS, 2002. p. 317, 2002.
- LATHA, C. *et al.* Sanitizing effects of salts on experimentally inoculated organisms on pork carcasses. **Meat Science** n.83, p.796-799, 2009.
- LAWSON, L.G., *et al.*, Cost-effectiveness of *Salmonella* reduction in Danish abattoirs. **International Journal of Food Microbiology** n.134, p.126-132, 2009.
- LÁZARO, N. S.; TIBANA, A.; HOFER, E. *Salmonella* spp. in healthy swine and in abattoir environments in Brazil. **Journal of Food Protection** v. 60, n. 9, p. 1029-1033, 1997.
- LETELLIER, A. *et al.* Distribution of *Salmonella* in swine herds in Québec. **Veterinary Microbiology** n.67, p.299-306, 1999.
- LETELLIER, A., *et al.* Host response to various treatments to reduce *Salmonella* infections in swine. **Canadian Journal Veterinary Research** July; 65(3): 168-172, 2001.
- LETELLIER, A., *et al.* Risk factors at slaughter associated with presence of *Salmonella* on hog carcasses in Canada. **Journal Food Protection** v.72, n.11, p.2326-2331, 2009.
- LIEBANA, E. Molecular tools for epidemiological investigations of *S. enterica* subspecies enterica infections. **Res. Vet Sci** n.72, p.169-175, 2002.

LIMA, E.S.C., *et al.* Isolamento de *Salmonella* sp. e *Staphylococcus aureus* no processo de abate de suíno como subsídio ao sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle – APPCC. **Pesquisa Veterinária Brasileira** n. 24 (4), p.185-190, 2004.

LO FO WONG, D.M.A, *et al.* Epidemiology and control measures for *Salmonella* in pigs and pork. **Livestock Production Science** n.76, p.215-222, 2002.

LO FO WONG, D.M.A, *et al.* Herd-level risk factors for subclinical *Salmonella* infection in European finishing-pig herds. **Preventive Veterinary Medicine** n.62, p.253-266, 2004.

LOMONACO, S., *et al.* Detection of *Salmonella* in finishing pigs on farm and at slaughter in Piedmont, Italy. **Zoonoses and Public Health** n.56, p.137-144, 2009.

MACIOROWSKI, K.G. *et al.* Cultural and immunological detection methods for *Salmonella* spp. in animal feeds – A Review. **Veterinary Research Communication** n.30, p.127-137, 2006.

McCABE, E.M., *et al.* Validation of DNA and RNA real-time assays for food analysis using the hila gene of *Salmonella enterica* serovars. **Journal of Microbiological Methods** n.84, p.19-26, 2011.

McDOWELL, S.W.J., *et al.* *Salmonella* in slaughter pigs in Northern Ireland: Prevalence and use of statistical modeling to investigate sample and abattoir effects. **International Journal of Food Microbiology** n. 118, p.116-125, 2007.

McFADDIN, J.F. **Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria**. 3<sup>o</sup>ed. 2000. Ed. Lippincott Williams e Wilkins. 2000.

McGUINNESS, S., *et al.* Development and validation of a rapid real-time PCR based method for the specific detection of *Salmonella* on fresh meat. **Meat Science** n.83, p.555-562, 2009.

MAGISTRALI, C.F., *et al.*, 2006. Study on the diffusion of *Salmonella* in a finishing farm. In: IPVS CONGRESS, 19. 2006, Copenhagen, Denmark. **Proceedings**. Copenhagen, 2006. p. 375, 2006.

MAGLIULO, M. *et al.* A rapid multiplexed chemiluminescent immunoassay for the detection of *Escherichia coli* O157:H7, *Yersinia enterocolitica*, *Salmonella typhimurium* and *Listeria monocytogenes* pathogen bacteria. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** n.55, p.4933-4939, 2007.

MICHAEL, G.B. CARDOSO, M.; COSTA, M. Comparison of different selective enrichment steps to isolate *Salmonella* sp. from feces of finishing swine. **Brazilian Journal of Microbiology** v. 34, p. 138-142, May, 2003.

