

JOÃO PAULO ZUFFO

**REDUÇÃO DE ÍNDICES DE *Salmonella* spp. EM SUÍNOS NO
ABATEDOURO ATRAVÉS DO USO DE BANHO DAS
CARCAÇAS COM ÁGUA A 80°C**

Dissertação apresentada ao Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina no Programa de Pós Graduação em Ciência Animal, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Orientadora: Dra. Eliana Knackfuss Vaz

Co-orientador: Dra. Sandra Ferraz

LAGES, SC

2015

Z94r Zuffo, João Paulo

Redução de índices de *Salmonella* spp. em suínos no abatedouro através do uso de banho das carcaças com água a 80°C / João Paulo Zuffo - Lages, 2015.
85 p.: il.; 21 cm

Orientadora: Eliana Knackfuss Vaz

Coorientadora: Sandra Ferraz

Bibliografia: p. 60-83

Dissertação (mestrado) - Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Lages, 2015.

1. Suínos. 2. *Salmonella*. 3. Água quente. 4. Contagem. 5. Carcaça suína. I. Zuffo, João Paulo. II. Vaz, Eliana Knackfuss. III. Universidade do Estado de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. IV. Título

CDD: 636.40896 - 20.ed.

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Setorial do
CAV/ UDESC

JOÃO PAULO ZUFFO

**REDUÇÃO DE ÍNDICES DE *Salmonella* spp. EM SUÍNOS NO
ABATEDOURO ATRAVÉS DO USO DE BANHO DAS
CARCAÇAS COM ÁGUA A 80°C**

Dissertação apresentada ao curso de Pós Graduação em Ciência Animal,
como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre

BANCA EXAMINADORA

Orientadora: _____
Prof. Dra. Eliana Knackfuss Vaz
Universidade do Estado de Santa Catarina

Membro: _____
Prof. Dra. Sandra Ferraz
Universidade do Estado de Santa Catarina

Membro: _____
Prof. Dr. Felipe Nael Seixas
IFSC – Instituto Federal de Santa Catarina

LAGES/SC, 03 DE MARÇO DE 2015.

Dedico este trabalho a minha família, que descobriram na instrução e no trabalho uma bela maneira de desenhar a vida.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por mais uma etapa cumprida e pela certeza diária da proteção e luz independente da adversidade que ocorra.

A Mônica, minha mulher, pelo amor, parceria e amizade de longa data, pela família que temos, pelo otimismo de nunca desistir, pelo conforto nas horas difíceis, pela alegria de viver nas horas felizes, pela companhia perfeita e parceria eterna, pelo exemplo de luta e dedicação, te amo.

A minha família, pela união, pelo exemplo de retidão e luta, principalmente aos meus pais por me ensinarem a batalhar pelos meus ideais, estendendo a toda minha grande família (meus irmãos e minha irmã, meu cunhado, minhas cunhadas, meu sogro e sogra, e também meus sobrinhos), que sempre estão por perto e fazem a minha vida e a da Mônica ter sentido.

A Suri e a Lolla, que incansavelmente alegam nossos dias, tornam o fardo mais leve e nos desligam completamente de qualquer aborrecimento.

A minha orientadora professora Eliana, pelo exemplo, pela paciência, e dedicação. Por aceitar orientar por tanto tempo um aluno de mestrado, e também de graduação, pelos conselhos e amizade, e também a co-orientadora Sandra pelos conselhos e ajuda.

A Priscilla, em nome da BRF, pela oportunidade de realizar o mestrado trabalhando, pelo suporte de estrutura e insumos para realizar o experimento e pelo incentivo recebido. A Priscilla como amiga, pela ajuda na escolha do projeto, pela incansável defesa frente as adversidades, pela amizade e parceria ao longo destes anos e por toda as oportunidades que me proporcionou.

As equipes dos Laboratórios de Concórdia e Videira: Sem vocês eu não teria conseguido, seguraram a onda com dedicação nos momentos que tinha que me ausentar, e em

especial pela ajuda no projeto, pelo mutirão que a equipe de Concórdia fez por duas vezes para que conseguíssemos obter os resultados, vocês são todos muito especiais.

Ao meu amigo Scalco, pelas longas conversas até Lages, pela parceria e companhia. Chegamos lá meu amigo.

A equipe do laboratório Cedima pela ajuda, pelos conselhos e orientações, a Alais pela ajuda, pelas matrículas pelo material cedido.

A todos os que torceram para que esta etapa em minha vida se concretizasse.

“... A menos que modifiquemos a nossa maneira de pensar, não seremos capazes de resolver os problemas causados pela forma como nos acostumamos a ver o mundo”.

Albert Einstein

RESUMO

A salmonelose suína tem relevante importância econômica e na segurança alimentar, pois além de ser causadora de toxinfecções alimentares em humanos, está presente em larga escala nos suínos de terminação, devido à latência em linfonodos e as condições de criação. O objetivo deste trabalho foi avaliar a redução na contagem de *Salmonella* spp. em carcaças de suínos ao abate após as mesmas serem submetidas a banho com água a 80°C. Foram amostradas 90 carcaças de suínos após abate em quatro pontos de colheita (pernil, lombo, barriga e papada), antes e após a aplicação de banho com água a 80°C, num total de 720 amostras, com análise quantitativa por NMP. No abatedouro 43% dos animais foram positivos antes da aplicação da água quente representado por 62 amostras positivas. Após a intervenção 89% dos positivos zeraram as contagens, em sete amostras não houve redução e em 11 amostras houve positividade em animais anteriormente negativos. As amostras com maior redução na contagem foram amostras de papada e barriga com concentração de índices de 330NMP/g que posteriormente zeraram. O tratamento com banho de água quente nas carcaças foi eficiente, com diferença significativa de positividade antes e após a intervenção. Houveram casos de contaminação cruzada após a intervenção em animais que permaneceram positivos e animais negativos. As tipificações de todos os positivos foram *Salmonella* Typhimurium.

Palavras-chave: Suínos, *Salmonella*, Água quente, Contagem, Carcaça suína.

ABSTRACT

The swine salmonellosis has significant importance in economic and food security, as well as being a cause of food poisoning in humans, is present in large scale in finishing swine, due to the latency in lymph nodes and the rearing conditions. The objective of this study was to evaluate the reduction in the count of *Salmonella* in pig carcasses at slaughter after being subjected to the same water bath at 80 ° C. Were sampling 90 swine carcasses after slaughter were sampled at four sampling points (ham, loin, belly and jowl), before and after applying water bath at 80 ° C a total of 720 samples and quantitative analysis by NMP. At slaughter 43% of the animals were positive prior to application of the hot water 62 represented by positive samples. After the intervention, 89% of positive counts zeroed in seven samples and no reduction in 11 samples was positive in previously negative animals. Samples with greater reduction in counting samples were jowls and belly with concentration indices 330NMP / g which subsequently zeroed. The treatment bath of hot water in the carcasses was effective, with a significant difference in positivity before and after the intervention. There were cases of cross-contamination after the intervention in animals maintained positive and negative animals. Typing of all positives were *Salmonella* Typhimurium.

Key words: Swine, *Salmonella*, Hot water, Count, Swine carcasses.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 - Contagem de NMP/g das amostras positivas antes do banho com água a 80°C, que após o tratamento zeraram as contagens, e sua distribuição nos pontos amostrados..... 55
- Figura 2 - Contagem de NMP/g das amostras que permaneceram positivas antes e após o banho com água a 80°C, e sua distribuição nos pontos amostrados.....56
- Figura 3 - Contagem de NMP/g das amostras que foram negativas antes do banho com água a 80°C, mas apresentaram contagem após o tratamento e sua distribuição nos pontos amostrados..... 56

LISTA DE TABELA

Tabela 1 - Número absoluto e percentuais de amostras positivas antes e após o banho com água a 80°C, segregados por área amostrada..	54
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

APPCC	Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle
BPF	Boas Práticas de Fabricação
CAV	Centro de Ciências Agroveterinárias
CDC	Centro de Controle e prevenção de Doenças
CEDIMA	Centro de Diagnóstico Microbiológico Animal
DNA	Ácido Desoxirribonucléico
DTA	Doenças Transmitidas por Alimentos
IgA	Imunoglobulina A
kDa	Quilodalton
LIA	<i>Agar Lisina Ferro</i>
LPS	Lipopolissacarídeo
MSRV	<i>Rappaport Vassiliardis semi-solid medium</i>
NMP	Número mais provável
NMP/g	Número mais provável por grama
OMS	Organização Mundial da Saúde
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
SPI	Ilhas de Patogenicidade
TSI	<i>Triple Sugar Iron</i>
UDESC	Universidade do Estado de Santa Catarina
XLT4	<i>Xilose Lisina Tergitol 4</i>

LISTA DE SÍMBOLOS

μm	Micras
<	Menor que
log	Logaritmo
mL	Militro
®	Marca Registrada
°C	Graus Celsius
g	Grama
μL	Microlitro
spp	Espécies
Kg	Quilograma
%	Porcentagem
X^2	Qui-quadrado

ANEXOS

- Anexo 1 - Tipificação por microarranjo de *Salmonella* spp., tendo os genes capsulares e flagelares como referencia para detecção. 84
- Anexo 2 - Número mais provável para uma quantidade inoculada de 0,1/ 0,01 e 0,001g..... 85

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	29
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	31
2.1 ETIOLOGIA	32
2.2 EPIDEMIOLOGIA, PATOLOGIA E INTERAÇÃO COM HOSPEDEIRO	33
2.3 FATORES DE VIRULÊNCIA	35
2.3.1 Adesinas	35
2.3.2 Fimbrias.....	36
2.3.3 Invasão celular e produção de mediadores químicos	37
2.3.4 Ilhas de Patogenicidade - SPI.....	38
2.3.5 Plasmídeos.....	40
2.4 <i>Salmonella</i> E O HOMEM	420
2.5 INTERVENÇÕES PARA O CONTROLE E REDUÇÃO DE <i>Salmonella</i> NO FRIGORIFICO.....	42
3 ARTIGO.....	48
RESUMO	48
ABSTRACT	49
3.1 INTRODUÇÃO	50
3.2 MATERIAIS E MÉTODOS	51
3.2.1 Animais e coletas das amostras.....	51
3.2.2 Isolamento bacteriano e identificação das amostras do frigorífico	52
3.2.3 Análise Estatística	53
3.3 RESULTADOS	53
3.4 DISCUSSÃO.....	57
3. 5 CONCLUSÃO	59
3.6 AGRADECIMENTO	59
3.7 REFERÊNCIAS	60
4 REFERÊNCIAS	67
5 ANEXOS	84

1 INTRODUÇÃO

A produção global das três principais fontes de proteína cárnea para o consumo humano (ave, boi e suíno) deve crescer em 2014, com previsão de 260,3 milhões de toneladas, alta de 1,1% sobre a produção obtida em 2013 (USDA, 2014).

A carne suína é a mais popular no mundo, ocupando 42,5% do segmento (FAO; ProdStat, 2014). O Brasil é o 4º maior produtor mundial de carne suína atingindo índices de 3,3 milhões de toneladas/ano. Superando estes valores somente temos a China a União Europeia e os Estados Unidos. Também nas exportações da carne suína, o Brasil ocupa o quarto lugar com 600 mil toneladas/ano, mas diferente da produção, neste quesito os três primeiros lugares são Estados Unidos, União Europeia e Canadá (USDA; ABIPECS, 2013).

No Brasil, Santa Catarina é o estado que mais exporta carne suína. Mensalmente cerca de 19,4 mil toneladas são destinados ao mercado externo rendendo cerca de U\$ 72 milhões, isto representa 46,01% do total exportado pelo Brasil neste segmento (ABPA, 2014).

Historicamente a região sul do Brasil, e especialmente o estado de Santa Catarina, destaca-se na produção de carne suína, através da produção familiar. Esta por sua vez, incentivada pelas parcerias com a agroindústria, estabeleceu fortemente a produção através da integração rural fornecendo subsídios para um crescimento exponencial. Atualmente 18 mil propriedades rurais em Santa Catarina praticam a suinocultura, e destas 13 mil são integradas a agroindústrias ou cooperativas (Suinocultura Industrial, 2014). Os números de Santa Catarina se consagram devido à tradição das propriedades familiares na prática da suinocultura, na concentração de agroindústrias de renome originalmente fundadas no estado, nas condições ambientais e de sustentabilidade, em que mais de 80% dos produtores catarinenses usam algum tipo de tratamento de dejetos (ACCS, 2002), e principalmente no status sanitário do

estado que é livre de febre aftosa sem vacinação, livre de Peste Suína Clássica e erradicou a Doença de Aujeszky (ACCS, 2008).

Frente à importância da carne suína no cenário mundial, brasileiro e catarinense em especial, qualquer patógeno que atrapalhe o desenvolvimento dos animais, ou ainda, seja um perigo zoonótico, torna-se alvo de combate e de estudos científicos para realização de seu controle e eliminação, e neste contexto encontramos a salmonelose suína. A *Salmonella* representa uma ameaça persistente para a integridade do fornecimento de alimentos para humanos e animais. É estimado que em humanos cause surtos da doença de origem alimentar em aproximadamente 1,3 milhões de casos por ano, com quase 600 mortes anuais. As perdas econômicas foram próximas a 2,9 bilhões de dólares por ano e são atribuídos a custos associados à hospitalização, terapia médica, o tempo perdido no trabalho e redução da produtividade (USDA, 2013).

Nos Estados Unidos da América, dados do CDC afirmam que 11% das infecções alimentares, 35% das hospitalizações e 28% das mortes oriundas destas toxinfecções são atribuídas a salmonelose (CDC, 2011). Na Europa, nos anos de 2005 e 2006, estudos baseados nas notificações dos casos de toxinfecção alimentar relataram que 10% dos casos nestes surtos tiveram participação da carne suína (PIRES et al., 2010).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a redução na contagem de *Salmonella* spp. em carcaças de suínos antes e após as mesmas serem submetidas a banho com água a 80°C.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

No Brasil a salmonelose lidera os casos de toxinfecções alimentares registrados, sendo a causadora de 38,2% dos casos. No período de 2000 a 2013 mais de 1500 casos foram relatados, o dobro do segundo agente do ranking envolvido em toxinfecções no mesmo período avaliado – *Staphylococcus aureus* com 759 casos (ANVISA, 2014). A carne suína e seus derivados ocupam o nono lugar nos alimentos envolvidos nestes surtos alimentares, somando um total de 219 casos no período, ou seja 2,2% do total de alimentos notificados (ANVISA, 2014). A maioria dos alimentos envolvidos nas Doenças Transmitidas por Alimentos – DTA são ignorados ou mistos, evidenciando a pobre investigação epidemiológica no assunto, porém a grande maioria das DTA permanece sem notificação.

Recentemente conceitos como *farm-to-table* defendem a interação das diferentes etapas de produção, com foco na qualidade em todos os processos. Assim medidas tomadas no campo, contribuem para a qualidade na indústria, e por consequência no produto final. Neste sentido, ações que integram saúde e bem estar animal aliados a medidas de vigilância agropecuária tem efeito na proteção da saúde humana e dos mercados atendidos (EFSA, 2013).

No Brasil a prevalência de suínos positivos, a campo ou no abate é alta (BESSA et al., 2004; SILVA et al., 2006). O período de terminação dos suínos é crítico para contaminação de animais sadios pelos portadores, multiplicando os índices de positividade entre o rebanho (MÜLLER et al., 2009), e Kich et al. (2011), correlacionaram os sorovares encontrados nas fezes, pisos das baias, linfonodos e posteriormente nas carcaças dos animais ao abate. Pode-se dizer assim que além das práticas em toda cadeia para evitar a presença do agente nos animais, medidas não invasivas para descontaminação das carcaças no

frigorífico são cruciais no que diz respeito a diminuição dos índices de contaminação do produto acabado.

Salmonella spp. é uma bactéria da família *Enterobacteriaceae*, envolvida em inúmeros quadros de toxinfecção alimentar em humanos, em especial contaminações oriundas do consumo de produtos de origem suína (FEDORKA-GREY, 1996). Na maioria dos casos os suínos são portadores assintomáticos, contudo, podendo excretar a bactéria de forma intermitente, ainda por contaminação cruzada ou por positividade dos animais, carrear o patógeno para carne *in naturae* ou nos subprodutos (CASTAGNA et al., 2004).

2.1 ETIOLOGIA

O gênero *Salmonella* sp. caracteriza-se pela morfologia de cocobacilos Gram negativos, não esporulado, não fermentador de lactose, móvel por meio de flagelos, com metabolismo tanto respiratório quanto fermentativo (HOLT et al., 1994). Tem seu crescimento ideal no pH 7,4 e em temperaturas que variam de 37° a 42°C, embora possa suportar faixas de 3,6 a 9,5 de pH e temperatura de 25° a 43°C (BUNCIC, 2006). Bioquimicamente, a *Salmonella* spp. é negativa na reação da oxidase, catalase positiva, citrato de Simons positiva, *indol* e *Voges-Proskauer* negativa. *Lisina* e *Ornitina* positiva, *Triple sugar iron* – TSI apresentando base ácida, ápice alcalino e produção de H₂S, ureia não é hidrolisada, permanecendo o teste da uréase negativo (HOLT et al., 1994). O micro-organismo interage com os enterócitos do hospedeiro através de estruturas proteicas denominadas fímbrias, que são projeções da membrana celular com função definida e capacidade imunogênica. Dentre estas fímbrias destacam-se as do tipo I, comumente relacionadas a adesão e invasão das células intestinais (ALTHOUSE et al., 2003).

No gênero *Salmonella*, encontramos duas espécies: *S. bongori* e *S. enterica*. A *S. bongori* não está associada aos

quadros de toxinfecção alimentar humana, restringindo-se a relatos de positividade em répteis. A espécie *S. enterica* é dividida em seis subespécies bioquimicamente distintas (*enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae* e *indica*), que são ainda diferenciadas em centenas de sorotipos identificados por nomes ou somente pelas formas antigênicas. A subespécie *enterica* agrupa as salmonelas associadas às infecções em humanos e animais de sangue quente, enquanto as demais subespécies e a *S. bongori* são encontradas em animais de sangue frio (Brenner et al., 2000; Tindal et al., 2005). A *S. enterica enterica* é subdividida em mais de 2500 sorovares ou subtipos conhecidos, descritos no manual Kauffmann White e classificados segundo suas características antigênicas: antígeno O (somático), presente em todas as salmonelas, H (flagelar) e Vi (capsular) (QUINN et al., 1994).

2.2 EPIDEMIOLOGIA, PATOLOGIA E INTERAÇÃO COM HOSPEDEIRO

A via fecal-oral é considerada a principal via de transmissão (SCHWARTZ, 2000). A contaminação se dá via oral, pelo acesso do agente ao suíno por vários carreadores (fecal-oral, ração, fômites, ambiente, vetores). A bactéria pode ser recuperada do intestino, minutos após a infecção oral (HURD et al., 2001). Após a ingestão pelo suíno, a salmonela supera as barreiras naturais como pH estomacal, aumento de temperatura, baixa do oxigênio e alta osmolaridade, mecanismo conferido a bactéria pela capacidade de modular a expressão dos seus genes de virulência em resposta a estas condições (OCHOA e RODRÍGUEZ, 2005).