MICHAEL, G.B., CARDOSO, M., SCHWARZ, S. Molecular analysis of *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Agona isolated from slaughter pigs. **Veterinary Microbiology** n.112, p.43-52, 2006.

MIN, J. *et al.* Irradiation and acid treatment for microbial control and the production of biogenic amines in beef and pork. **Food Chemistry** n.104, p.791-799, 2007.

MÔO, D. *et al.* The isolation of *Salmonella* from jejunal and caecal lymph nodes of slaughtered animals. **Australian Veterinary Journal** v.56, p.181-183, Apr., 1980.

MORILD, R.K., *et al.*, Change in attachment of *Salmonella* Typhimurium, *Yersinia enterocolitica* e *Listeria monocytogenes* to pork skin and muscle after water and lactic acid decontamination. **International Journal of Food Microbiology** (2010), doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2010.12.018, 2010.

MOUSING, J. *et al.* Concepts of the integrated *Salmonella enterica* control program in danish pork. In: IPVS CONGRESS. 14., 1996, Bologna, **Proceedings**. Bologna, 1996. p.167, 1996.

MOUSING, J., *et al.* National-wide *Salmonella enterica* surveillance and control in Danish slaughter swine herds. **Preventive Veterinary Medicine** n.29, p.247-261, 1997.

MÜLLER, M. **Comparação da presença de suínos portadores de *Salmonella* sp. no início da fase de terminação e ao abate, em três granjas do Rio Grande do Sul.** Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil, 2005.

MÜLLER, M., *et al.* Perfil sorológico e de isolamento de *Salmonella* sp. em suínos no início da terminação e ao abate. **Ciência Animal Brasileira**, v.10, n.3, p.931-937, 2009.

NASCIMENTO, V.P.; SILVA, A.B. Controle de qualidade de produtos de origem avícola: programas de monitorização em salmonelas. In: CICLO DE CONFERÊNCIAS DA A.V.E., 4., 1994, Porto Alegre. **Anais**. [S.l.:s.n.], 1994.

NIELSEN, B. *et al.* The serological response to *Salmonella* serovars typhimurium and infantis in experimentally infected pigs. The time course followed with na indirect anti-LPS ELISA and bacteriological examinations. **Veterinary Microbiology** n.47, p.205 – 218, 1995.

NISSEN, H., *et al.* Survival and growth of *Escherichia coli* O157:H7, *Yersinia enterocolitica* and *Salmonella enteritidis* on decontamination and untreated meat. **Meat Science** n.57, p.291-298, 2001.

NOGUEIRA, M.G. **Avaliação de probiótico e bacteriófagos líticos para o controle de *Salmonella* sp. em suínos experimentalmente infectados.** Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil, 2010.

NOWAK, B., *et al.* *Salmonella* contamination in pigs at slaughter and on the farm: A field study using antibody ELISA test and a PCR technique. **International Journal of Food Microbiology** n 115, 259-267. 2007.

OLIVE, D.M.; BEAN, P. Principles and applications of methods for DNA-based typing of microbial organisms. **Journal of Clinical Microbiology** v.37, n.6, p.1661-1669, 1999.

OLIVEIRA, C.J.B., *et al*, 2006. Genotyping of *Salmonella* Typhimurium DT 104 isolates from pig farms and a slaughterhouse in Low Saxony, Germany In: IPVS CONGRESS, 19. 2006, Copenhagen, Denmark. **Proceedings**. Copenhagen, 2006. p. 374, 2006.

OLIVEIRA, G. **Avaliação de pontos críticos de contaminação por *Salmonella* sp. no processo da fabricação da farinha de vísceras, destinada à fabrica de rações para aves.** 1996. 64f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias), Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1996.

PEARCE, R.A., *et al*. Studies to determine the critical control points in pork slaughter hazard analysis and critical control point systems. **International Journal of Food Microbiology** n.90, p.331-339, 2004.

PELLEGRINI, D.C.P. *et al*. Frequencia de isolamento de *Salmonella* sp. e de enterobactérias em diferentes áreas de fábrica de ração para suínos. In: 14º Congresso da Associação Brasileira de Veterinários Especialistas em Suínos (ABRAVES) **Anais**. Uberlândia, Minas Gerais. p.311-312, 2009.