Griffith et al. (2006) descreveram que, já no intestino, a bactéria utiliza-se de adesinas e fímbrias para se ligar ao enterócito, iniciando a invasão no ápice das vilosidades das

células M. Multiplica-se no sistema monocítico-fagocitário do hospedeiro, alcançando linfonodos e instalando-se ou, chegando as vias linfáticas e hematogena, causando infecção sistêmica.

A principal resposta do hospedeiro frente esta invasão é celular, embora a IgA tenha um papel importante na mucosa auxiliando no impedimento da aderência e ligação. Os fagócitos atuam realizando a primeira e mais importante defesa, tentando eliminá-la ou ainda apresentando antígenos para desencadear a resposta a produção de citocinas pró inflamatórias (HOLT, 2000).

As cepas que acometem um único hospedeiro levam à forma mais grave da doença, ultrapassando o trato gastrointestinal, podendo alcançar tecidos linfóides secundários e conseqüentemente desenvolver septicemia. No entanto, aquelas relacionadas a mais de um hospedeiro colonizam principalmente o sistema digestivo e raramente atingem os tecidos linfóides secundários (KARASOVA et al., 2009).

A diversidade de hospedeiros que se observa para o gênero pode ser explicada pelo elaborado conjunto de genes de virulência, que favorece sua adaptação a diferentes hospedeiros e seu sistema de defesa (RHEN et al., 2005).

Nos suínos duas interações com a bactéria são importantes na patologia: Enterite e septicemia aguda causada por *Salmonella* Typhimurium e Cholerasuis, ou portador assintomático, com papel importante na contaminação dos demais animais do rebanho e das carcaças no abatedouro (GRIFFITH et al., 2006).

Ohl e Miller (2001) citam que infecção causada por *Salmonella enterica* na maioria dos casos permanece localizada, dando origem apenas a uma patologia gastroentérica. Entretanto, dependendo da virulência do sorovar envolvido, o quadro pode generalizar-se. Neste caso, o patógeno ultrapassa a mucosa intestinal, invade fagócitos e ativa mecanismos de virulência que permitem sua

sobrevivência e replicação no interior dos mesmos. A migração dos fagócitos infectados para órgãos do sistema reticuloendotelial, como o baço e fígado, facilita a disseminação da bactéria, desenvolvendo septicemia e podendo levar à morte.

2.3 FATORES DE VIRULÊNCIA

2.3.1 Adesinas

Adesinas possuem 18 kDa, são sequência de dissacarídeos Gal α 1-4Gal, presente na superfície glicolípídica das células de muitos isolados. Essas adesinas são recobertas por uma cápsula, interferindo na atividade do sistema imune (TIMONEY, 2004). A adesão é essencial para a patogenicidade da bactéria, sendo este evento mediado por adesinas. Estas estruturas reconhecem os receptores presentes nas células do hospedeiro, pelos quais possuem tropismo. Ainda, as adesinas possuem capacidade de ativar linfócitos B e neutrófilos, que resulta em uma variedade de respostas biológicas incluindo proliferação celular e secreção de citocinas (EDWARDS e PUENTE, 1998).

A interação do patógeno com a célula hospedeira provoca ativação de sinalizadores celulares, quer seja de forma direta por componentes bacterianos ou por estimulação de fatores ativadores do próprio hospedeiro, como as citocinas. Tais ativadores podem alterar a superfície da célula hospedeira, modificando os receptores celulares; por sua vez, o patógeno responde a esta modificação alternando o tipo de adesina apresentada. O receptor que uma adesina reconhece, determina sua especificidade por determinado tecido e a colonização ou a persistência bacteriana. As adesinas podem ser classificadas em dois grandes grupos, adesinas fimbriais e não fimbriais. Em geral, as adesinas presentes em bactérias Gram negativas são as

fímbrias, pili, flagelo, lipopolissacarídeo (LPS) e cápsula (OCHOA e RODRÍGUEZ, 2005).

2.3.2 Fimbrias

A fímbria é um importante fator de virulência apresentado pelo gênero em questão exercendo interação bactéria-hospedeiro. Além disso, as fímbrias têm um papel fundamental na adesão às superfícies, persistência ambiental e formação de biofilme (GIBSON, 2007). Em um estudo, Gomes (2008), verificou que as cepas que possuem fímbrias se aderem melhor à mucosa intestinal de camundongos, quando comparada às cepas isogênicas sem fímbrias, demonstrando a importância das mesmas na ligação e colonização intestinal durante a fase inicial da patogênese. Também Ochoa e Rodriguez, (2005), descreveram que inicialmente, a bactéria instala-se em células não fagocíticas, como as células epiteliais da superfície da camada mucosa. Essa técnica de invasão garante um nicho protegido para replicar e persistir.

Salmonelas produzem apêndices de membrana chamados fimbrias ou “pili”, mais curtos que os flagelos. As fimbrias ou “pili” são filamentos proteicos presentes na superfície estrutural da bactéria. São compostos de arranjos helicoidais idêntico se possuem subunidades proteicas chamadas pilina. As fimbrias auxiliam a fixação da bactéria na superfície da célula do hospedeiro contribuindo para a patogenicidade (TORTORA et al., 2000).

São conhecidos nove tipos de fimbrias presentes em *Salmonella* sp.: as fimbrias do tipo 1 (SEF 21), tipo 2, tipo 3, SEF 17, SEF 14, SEF 18, Fimbria codificada por plasmídeo (PEF), Fímbria polar longa (LPF) e a BFP (bundle-forming pilus). No entanto, nem todos os tipos de fimbrias estão

presentes em todos os sorovares (OCHOA e RODRÍGUEZ, 2005).

2.3.3 Invasão celular e produção de mediadores químicos

A *Salmonella* invade as células do hospedeiro por um mecanismo conhecido como disparo (*trigger*). O agente envia sinais às células epiteliais que induzem alteração do citoesqueleto, promovendo um aspecto franzido ou pregueado (*ruffling*), que resulta na internalização da bactéria no interior de uma vesícula endocítica. A internalização é mediada por um grupo de genes designado *sinv* altamente conservados em *Salmonella*, ou seja, presente na maioria dos sorovares (DARWIN e MILLER, 1999; GOOSNEY et al., 1999).

A interação do agente com o epitélio, além da invasão, resulta também na produção de moléculas sinalizadoras pelas células epiteliais. A produção de interleucina-8 (*IL-8*) e do quimio atrator epitelial induzido por patógeno (*PEEC*), pelas células epiteliais, estimula inflamação e migração de leucócitos, que por sua vez, produzem prostaglandinas induzindo aumento na atividade da adenilato ciclase nas células intestinais, inibindo absorção do Na⁺, aumentando secreção do Cl⁻, promovendo diarreia, uma vez que a água é carreada juntamente ao cloro. No entanto, somente a invasão das células da mucosa não é suficiente para causar diarreia, possivelmente a produção de enterotoxinas também seja responsável ou contribua para o estabelecimento do quadro (DARWIN e MILLER, 1999).

A *Salmonella* produz efeitos citotóxicos que resultam na destruição das células M e invasão de enterócitos adjacentes. Além das lesões e sinais relacionados ao trato gastrointestinal, também induz apoptose de macrófagos ativadas e fagocitose induzida em macrófagos não ativados, sendo então transportados para o fígado e o baço, dando início a infecção sistêmica (MONACK et al., 2000). O sorovar Typhimurium

pode chegar ao fígado e ao baço por uma rota alternativa, que não requer a colonização intestinal ou invasão de células epiteliais intestinais. O patógeno possui afinidade por fagócitos que expressam a integrina CD18; após sua internalização, é levado pelo fagócito diretamente do lúmen intestinal para a circulação, baço e fígado (VÁZQUEZ et al., 1999).

No interior dos macrófagos, *Salmonella* inibe o processamento e a apresentação do antígeno, além de produzir enzimas que inativam radicais reativos de oxigênio e nitrogênio. A produção destas enzimas é induzida pelo fator sigma RPOs, que também é necessário para transcrição de genes envolvidos na adaptação a ambientes estressantes (OCHOA e RODRÍGUEZ, 2005).

2.3.4 Ilhas de Patogenicidade - SPI

São grandes regiões do cromossomo (dez a mais de 100 Kb) que codificam vários fatores de virulência. Estas ilhas estão ausentes em cepas não patogênicas da mesma espécie (GAL-MOR e FINLAY, 2006; VIEIRA, 2009).

Ao todo já foram descritas 17 SPIs, algumas são conservadas para o gênero enquanto outras são específicas para determinados sorotipos, como exemplo, SPI-1 está presente em *Salmonella bongori* e em todas as subespécies e sorotipos de *Salmonella enterica*. Já a ilha SPI-7 é específica para os sorovares Typhi, Dublin e Paratyphi C (HENSEL, 2004; VERNIKOS e PARKHILL, 2006). Na SPI-1 estão localizados genes necessários para invasão, característica importante para virulência de *Salmonella enterica* (SCHMIDT e HENSEL, 2004).

A capacidade da *Salmonella* em sobreviver no interior de fagócitos e de replicar dentro de vesículas de células eucarióticas é um processo complexo, requerendo o envolvimento de muitos genes, incluindo aqueles que auxiliam na sobrevivência a formas reativas de oxigênio, baixo pH e

defensinas. A maioria destes genes está localizado na SPI-2, essencial para habilidade de proliferar em tecido extra intestinal e causar infecções sistêmicas (HENSEL et al., 1995; OCHMAN et al., 1996; SCHMIDT e HENSEL, 2004).