PETERSSON, A., *et al*. Comparison of three methods to enumerate gut microbiota of weanling piglets fed insoluble dietary fibre differing in lignin content. **Journal of Agricultural Science** n.148, p.225-232, 2010.

PIPEK, P., *et al*. Decontamination of pork carcasses by steam and lactic acid. **Journal of Food Engineering** n.74, p.224-231, 2006.

PRENDERGAST, D.M., *et al*. Prevalence and number of *Salmonella* spp. and Enterobacteriaceae on pork cuts in abattoirs in Republic of Ireland. **Journal of Applied Microbiology** n.105 p.1209-1219, 2008.

PRENDERGAST, D.M., *et al*. Prevalence, number and characteristics of *Salmonella* sp. on Irish retail pork. **International Journal of Food Microbiology** n. 131 p. 233-239, 2009.

QUINN, P.J.; *et al*. **Microbiologia Veterinária e Doenças Infecciosas**, Artmed, Porto Alegre, 2005

RAJIC, A. *et al*. *Salmonella* infections on 90 farms in Alberta: Farm prevalence and risk factors In: IPVS CONGRESS, 17., 2002, Iowa. **Proceedings**. Iowa: IPVS, 2002a. p. 316, 2002a.

RAJIC, A. *et al*. *Salmonella* occurrence and serotype diversity on 90 finishing farms in Alberta In: IPVS CONGRESS, 17., 2002, Iowa. **Proceedings**. Iowa: IPVS, 2002b. p. 315, 2002b.

RAJKOVIC, A., *et al.* Contemporary strategies in combating microbial contamination in food chain. **International Journal of Food Microbiology** n.141, p.529-542, 2010.

REEVES, M.W. *et al.* Clonal nature of *Salmonella typhi* and its genetic relatedness to other Salmonellae as show by multilocus enzyme electrophoresis, and proposal of *Salmonella bongori* comb. nov. **Journal of Clinical Microbiology** v.27, n.2, p.313-320, 1989.

RIBOT, E., M. FAIR, *et al.*. Standardization of Pulsed-Field Gel Electrophoresis Protocols for the Subtyping of Escherichia coli 0157:H7, Salmonella, and Shigella for PulseNet. **Foodborne Pathogens and Disease**. S. P. Oliver, Mary Ann Liebert, Inc. 3: 59-67. (2006)

ROSSEL, R., *et al.* Bayesian networks to identify factors associated with *Salmonella* isolation on pork carcasses. In: IPVS CONGRESS, 20. 2008, Durban, South Africa. **Proceedings...** Durban, 2008. p.177, 2008.

ROSTAGNO, M.H. *et al.* *Salmonella* infection in market swine during pre-slaughter holding. In: IPVS CONGRESS, 17., 2002, Iowa. **Proceedings...**Iowa, 2002a. v. 1, p. 149, 2002a

ROSTAGNO, M.H. *et al.* Comparative evaluation of *Salmonella* detection assays on swine fecal samples In: IPVS CONGRESS, 17., 2002, Iowa. **Proceedings**. Iowa: IPVS, 2002b. p. 311, 2002b.

ROSTAGNO, M.H. *et al.* Preslaughter holding environmental in pork plants is highly contaminated with *Salmonella enterica*. **Applied and Environmental Microbiology** v.69, p.4489-4494, 2003.

ROSTAGNO, M.H., *et al.* Prevalence of *Salmonella enterica* and *Salmonella enterica* serotype Typhimurium in swine at slaughter. In: IPVS CONGRESS, 19. 2006, Copenhagen, Denmark. **Proceedings**. Copenhagen, 2006. p. 213. 2006.

ROSTAGNO, M.H. *et al.* Does pre-slaughter stress affect pork safety risk? In: IPVS CONGRESS, 21th., 2010, Vancouver. **Proceedings**. Vancouver: IPVS, 2010. p. 176, 2010.

SANDBERG, M. *et al.* An evaluation of the Norwegian *Salmonella* surveillance and control program in live pig and pork. **International Journal of Food Microbiology** n.72, p. 1 – 11, 2002.

SCHLOSSER, W., *et al.* Analysis of *Salmonella* serotypes from selected carcasses and raw ground products sampled prior to implementation of the Pathogen Reduction; Hazard analysis and Critical Control Point Final Rule in the US. **International Journal of Food Microbiology** n.58, p.107-111, 2000.

SCHWARTZ, K. J. Salmonellosis. In: STRAW, B. E.; D'ALLAIRE, S.; MENGELING, W. L. *et al.* (Eds.). **Diseases of Swine**. 8th ed., Ames: Iowa State University Press, 2000. cap.39, p. 535-551, 2000.

SCHWARZ, P. *et al.* Longitudinal study of *Salmonella enterica* infection in a swine herd in southern Brazil. In: IPVS CONGRESS, 19. 2006, Copenhagen, Denmark. **Proceedings**. Copenhagen, 2006. p. 376, 2006.

SCHWARZ, P., **Estudo de fatores de risco e avaliação de vacinação para *Salmonella* sp. em diferentes sistemas de produção de suínos brasileiros.** Tese (Doutorado) - Faculdade de Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil, 2009.

SCHWARZ, P. *et al.* *Salmonella enterica*: isolamento e soroprevalência em suínos abatidos no Rio Grande do Sul. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.61, n.5, p.1028-1034, 2009b.

SEIXAS, F.N. *et al.* Presença de *Salmonella* sp. em carcaças suínas amostradas em diferentes pontos da linha de processamento. **Ciência Animal Brasileira**, v.10, n.2, p.634-640, 2009.

SHELOBOLINA, E.S., *et al.* Isolation, characterization and U(VI)-reduction potential of a facultatively anaerobic, acid-resistant bacterium from low-pH, nitrate- and U(VI) contaminated subsurface sediment and description of *Salmonella subterranea* sp. **Applied and Environmental Microbiology** v.70, n.5, p.2959-2965, 2004.

SILVA, L.E. *et al.* Infecção por *Salmonella* entérica em suínos criados em um sistema integrado de produção do sul do Brasil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia** v.58, n.4, p.455-461, 2006.

SILVA, M.C.. *et al.* Prevalência de *Salmonella* sp. em suínos abatidos no Estado de Mato Grosso. **Ciência Rural** v.39, n.1, p.266-268, 2009.

SILVA, N. *et al.* **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água.** 4 ed. São Paulo. Livraria Varela, 632p. 2010

SINELL, H.J, *et al.* Estimation of most probable number of *Salmonella* in retail samples of minced pork. **International Journal of Food Microbiology** n.11, p.135-141, 1990.

SOFOS, J.N., *et al.* Nonacid meat decontamination technologies: Model studies and commercial applications. **International Journal of Food Microbiology** n.44 (3), p.171-188, 1998.

SORENSEN, L.L., *et al.* The correlation between *Salmonella* serology and isolation of *Salmonella* in Danish pigs at slaughter. **Veterinary Microbiology** n 101, p.131-141, 2004.

SPOLAORE, A.J.G. **Prevalência de *Salmonella* sp. em linfonodos mesentéricos de suínos abatidos na região oeste do paraná e potencial de dissemina em bandejas, facas e luvas de manipuladores durante a inspeção post-mortem.** Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Paraná, Brasil, 2007.

STEGE, H. *et al.* Prevalence of subclinical *Salmonella enterica* infection in Danish finishing pig herds. **Preventive Veterinary Medicine** n. 44, p.175–188, 2000.

SWANENBURG, M. *et al.* Epidemiological investigations into the sources of *Salmonella* contamination of pork. **Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift** v.114, p. 356-359, 2001a.

SWANENBURG, M. *et al.* *Salmonella* in the lairage of pig slaughterhouses. **Journal of Food Protection** v.64, n.1, p.12-16, 2001b.

SWANENBURG, M. *et al.* *Salmonella* in slaughter pigs: prevalence, serotypes and critical control points during slaughter in two slaughterhouses. **International Journal Food Microbiology** n.70, p.243-254, 2001c.

SWANENBURG, M. *et al.* *Salmonella* in slaughter pigs: the effect of logistic slaughter procedures of pigs on the prevalence of *Salmonella* in pork. **International Journal of Food Microbiology** n.70, p.231-242, 2001d.