Na SPI-3 estão presentes os genes *mgtB* e *mgtC*, necessários para sobrevivência no interior de macrófagos. O gene *mgtB* é responsável pelo transporte de magnésio (Mg^{2+}) quando este se encontra em baixas concentrações. Este sistema de captação de Mg^{2+} é importante para adaptação a limitações nutricionais no interior do fagossomo (BLANC-POTARD e GROISMAN, 1997; MONCRIEF e MAGUIRE, 1998; BLANCPOTARD et al., 1999; GROISMAN e OCHMAN, 2000).

A SPI-4 codifica o sistema de secreção do Tipo 1, que transloca proteínas necessárias para colonização intestinal. Também tem sido especulado que essa ilha está envolvida na secreção de citotoxinas, responsáveis por induzir a apoptose de macrófagos infectados (WONG et al., 1998; MARCUS et al., 2000; MORGAN, 2007).

O gene *pipB* localizado na SPI-5 codifica uma proteína efetora translocada pelo SSTIII codificado pela SPI-2. Esta proteína é requerida na indução da enteropatogenicidade (SCHMIDT e HENSEL, 2004; MORGAN, 2007).

A SPI-6 está presente o *operon fimbrial saf*. SPI-7 específico para os sorovares Typhi, Dublin e Paratyphi C, codifica o antígeno capsular *Vi*, a proteína efetora *SpoE*, importante para o processo de internalização da bactéria. SPI-8 está relacionado à produção de bacteriocinas, também está presente um gene que codifica uma integrase, indicando mobilidade desta ilha. SPI- 9 codifica um sistema de secreção do tipo I. Na SPI-10 estão presentes os genes responsáveis pela codificação da fímbria *SEF* (HENSEL, 2004; MORGAN, 2007). A SPI- 11 está relacionada com a sobrevivência da salmonela no interior do macrófago, contribuindo para a infecção sistêmica (GUNN et al., 1995;

MORGAN,2007). A SPI- 12 codifica a proteína efetora *SspH2*, secretada pelo *SSTII*, contribuindo para a polimerização da actina no interior da célula infectada (MORGAN, 2007). A SPI-13 foi relatada como sendo importante para sobrevivência no interior de macrófagos (McCLELLAND et al., 2001; SHAH et al., 2005). A ilha de patogenicidade 14 e as ilhas 15, 16 e 17 foram descritas por Shahet al (2005) e Vernikos e Parkhill (2006), respectivamente, no entanto suas funções ainda não estão bem esclarecidas.

2.3.5 Plasmídeos

Plasmídeos são elementos genéticos móveis que podem ser transmitidos entre bactérias inclusive de gênero e espécies diferentes. Estes plasmídeos são segmentos de DNA extracromossomal, que carregam informações genéticas adicionais e se replicam de forma independente (ARBEIT, 1999).Os sorovares de *Salmonella enterica* subspécie *enterica* que frequentemente estão associados a infecções em humanos e animais, na maioria das vezes possuem plasmídeos de virulência de diferentes tamanhos e composição genética, os plasmídeos são importantes para virulência de *Salmonella enterica*, sendo observada redução da virulência na ausência dos mesmos(ROTGER e CASADÉSUS, 1999).Plasmídeos de virulência geralmente estão relacionados com a sobrevivência e o crescimento das bactérias, habilitando-as a persistir nas células do sistema reticulo endotelial, como baço e fígado (GULIG e CURTISS III, 1987).

2.4 *Salmonella* E O HOMEM

Os sorovares Typhi e Paratyphi, específicos para o homem, causam a febre tifóide e a febre entérica respectivamente. Os demais são chamados de não tíficos e

considerados zoonoses, causando principalmente enterocolites (ACHA e SZYFRES, 2003).

As enterocolites têm sintomas de gravidade variável, de acordo com os diversos mecanismos de virulência e estado imunitário do hospedeiro. De forma geral a *Salmonella* é uma bactéria intracelular facultativa, que no processo de infecção atravessa a camada epitelial do intestino, alcançando a lâmina própria, onde se prolifera, é fagocitada pelos monócitos e macrófagos, resultando em resposta inflamatória, decorrente da hiperatividade do sistema reticuloendotelial/monocítico fagocitário (SHINOHARA et al., 2008).

O período de incubação nos casos não tíficos varia de 6 a 72 horas, seguida de febre, mialgia, cefaleia, cólicas, náusea, diarreia e vômitos. O curso da doença costuma ser autolimitante levando de dois a quatro dias, sendo que os indivíduos podem permanecer portadores da bactéria por semanas e mais raramente por alguns meses. Exceções são encontradas nos casos dos sorovares Choleraesuis, Sendai e Dublin, que embora os casos sejam raros, estes sorovares podem produzir uma doença septicêmica severa no ser humano. É relatado que no caso da *S. Choleraesuis*, 50% dos indivíduos podem ter bacteremia e cerca de 20% virem a óbito (ACHA e SZYFRES, 2003).

Doyle et al (2009) estudou os números de surtos de salmonelose humana ao redor do mundo, especificamente as enterocolites. Eles encontraram, entre os anos de 1996 e 2007, significativa diminuição nos surtos de salmonelose na Europa, diminuição discreta nos EUA e Canadá enquanto que na Austrália houve aumento. De acordo com o CDC, no ano de 2006 aproximadamente 5% dos surtos de salmonelose nos Estados Unidos foram atribuídos ao consumo de carne suína, ao passo que Doyle et al (2009) citam que somadas carne suína e produtos derivados como salames, presuntos, salsichas e linguiças foram responsáveis por cerca de 8% dos surtos em humanos.

No Brasil, dos 3927 surtos de enterites ocorridos e notificados no período de 2000 a 2011, aproximadamente 40% foram atribuídos à *Salmonella*. A participação de carne suína, denominada como carne suína *in natura*, processados e miúdos esteve presente em aproximadamente 5% dos 3487 surtos em que foi possível identificar o alimento responsável (BRASIL, 2011a). Embora as informações sejam originadas do sistema de vigilância, acredita-se que uma grande parte dos casos não seja notificada. Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), apesar dos surtos de salmonelose chamarem atenção da mídia, 60 a 80% dos casos ocorrem de forma esporádica, sendo desta forma subnotificados ao sistema (WHO,2013).

2.5 INTERVENÇÕES PARA O CONTROLE E REDUÇÃO DE *Salmonella* NO FRIGORIFICO

Os suínos são portadores de *Salmonella* em muitos tecidos, especialmente linfonodos e trato digestivo, tornando as fezes e linfonodos mesentéricos importantes fontes de contaminação de carcaças no abatedouro (BESSA et al., 2004; CASTAGNA et al., 2004; ROSTAGNO et al., 2009).

Para Thorberg e Engvall (2001), os principais processos envolvidos no risco de contaminação por *Salmonella* ao abate são a evisceração e a toalete, mas a escaldagem e a divisão da carcaça também podem introduzir o micro-organismo, aumentando a contaminação na linha de abate.

A espera pré-abate e a alta contaminação do ambiente do abatedouro são, provavelmente, as maiores fontes de contaminação por *Salmonella* antes do abate (HURD et al.,2001; SWANENBURG et al.,2001b). Os estudos de 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., 2001; 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., 2001).

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., 2003).

A presença do patógeno em produtos de origem suína também é de importância para competir no mercado. O Brasil deve seguir o exemplo de outros países produtores de carne suína e desenvolver programas de controle de *Salmonella*, atendendo às exigências crescentes dos consumidores e melhorando o padrão sanitário dos produtos de origem animal (SEIXAS et al., 2009).

Para Pissetti et al. (2012), há elevado aparecimento de *Salmonella* spp. nas contaminações de frigorífico, assim várias propostas vêm sendo estudadas para tratamento de carcaças suínas no pós-abate, como exemplo, a utilização de ácidos orgânicos; o uso de água quente sob a forma de vapor e a associação do tratamento térmico com o químico, também o chamuscamento bem conduzido eliminando a contaminação superficial da carcaça (SILVA et al., 2012).

Como descrito por Berends et al.(1997) e Huffman (2002), no abatedouro as contaminações cruzadas e recontaminações das carcaças de suínos com enteropatógenos

são indesejáveis, mas inevitáveis e ocorrem ao longo da linha de abate, continuando durante o processamento da carne. Além dos cuidados com Boas Práticas de Fabricação - BPF e higiene do abate, a descontaminação de carcaça (física ou química) pode ser utilizada. Essas tecnologias estão bem estabelecidas para carne de aves, mas não muito difundidas para a carne suína (DICKSON e ANDERSON,1992; SOFOS e SMITH, 1998; HUGAS e TSIGARIDA, 2008).

Poucos estudos descrevem o efeito de descontaminação de carcaças suínas. Reduções de 1-5,8 log₁₀ UFC / cm² de *E. coli*, *Y. enterocolitica* e *S. Typhimurium* foram obtidos após descontaminação de inoculado experimental em músculo e pele suína com diferentes combinações de água a 80 ° C e soluções de ácido láctico (de 1% ou 2,5%) à 55 ° C ou 80 ° C (CHRISTIANSEN et al., 2009). Na Dinamarca, carcaças oriundas de lotes com alta contaminação, sofrem intervenção com água quente no abatedouro como uma medida extra para descontaminação (MOUSING et al.,1997). Hurd et al.(2008) descreveram as etapas do programa dinamarquês no qual além de intervenções associadas a Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle - APPCC derivado dos EUA, também houve o uso de água quente antes do resfriamento das carcaças.

A contaminação na escaldagem pode ser minimizada se a temperatura da água for suficientemente alta (BOLTON et al.; 2003). Alguns estudos 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.

A lavagem com água quente pode ser utilizada nos abatedouros e tem mostrado ser efetiva na remoção de contaminantes físicos (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. Como já citado acima por Mousing et al., (1997), Lawson et al., (2009) também descreveram que o método é utilizado na Dinamarca em abate de suínos originários de granjas com elevado nível de *Salmonella*. 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 de tratamento com vapor 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-vapore 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 o vapor matar 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 exposição (MORILD et al., 2011).

A descontaminação química que tem sido extensivamente estudadas e utilizadas 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 trissódico, cloreto de sódio acidificado e peroxiácidos (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 micro-organismos. A bacteriocina mais estudada é a nisina, que é produzida *Lactobacillus lactis* subsp. *lactise* 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 contaminante sem produtos cárneos (HUGAS et al., 2008). O uso de bacteriófagos também tem sido demonstrado experimentalmente para redução de *C. jejuni* e *Salmonella* Enteritidis na pele de frangos (ATTERBURY et al., 2007).

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 micro-organismos não patogênicos (NISSEN et al., 2001).

Hugas et al. (2008) relataram que o emprego de descontaminantes, são bem estabelecidos para bovinos e frangos, mas não muito utilizadas para suínos, com um limitado número de estudos descrevendo o efeito de descontaminação nessa espécie (MORILD et al., 2011) 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 (EFSA, 2006). Exemplo disso é que a utilização de ácido láctico que 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, 2006).Deve-se considerar, ainda, que um dos fatores que determinarão o sucesso de novas tecnologias é a aceitação dos produtos pelos consumidores e comércio internacional (RAJKOVIC et al, 2010), além da viabilidade socioeconômica do emprego das técnicas (GOLDBACH et al; 2006).

3 ARTIGO

REDUÇÃO DE ÍNDICES DE *Salmonella* spp. EM SUÍNOS NO ABATEDOURO ATRAVÉS DO USO DE BANHO DAS CARÇAÇAS COM ÁGUA A 80°C

REDUCTION OF *Salmonella* spp. LEVELS IN SWINE CARCASS AT THE SLAUGHTERHOUSE, USING HOT WATER BATH AT 80°C

RESUMO

A salmonelose suína tem relevante importância econômica e na segurança alimentar, pois além de ser causadora de toxinfecções alimentares em humanos, está presente em larga escala nos suínos de terminação, devido à latência em linfonodos e as condições de criação. O objetivo deste trabalho foi avaliar a redução na contagem de *Salmonella* spp. em carcaças de suínos ao abate após as mesmas serem submetidas a banho com água a 80°C. Foram amostradas 90 carcaças de suínos após abate em quatro pontos de colheita (pernil, lombo, barriga e papada), antes e após a aplicação de banho com água a 80°C, num total de 720 amostras, com análise quantitativa por NMP. No abatedouro 43% dos animais foram positivos antes da aplicação da água quente representado por 62 amostras positivas. Após a intervenção 89% dos positivos zeraram as contagens, em sete amostras não houve redução e em 11 amostras houve positividade em animais anteriormente negativas. As amostras com maior redução na contagem foram amostras de papada e barriga com concentração de índices de 330NMP/g que posteriormente zeraram. O tratamento com banho de água quente nas carcaças foi eficiente, com diferença significativa de positividade antes e após a intervenção. Houve casos de contaminação cruzada após a intervenção em animais que permaneceram positivos e animais negativos. As

tipificações de todos os positivos foram *Salmonella* Typhimurium.

Palavras-chave: Suínos, *Salmonella*, Água quente, Contagem, Carcaça suína.

ABSTRACT

The swine salmonellosis has significant importance in economic and food security, as well as being a cause of food poisoning in humans, is present in large scale in finishing swine, due to the latency in lymph nodes and the rearing conditions. The objective of this study was to evaluate the reduction in the count of *Salmonella* in pig carcasses at slaughter after being subjected to the same water bath at 80 ° C. Were sampling 90 swine carcasses after slaughter were sampled at four sampling points (ham, loin, belly and jowl), before and after applying water bath at 80 ° C a total of 720 samples and quantitative analysis by NMP. At slaughter 43% of the animals were positive prior to application of the hot water 62 represented by positive samples. After the intervention, 89% of positive counts zeroed in seven samples and no reduction in 11 samples was positive in previously negative animals. Samples with greater reduction in counting samples were jowls and belly with concentration indices 330NMP / g which subsequently zeroed. The treatment bath of hot water in the carcasses was effective, with a significant difference in positivity before and after the intervention. There were cases of cross-contamination after the intervention in animals maintained positive and negative animals. Typing of all positive were *Salmonella* Typhimurium.

Key words: Swine. *Salmonella*, Hot wather, Count, Swine carcasses.

3.1 INTRODUÇÃO

Salmonella spp. é uma bactéria da família *Enterobacteriaceae*, envolvida em inúmeros quadros de toxinfecção alimentar em humanos, em especial contaminações oriundas do consumo de produtos de origem suína (FEDORKA-GREY, 1996). No Brasil a salmonelose lidera os casos de toxinfecções alimentares registrados, 38,2% dos casos. No período de 2000 a 2013 mais de 1500 casos foram relatados (ANVISA, 2014). Na maioria dos casos os suínos são portadores assintomáticos, contudo, pode excretar a bactéria de forma intermitente, ainda por contaminação cruzada ou por positividade dos animais, carrear o patógeno para carne *in natura* e ou nos subprodutos (CASTAGNA et al., 2004).

A via fecal-oral é considerada a principal via de transmissão, a bactéria rapidamente invade o intestino, supera as barreiras naturais e se instala no hospedeiro, expressando genes de virulência para transpor estas barreiras (HURD et al., 2001; OCHOA e RODRIGUEZ, 2005; SCHWARTZ, 2006). O elaborado conjunto de genes de virulência pode conferir a capacidade de infecção em uma diversidade de hospedeiros, nos quais a bactéria coloniza os enterócitos, ultrapassando a barreira gastrointestinal. O animal pode desenvolver gastroenterite ou alcançar células e tecidos linfóides secundários e desenvolver septicemia e morte ou ainda se tornar portador assintomático, importante na disseminação e contaminação dos demais (OHL e MILLER, 2001; RHEN et al., 2005; GRIFFITH et al., 2006; KARASOVA et al., 2009).

Os suínos são portadores de *Salmonella* em muitos tecidos, especialmente linfonodos e trato digestivo, tornando as fezes e linfonodos mesentéricos importantes fontes de contaminação de carcaças no abatedouro (BESSA et al., 2004; CASTAGNA et al., 2004; ROSTAGNO et al., 2009). Muitos animais chegam ao abate com altos índices de positividade e poucos estudos descrevem o efeito de descontaminação de

carcaças suínas. Na Dinamarca, carcaças oriundas de lotes com alta contaminação, sofrem intervenção com água quente no abatedouro como uma medida extra para descontaminação, antes do resfriamento das carcaças e associado com as demais intervenções de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle - APPCC, resultando em eficiência na descontaminação (MOUSING et al., 1997; BERENDS et al. 1997; HURD et al, 2002; CHRISTENSEN et al., 2004).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a redução na contagem de *Salmonella* spp em carcaças de suínos antes e após as mesmas serem submetidas a banho com água a 80°C.

3.2 MATERIAIS E MÉTODOS

3.2.1 Animais e coletas das amostras

Em um frigorífico de abate de suínos, com capacidade de abate de cinco mil suínos/dia, sob fiscalização da Inspeção Federal e localizado no Oeste de Santa Catarina, foram amostradas aleatoriamente 90 carcaças de suínos, após a evisceração, em três dias de abate, sendo 30 animais por dia, amostrados nos mesmos pontos, antes e após sofrerem intervenção com banho de água quente a 80°C, que é a temperatura normal de uso para água do frigorífico, esta devidamente tratada e testada para enquadramento em água potável. Cada carcaça foi amostrada em quatro pontos diferentes totalizando 360 amostras antes e 360 amostras depois da intervenção com a água quente. A duração do banho de água quente seguia o fluxo normal da passagem das carcaças pela nória até a estocagem, sendo em média 1,5 minutos. Neste período todas as carcaças receberam um banho em uma ducha em arco, sobre toda a sua superfície, com pressão constante, e temperatura constante de 80°C. Os pontos foram amostrados utilizando-se lenços estéreis embebidos em solução fisiológica, em 100 cm² da carcaça, delimitados por um

molde plástico estéril, totalizando 400 cm² de área amostrada por carcaça. Os quatro pontos amostrados foram o pernil, lombo, barriga e papada, de acordo com a circular nº 130/2007/CGPE/DIPOA (BRASIL, 2007). Após a colheita os lenços foram acondicionados novamente em sua embalagem estéril de origem, um saco do tipo nasco, identificadas e remetidas imediatamente ao Laboratório para análise.

O experimento foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal sob o número de 1.58.13.

3.2.2 Isolamento bacteriano e identificação das amostras do frigorífico

As amostras oriundas do frigorífico foram processadas seguindo a técnica de quantificação por Número Mais Provável – NMP, adaptada do descrito por Blodgett e Garthright (1998). Cada uma das 720 amostras colhidas (360 antes e 360 depois da intervenção com água quente), foi pré-enriquecida em água peptonada tamponada a 2% na proporção de 1:10, incubado em estufa bacteriológica em aerobiose a 37°C/18 a 24 horas. Após este período cada amostra foi repassada para seis tubos de caldo Rappaport Vassiliardis, contendo 9mL de caldo, sendo nos cinco primeiros tubos acrescentado 1mL da amostra (diluição 10⁻²), e após a homogeneização do quinto tubo foi passado 1mL deste para o sexto tubo (diluição 10⁻³). A série de tubos foi incubada a 42°C/18 a 24 horas. Após a incubação todos os tubos de Rappaport Vassiliardis foram semeados em ágar seletivo XLT4, e incubados a 37°C/18 a 24 horas. As colônias H₂S positivas características no ágar XLT4 quando presentes foram inoculadas na bioquímica básica para *Salmonella*, conforme Silva (2000), e após foram submetidas ao poli O na sorologia para confirmação de presença de *Salmonella* spp. Quando confirmadas as colônias de *Salmonella* spp, foram submetidas a contagem pelo NMP

através da combinação dos tubos positivos, como descrito por Blodgett e Garthright (1998).