TEIXEIRA, S.R. **Detecção de *Salmonella* spp. em amostras de fezes, linfonodos e carcaças de suínos no momento do abate.** Dissertação (Mestrado). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, Brasil, 2006.

TEUNIS, P.F.M. *et al.* Dose-response modeling of *Salmonella* using outbreak data. **International Journal of Food Microbiology** n.144, p.243-249, 2010.

TOMA, B. *et al.* **Applied Veterinary Epidemiology and the Control of Disease in Populations.** 1 ed. AEEMA, France, 1999.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia.** 8 ed. Porto Alegre: Artmed, 894 p. 2005.

VAN DER GAAG, M.A. *et al.* A state-transition simulation model for the spread of *Salmonella* in the pork supply chain. **European Journal of Operational Research** n.156, p.782-798, 2004.

VAN DER WOLF, P.J. *et al.* *Salmonella* infections in finishing pigs in the Netherlands: bacteriological herd prevalence, serogroup and antibiotic resistance of isolates and risk factors for infection. **Veterinary Microbiology** n.67, p.263 – 275, 1999.

VAN DER WOLF, P.J. *et al.* Herd level husbandry factors associated with the serological *Salmonella* prevalence in finishing pig herds in The Netherlands. **Veterinary Microbiology** n.78,. p.205 – 219, 2001.

VAN WINSEN, R.L. *et al.* Monitoring of transmission of *Salmonella* enterica serovars in pigs using bacteriological and serological detection methods. **Veterinary Microbiology**, n. 80, p.267 – 274, 2001.

VARNAM, A H.; EVANS, M. G. *Salmonella.* In: **Foodborne Pathogens an Illustrated Text.** cap. 4 Aylesbury, England: Wolf, 1991 p. 51 – 462. 1991.

VIEIRA PINTO, M., TENREIRO, R., MARTINS, C. Unveiling contamination sources and dissemination routes of *Salmonella* sp. in pigs at a Portuguese slaughterhouse through macrorestriction profiling by pulsed-field gel electrophoresis. **International Journal of Food Microbiology** n.110, p.77-84, 2006.

VIEIRA\_PINTO, M., *et al.* Relationship between tonsils and mandibular lymph nodes concerning *Salmonella*. **Infection Food Research International**. Doi: 10.1016/j.foodres.2010.09.023. (Manuscrito não editado, aceito para publicação), 2010.

VON RÜCHTER, D.A.S. **Comparação dos métodos microbiológicos convencional, imunoanálise e reação da polimerase em cadeia (PCR) no monitoramento de *Salmonella* sp. em frangos durante o abate.** Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Viçosa, 2006.

VYT, P., *et al.*, 2006. Effect of transport and holding on *Salmonella* shedding in Slaughter pigs. In: IPVS CONGRESS, 19. 2006, Copenhagen, Denmark. **Proceedings**. Copenhagen, 2006. p. 214, 2006.

WEGENER, H.C., *et al.* *Salmonella* control programs in Denmark. **Emerg. Infect. Dis.** n.9, p.774-780, 2003.

WILCOCK, B. P.; SCHWARTZ, K. J.; Salmonellosis. In LEMAN, A. D. *et al.* **Diseases of Swine**, 7 ed. Ames: Iowa State University Press, 1993. p.570-583, 1993.

WILLIAMS, L. P.; NEWELL, K. N. *Salmonella* excretion in joy ridings pigs. **American Journal Public Health** v.60, p.926 – 929, 2001.

WONDERLING, L. *et al.* Use of pulse-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** n.69, p.4177-4182, 2003.

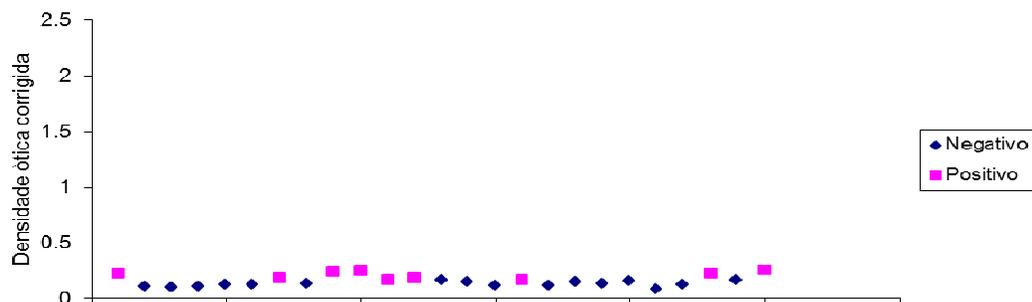
WU, CHIH-CHUAN, *et al.* Evaluation of a polymerase chain reaction-based system for detecting *Salmonella* species from pork carcass sponge samples. **Journal of Food Science** n.68, p.992-995, 2003.

YOSHIMASU, M.A. *et al.* Application of rapid dot blot immunoassay for detection of *Salmonella enterica* serovar *Enteritidis* in eggs, poultry and other foods. **Applied and Environmental Microbiology** n.67, p.459-461, 2001.

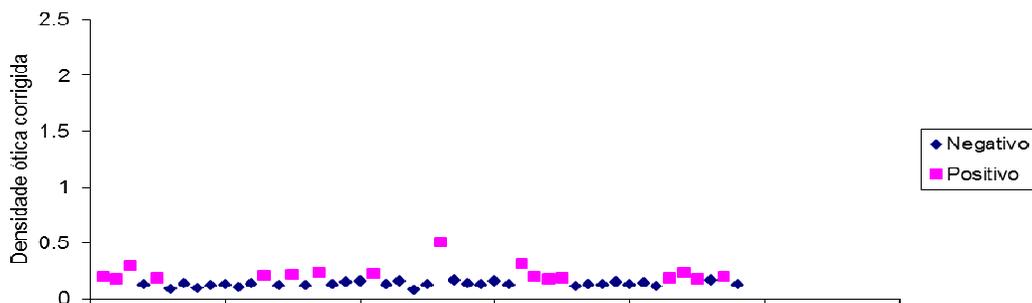
## APÊNDICES

**APÊNDICE A.** Nível sorológico dos lotes amostrados nas coletas do Frigorífico A.  
Animal Positivo= Densidade Ótica Corrigida > 0,169.