As amostras positivas foram submetidas à tipificação pela *Reação em Cadeia Polimerase* - PCR pelo método de microarranjo com kit comercial Check&Trace® da empresa Checkpoints® (WATTIAU P. et al., 2008).

3.2.3 Análise Estatística

A análise estatística foi realizada através do teste de qui-quadrado (X^2) com nível de significância de 5% e da redução logarítmica das contagens bacterianas.

3.3 RESULTADOS

Das 90 carcaças amostradas em quatro diferentes pontos de amostragem após a evisceração - antes e após a intervenção com água quente, num total de 720 amostras pesquisadas pela técnica quantitativa de NMP, 39 foram positivas para *Salmonella* spp, em pelo menos um dos pontos amostrados, antes da intervenção com água quente, representando 43% do número total amostrado. Nas 360 amostras colhidas antes da intervenção com água quente, o número de positivas foi de 62 amostras. Destas, 55 negativaram após a aplicação do banho de água quente a 80°C, representando 89% de redução na contagem do teste, e sete amostras tiveram crescimento após a intervenção, com contagens de redução menores que três *log*, representando 11% de amostras em que a intervenção com água quente não teve efetividade. Houve 11 amostras que eram negativas antes da intervenção e positivaram após o banho de água quente a 80°C.

Com relação aos quatro pontos amostrados, das 62 amostras positivas, antes do banho de água quente, 39% destes positivos foram amostras de barriga, e também 39% de papada, enquanto 11% foram lombo e também 11% pernil. Após a intervenção com água a 80°C, das sete amostras positivas (positivos que permaneceram positivos), 71% foram amostras de papada, 14% amostras de barriga, 14% foram lombo.

Tabela 1 - Número absoluto e percentuais de amostras positivas antes e após o banho com água a 80°C, segregados por área amostrada.

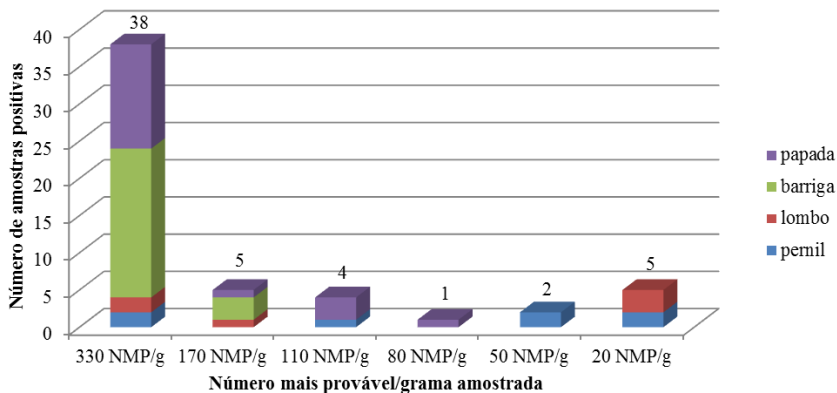
	Antes banho 80°C		Depois banho a 80°C	
	Positivos	%	Positivos	%
Pernil	7 ^a	11	0 ^b	0
Lombo	7 ^a	11	1 ^b	14,28
Barriga	24 ^a	39	1 ^b	14,28
Papada	24 ^a	39	5 ^b	71,43
Total	62	100	7	99,99

^{a,b} Letras diferentes na mesma linha indicam diferença estatística ($p > 0,001$).

Fonte: Produção do autor.

Das 55 amostras que após o tratamento com água quente negativaram as contagens de *Salmonella* spp., 38 amostras tiveram contagem de 330 NMP/g antes da intervenção, distribuídos em diferentes pontos de colheita, que estão ilustrados na Figura 1. As demais contagens do patógeno (170 NMP/g, 110 NMP/g, 80 NMP/g, 50 NMP/g e 20NMP/g), juntas somaram 17 amostras que também estão dispostas na Figura 1.

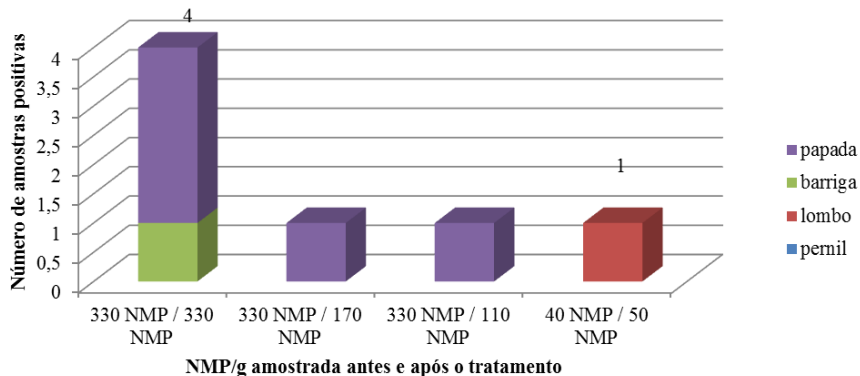
Figura 1 - Contagem de NMP/g das amostras positivas antes do banho com água a 80°C, que após o tratamento zeraram as contagens, e sua distribuição nos pontos amostrados na carcaça.



Fonte: Produção do autor.

Sete amostras permaneceram positivas após o tratamento em diferentes índices de contagens e localização da amostragem. Quatro amostras apresentaram índices de 330 NMP/g antes da intervenção e mantiveram 330 NMP/g após o tratamento. Uma amostra de 330 NMP/g reduziu para 170 NMP/g e também uma amostra de 330 NMP/g reduziu para 110 NMP/g. Ainda uma amostra de 40 NMP/g passou a 50 NMP/g. Estes dados bem como os locais amostrados onde houve esta contagem estão ilustrados na Figura 2.

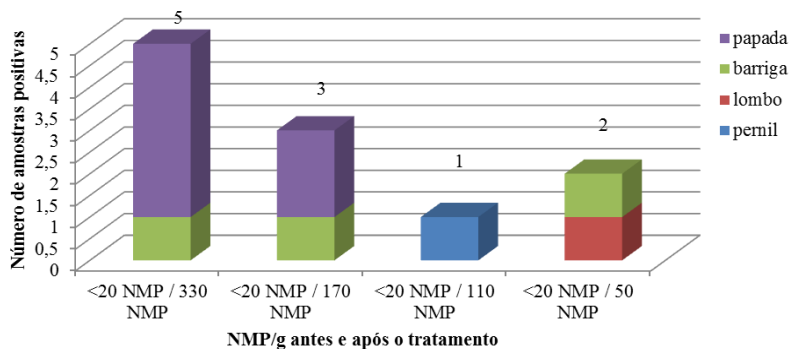
Figura 2 - Contagem de NMP/g das amostras que permaneceram positivas antes e após o banho com água a 80°C, e sua distribuição nos pontos amostrados na carcaça.



Fonte: Produção do autor.

Houve 11 amostras que não apresentaram contagem na colheita antes do tratamento e positivaram após a intervenção. As contagens e locais de colheita estão na Figura 3.

Figura 3 - Contagem de NMP/g das amostras que foram negativas antes do banho com água a 80°C, mas apresentaram contagem positiva após o tratamento e sua distribuição nos pontos amostrados na carcaça.



Fonte: Produção do autor.

As tipificações das 80 amostras positivas, 62 antes e 18 depois do tratamento, tiveram todas como resultado *Salmonella* Typhimurium.

3.4 DISCUSSÃO

Este trabalho comprova que o uso de água quente como banho para carcaças foi eficaz para redução de contaminação por *Salmonella* spp. em 89%. A informação se equipara aos achados de Goldbach e Alban (2006) que encontraram 72% de eficiência na descontaminação com água quente em abatedouros da Dinamarca. Estes mesmos autores relatam em seus achados que a descontaminação com água quente é eficaz sem comprometer a qualidade do produto final. Também Hamilton et al., (2010) observaram que o uso de água quente reduziu a prevalência superficial de *Escherichia coli* de 92,9% para 9,8% em um abatedouro na Austrália. Porém para Morild et al. (2011), realizando inoculação experimental de *Salmonella* Typhimurium em músculo e pele de suínos, observaram aumento na contagem do patógeno após a aplicação de água a 80°C e ácido láctico.

O uso da intervenção não alterou as qualidades organolépticas das carcaças, pois embora o estudo não compreendeu esta avaliação, a liberação das carcaças depende desta avaliação, e todas as carcaças utilizadas foram aprovadas no quesito.

O recurso de uso da água quente, embora promova uma despesa extra no frigorífico devido ao gasto de energia, já é um insumo presente na linha de produção, e o benefício do seu uso na descontaminação, justifica a utilização e incremento de ônus frente sua eficiência.

A positividade para *Salmonella* spp. encontrada nas 90 carcaças analisados foi de 43%, diferindo de Pissetti e

colaboradores (2012) que em um estudo semelhante encontraram 27,4% dos animais positivos ao abate, de Castanha et al. (2004) que encontraram 79% no Rio Grande do Sul, e mais próximo aos achados de Hoek et al. (2012), que encontraram 35,9% de positividade em um frigorífico na Holanda.