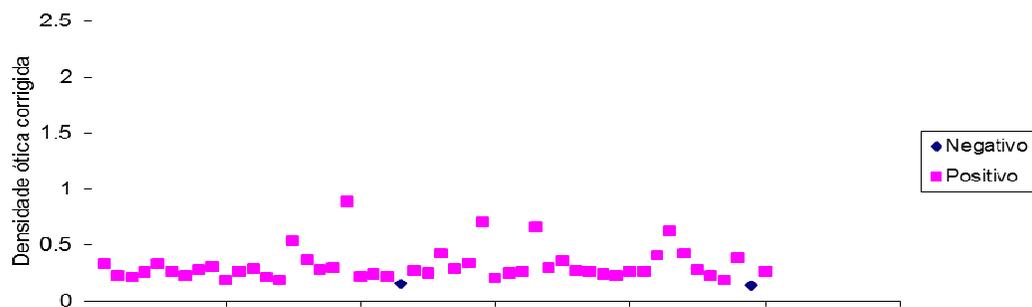
**Frigorífico A - primeira visita**



**Frigorífico A - segunda visita**

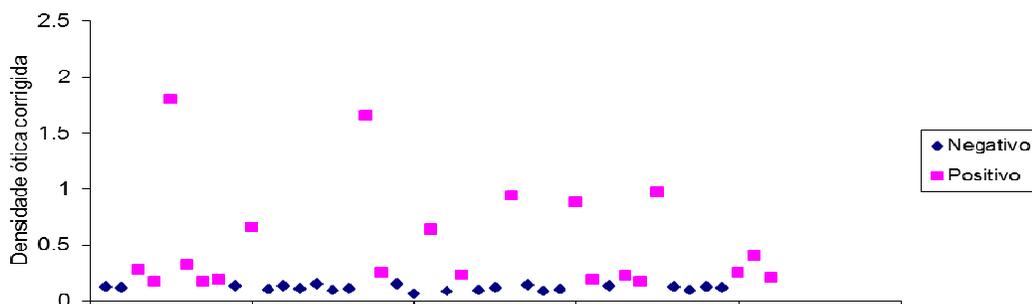


**Frigorífico A - terceira visita**

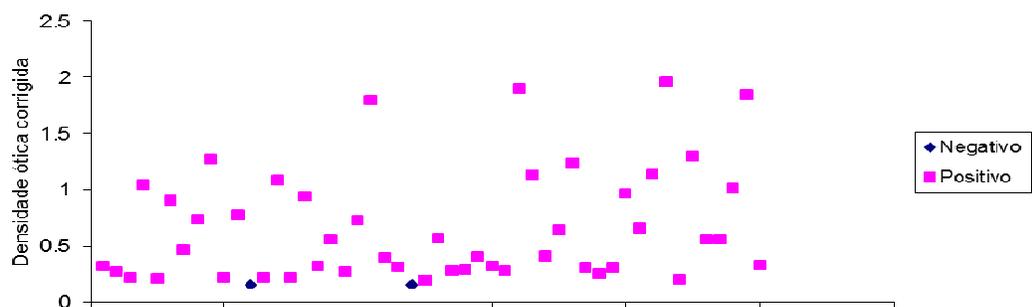


**APÊNDICE B.** Nível sorológico dos lotes amostrados nas coletas do Frigorífico B.  
Animal Positivo= Densidade Ótica Corrigida > 0,169.

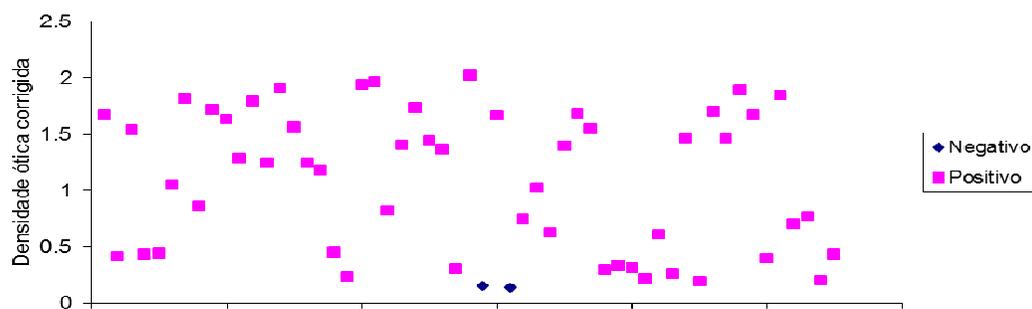
**Frigorífico B - primeira visita**



**Frigorífico B - segunda visita**

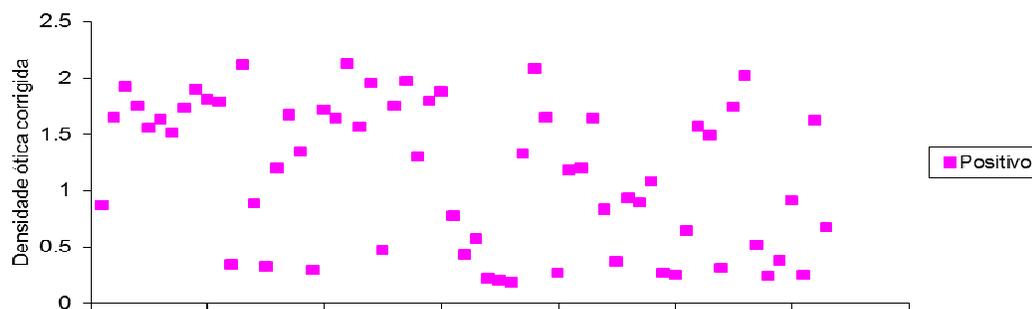


**Frigorífico B - terceira visita**



**APÊNDICE C.** Nível sorológico dos lotes amostrados nas coletas do Frigorífico C.  
Animal Positivo= Densidade Ótica Corrigida > 0,169.

**Frigorífico C - primeira visita**



**Frigorífico C - segunda visita**