O número de positivos, bem como as contagens mais altas do patógeno foram detectadas na papada e barriga respectivamente. Fato atribuído à posição da carcaça na nórea com fluxo de fluídos oriundos do corte de linfonodos direcionados para estes locais. O uso da água quente se mostrou muito eficiente exatamente nestes locais onde, em casos de contagens mais altas (330 NMP/g), eliminaram 100% da *Salmonella* spp. em 53% dos pontos de barriga e 37% dos pontos de papada positivos antes da intervenção (índices observados na Figura 2). Castagna e colaboradores (2004) observaram a contaminação das carcaças através dos linfonodos, em especial os mesentéricos.

A intervenção se torna uma alternativa barata e eficaz, levando em consideração a eficiência de redução de contaminação e o risco de se ter *Salmonella* no produto acabado. Goldbach e Alban (2005) também relatam as vantagens do uso de água quente, quando descrevem o custo benefício das intervenções usadas na Dinamarca para redução de patógenos.

As 11 amostras que não foram positivas antes da intervenção e se tornaram após o uso da água quente nos mostram a existência de contaminação cruzada na nórea após o abate, pelo contato de carcaças positivas ou manuseio de operadores. Estas contaminações podem ser veiculadas pelas luvas dos operadores, pelo contato de carcaças positivas e carcaças descontaminadas, ou ainda pelos fômites da produção (ganchos e estrutura). Destaque para a papada que foi o local com mais da metade dos achados nesta modalidade. Berends et al. (1997) afirmam que 70% das contaminações ao final da

linha de abate são provenientes de animal portador. As amostras para envio ao laboratório foram acondicionadas em embalagens estéreis fechadas dentro de caixas, no processo foram usados controles negativos entre o grupo de amostras para sinalizar contaminações, além da rastreabilidade ISO 17025 acreditada ao laboratório reforçando a ideia de ausência de contaminação cruzada no diagnóstico. Este conjunto de informações nos direciona a reforçar o conceito do BPP (Boas práticas de produção), além do uso das intervenções, pois é possível que grande parte do problema seja a recontaminação posterior as alternativas de descontaminação. Para isso, os cuidados após o uso do banho com água a 80°C devem ser direcionados aos operadores e instalações. Medidas como troca de luvas, lavagem e desinfecção de instalações, remoção de biofilme, fiscalização rigorosa dos APPCC, podem ajudar a melhorar o desempenho das intervenções, inclusive da descontaminação por água quente, evitando que o incremento da técnica não seja somente um incremento de custo.

3.5 CONCLUSÃO

O banho das carcaças suínas após evisceração, com água a 80°C, reduz a contagem de *Salmonella* spp.

A intervenção é viável economicamente, não altera a qualidade do produto e é aceito pela legislação brasileira.

Os pontos da carcaça com contagem de *Salmonella* mais altos são a barriga e a papada respectivamente, e também são os pontos que tiveram o maior impacto na redução da contagem de *Salmonella* spp. após a aplicação da água a 80°C.

3.6 AGRADECIMENTO

A equipe laboratorial pela ajuda no experimento, e ao frigorífico pela permissão de uso da estrutura e recursos.

3.7 REFERÊNCIAS

- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Número de surtos por agente etiológico, Brasil 2000 – 2013*. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/>>. Acessado em 08 de out. de 2014.
- BERENDS B.R., et al., Identification and quantification of risk factors regarding *Salmonella* spp. on pork carcasses. **International Journal of Food Microbiol**, v. 36(2/3): p.199-206, 1997.
- BESSA, M. C.; COSTA, M.; CARDOSO, M. R. I. Prevalência de *Salmonella* sp. em suínos abatidos em frigoríficos no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.24, p. 80-84, 2004.
- BLODGETT, R. J.; GARTHRIGHT, W. E. Several MPN models for serial dilution with suppressed growth at low dilutions. **Food Microbiol.**, London, v.15, n.1, p.91-99, 1998. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1006/fmic.1997.0144>> . Acessado em 31 de out. de 2014.
- BRASIL. 2007. Circular Nº 130/2007/CGPE/DIPOA. Exportações de carne suína para os estados-membros da União Europeia. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>>. Acessado em 06 de abr. de 2014.

CASTAGNA, S. M. F.; SCHWARTZ, P.; CANAL, C. W.; CARDOSO, M. R. I. Prevalência de suínos portadores de

Salmonella sp. ao abate e contaminação de embutidos frescal. **Acta scientiae veterinariae**, v.32, n.2, p. 141-147, 2004.

CHRISTENSEN, A. L. T., 2004. Food safety in a socio-economic perspective - an analysis of the *Salmonella* surveillance and control plans (in Danish). Report No. 171. **Food and Resource Economics Institute**, Copenhagen, Denmark, 103 pp.

CHRISTENSEN, J.; BAGGESEN, D.L., 1996. The occurrence of serovars of *Salmonella enterica* and phage types of S. Typhimurium in Danish pig herds. **Pig Veterinary Society**, 7-10 July, Bologna, pp. 170.

FEDORKA-CRAY, P. J. The connection between *Salmonella*, swine and food safety. In: PROCEEDINGS OF SWINE CONFERENCE, 1996, Nebraska. *Anais...* Nebraska; Lincoln, 1996. P.25-45.

FEDORKA-CRAY, P. J.; BAHNSON, P.B.; LADELY, S.R. Antimicrobial resistance patterns of *Salmonella* isolates collected from slaughter age pigs. In: PROCEEDINGS OF INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON THE EPIDEMIOLOGY AND CONTROL OF *SALMONELLA* IN PORK, 3., 1999a, Washington. *Anais...* Washington: North Caroline State University, 1999.p.245-247.

FEDORKA-CRAY, P. J.; PETERSEN, K.E.; DARGATZ, D.A. et al. National antimicrobial resistance monitoring system: results for swine. In: PROCEEDINGS OF

INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON THE EPIDEMIOLOGY AND CONTROL OF *SALMONELLA* IN PORK, 3., 1999b, Washington. *Anais...* Washington: North Caroline State University, 1999.p.252-256

GOLDBACH, S. G.; ALBAN, L. A cost–benefit analysis of *Salmonella*-control strategies in Danish pork production. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 77, p. 1-14, 2006. Disponível em: <<http://www.prairieswine.com/pdf/39563.pdf>>. Acesso em 31 de out. de 2014.

GRIFFITH, R. W.; SCHARTZ, K. J.; MEYERHOLZ, D. K. Salmonellosis. In: STRAW, B. E.; ZIMMERMANN, J.J.; DÁLLAIRE, S.; TAYLOR, D. J. (Ed). **Disease of swine**. 9 ed. Ames: Blakwell Publishing, p. 739-754, 2006.

HAMILTON, D., et al. Slaughterfloor Decontamination of Pork carcasses with Hot Water or Acidified Sodium Chlorite – A Comparison in Two Australian Abattoirs. **Zoonoses and Public Health**, v.57, (Suppl. 1), p. 16–22, 2010. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1863-378.2010.01359.x/full>>. Acesso em 29 de out. de 2014.

HOEK, A. H. A. M. et al. A quantitative approach towards a better understanding of the dynamics of *Salmonella* spp. in a pork slaughter-line. **International Journal of Food Microbiology**, v.153, p. 45–52, 2012. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160511006222>>. Acesso em 31 de out. de 2014.

HURD, H. S. et al. Experimental rapid infection in market swine following exposure to a *Salmonella* contaminated environment. **Berliner und Munchener Tierarztliche Wochenschrift**, v.114, p.382-384, 2001.

HURD, H. S. et al. *Salmonella enterica* infections in market swine with and without transport and holding. **Applied and Environmental Microbiology**, v.68, p.2376-2381, 2002.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **ISO 6579**: detection of *Salmonella* spp. in animal faeces and in environmental samples from the primary production stage. Geneva,2002. 9 p. And 1:2007, annex D.

KARASOVA, D. et al. Deletion of *sodCI* and *spvBC* in *Salmonella enterica* serovar Enteritidis reduced its virulence to the natural virulence of serovars Agona, Hadarand Infantis for mice but not for chickens early after infection. **Veterinary Microbiolog**, v. 139, p.304-309, 2009. Disponível em: http://ac.els-cdn.com/S0378113509003071/1-s2.0-s0378113509003071main.pdf?_tid=7610e073a2caec15bc244b9ab614acd4&acdnat=1345816350_766a8b780a5eb288f720fb4a29e37a70>. Acesso em: 08 de out. de 2014.

KICH, J. D. et al. Prevalence, distribution, and molecular characterization of *Salmonella* recovered from swine finishing herds and a slaughter facility in Santa Catarina, Brazil. **International Journal of Food Microbiology**, v. 151, p. 307-313, 2011. Disponível em:

<<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160511005757>>. Acesso em 20 de ago. de 2014.

MORILD, R. K.; OLSEN, J. E.; AABO, S. Change in attachment of *Salmonella* Typhimurium, *Yersinia enterocolitica*, and *Listeria monocytogenes* to pork skin and muscle after hot water and lactic acid decontamination. **International Journal of Food Microbiology**, v.145, p. 353–358, 2011. Disponível em:

<<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160510007087>>. Acesso em 26 de out. de 2014

MOUSING, J. THODE JENSEN, et.al. S. Nation-wide *Salmonella enterica* surveillance and control in Danish slaughter wine herds. **Preventive Veterinary Medicine**, v.29, p. 247-261, 1997.

OCHOA, I. M. F.; RODRÍGUEZ, A. V.; Mecanismos moleculares de patogenicidad de *Salmonella* sp. **Revista Latinoamericana de Microbiología**, v.47, n.1-2, p. 25-42, 2005.

OHL, M.E.; MILLER, S.I. Salmonella: a model for bacterial Pathogenesis. **Annual Review Medical**, v.52, p.259-274, 2001. Disponível em:<http://www.vmf.unileipzig.de/ik/wimmunologie/Lehre/SS06/SS06-1-10-Salmonella_Bacterial_pathogenesis.pdf>. Acesso em: 09 de out. de 2014.

PISSETI, C., et al. Detecção de *Salmonella enterica* e *Listeria monocytogenes* em carcaças suínas na etapa de pré-resfriamento. **Acta Scientiae Veterinariae**. 40(4): 1071, 2012. Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/actavet/40-4/PUB%201071.pdf>>. Acesso em 17 de out. de 2014.

PULIDO-LANDÍNEZ, M. et al. Assignment of serotype to *Salmonella enterica* isolates obtained from poultry and their environment in southern Brazil. **Letters in Applied Microbiology**, v.57,[s.n],[s.l], 2013.

QUINN, P. J. et al. **Clinical Veterinary Microbiology**. London; Wolfe, 1994.

RHEN, M.; DORMAN, C. J. Hierarchical gene regulators adapt *Salmonella enterica* to its host milieus. **International Journal of Medical Microbiology**, v. 294,p. 487–502, 2005. Disponível em:<http://www.sciencedirect.com/science?_ob=MIimg&_imgkey=B7GW04F9739711&_cdi=20444&_user=686368&_pii=S1438422104001468&_origin=&_coverDate=03%2F04%2F2005&_sk=997059991&view=c&wchp=dGLbVlWzSkWB&d5=53282d702b23ea7717f7fdb3a0db8df0&ie=/sdarticle.pdf> . Acesso em: 08 de out. De 2014.

ROSTAGNO, M. H.; HURD, H. S.; McKEAN, J. D. Split marketing as a risk factor for *Salmonella enterica* infections in swine. **Foodborne Pathogens and Diseases**. V.6, p.865-869, 2009.

SCHWARTZ P.; et al. Longitudinal study of *Salmonella enterica* infection in a swine herd in southern Brazil. In: IPVS CONGRESS, 2006, Copenhagen. **Proceedings**. Iowa: IPVS, 2006.

WATTIAU P., et al., Comparison of Classical Serotyping and Premi®Test Assay for Routine Identification of Common *Salmonella enterica* serovars. **Journal Clinical Microbiology**, 46, p. 4037-4040. 2008.

WATTIAU P., et al., Evaluation of the Premi®Test *Salmonella*, a commercial low-density DNA microarray system intended for routine identification and typing of *Salmonella enterica*. **International Journal of Food Microbiology**, 123 (3), p. 293-298. 2008.

4 REFERÊNCIAS

ABIPECS. Associação Brasileira da Indústria Produtora e Exportadora de Carne Suína. 2013. Disponível em: <<http://www.abipecs.com.br/>>. Acessado em 13 de julho de 2013.

ABPA. Associação Brasileira de Proteína Animal. 2014. Disponível em: <<http://www.abipecs.com.br/>>. Acessado em 17 de out. de 2014.

ACCS. Dados da suinocultura. 2002. Disponível em: <http://www.accs.org.br/arquivos_internos/index.php>. Acesso em 20 de jul. de 2014.

ACHA, P.; SZYFRES, B. **Zoonosis and communicable diseases common to man and animal: Bacteriosis and Mycosis**. 3 ed., v.1, Washington, D. C.: World Health Organization, 2001.

ALTHOUSE, C.; PATTERSON, S.; FEDORKA-CRAY, P.; ISAACSON, R. Type 1 fimbriae of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium bind to enterocytes and contribute to colonization of swine *in vivo*. **Infection and Immunity**, v.71, p.6446-6452, 2003.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Número de surtos por agente etiológico, Brasil 2000 – 2013*.

Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/>>. Acessado em 08 de out. de 2014.

ARBEIT, R. D. Laboratory procedures for the epidemiologic analysis of microorganism. In: MURRAY, P. R.; BARON, E. J.; PFALLER, M. A.; TENOVER, F. C.; YOLKEN, R. H. **Manual of clinical microbiology**. 7 ed. Washington, ASM Press, p.116-137, 1999.

ATTERBURY, R. J. et al. Bacteriophage Therapy To Reduce *Salmonella* Colonization of Broiler Chickens. **Appl. Environ. Microbiol**, v.73, n.14, p.4543-4549, 2007. Disponível em:<<http://aem.asm.org/content/73/14/4543.short>>. Acesso em 17 de jul. de 2014.

BERENDS B.R., et al., Identification and quantification of risk factors regarding *Salmonella* spp. on pork carcasses.**Int. J. Food Microbiol**, v. 36(2/3): p.199-206, 1997.

BESSA, M. C.; COSTA, M.; CARDOSO, M. R. I. Prevalência de *Salmonella* sp. em suínos abatidos em frigoríficos no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.24, p. 80-84, 2004.

BLANC-POTARD, A.B.; GROISMAN, E.A. The *Salmonella* selC locus contains a pathogenicity island mediating intramacrophage survival. **The EMBO Journal**, v.16, n.17, p.5376-5385, 1997. Disponível em:<<http://www.nature.com/emboj/journal/v16/n17/pdf/7590512a.pdf>>. Acesso em: 30 de ago. de 2014.

BLANC-POTARD, A.B. et al. The SPI-3 patogenicity of *Salmonella enterica*. **Journal Bacteriology**, v.181, n.3, p.998-1004, 1999. Disponível em:

<<http://jb.asm.org/content/181/3/998.full.pdf+html>>. Acesso em: 30 de ago. de 2014.

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.

BORCH, E.; NESBAKKEN, T.; CHRISTENSEN, H. Hazard identification in swine slaughter respect to foodborne bacteria. **International Journal of Food Microbiology**, v.30, p.9–25, 1996.

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

BRASIL (a). Secretaria de Vigilância em Saúde. Vigilância Epidemiológica das Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar – VEDTHA. 2011. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/10_passos_par_a_investigacao_surtos.pdf>. Acessado em 17 de out. de 2014.

BRENNER, F. W. et al. *Salmonella* nomenclature. **Journal of Clinical Microbiology**, 38:2465-2467, 2000.

BUNCIC, S. Food Chain and health hazards. **Integrated Food Safety and Veterinary Public Health**. Trowbridge: Cromwell press, 2006, cap. 1, p. 3-45.

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, 2004.

CDC. Center for Disease Control and Prevention. Estimates of Foodborne Illness in the United States. 2014. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/>>. Acesso em 18 de out. de 2014.

CHRISTIANSEN, P.; KRAG, R.; AABO, S. Effect of hot water and lactic acid decontamination on *Escherichia coli*, *Salmonella* Typhimurium and *Yersinia enterocolitica* on pork. In: 8thINTERNATIONAL SYMPOSIUM ON THE EPIDEMIOLOGY AND CONTROL OF FOODBORNE PATHOGENS

DARWIN, K.H.; MILLER, V.L. Molecular Basis of the Interaction of *Salmonella* with the Intestinal Mucosa. **Clinical Microbiology Reviews**, v.12, n.3, p.405-428, 1999. Disponível em: <<http://cmr.asm.org/content/12/3/405.full.pdf+html>>. Acesso em: 01 de Jul. de 2014.

DE FREITAS COSTA, E. Validação de estratégias a campo para o controle de *Salmonella* sp. na cadeia de produção de suínos/ **Eduardo de Freitas Costa**. – 2014. 62 f.

DICKSON, J.S.; ANDERSON, M.E. Microbiological decontamination of food animal carcasses by washing and sanitizing systems. A review. **Journal of Food Protection**, v.55, p.133-140, 1992.

DOYLE, M. E.; KASPAR, C.; ARCHER, J.; KLOS, R. White paper on human illness caused by *Salmonella* from all food and non-food vectors. **FRI Briefings**, 51p., 2009.

EDWARDS, R.A.; PUENTE, J.L. Fimbrial expression in enteric bacteria: a critical step in intestinal pathogenesis. **Trends Microbiology**, v.6, n.7, p.282-287, 1998. Disponível em: <http://ac.els-cdn.com/S0966842X98012888/1-s2.0-S0966842X98012888-main.pdf?_tid=f7292f83545e68f9c3e90732f6baab96&acdnat=1345814583_ff9c6c46ed6cee0e9f20e777c9412dc5>. Acesso em: 30 de jul.de 2014.

EFSA, European Food Safety Authority, 2006. Opinion of the scientific panel on biological hazards on “Risk assessment and mitigation options of *Salmonella* in pig production”. **The EFSA Journal**v.341, p.1–131.

EFSA. European Food Safety Authority, 2010. The community summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in the European Union in 2008. **The EFSA Journal**, v.8, p.1496.

EFSA. European Food Safety Authority. 2014. Disponível em: <<http://www.efsa.europa.eu/>>. Acesso em 18 de out. de 2014.

FAO. Food and Agricultural commodities production. 2014. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>>. Acesso em 17 de out. de 2014.

FEDORKA-CRAY, P. J. The connection between *Salmonella*, swine and food safety. In: PROCEEDINGS OF SWINE CONFERENCE, 1996, Nebraska. *Anais...* Nebraska; Lincoln, 1996. P.25-45.

GAL-MOR, O.; FINLAY, B.B. Pathogenicity islands: a molecular toolbox for bacterial virulence. **Célula Microbiology**, v.8, n.11, p.1707-1719, 2006. Disponível em: <http://www.andrewmichaelson.com/Genetics/AdditionalPaperstoRead/Reading_List_mobile_elements_07/6.pdf>. Acesso em: 16 de jul. de 2014.

GIBSON, D.L. et al. AgfC and AgfE facilitate extracellular thin aggregative fimbriae synthesis in *Salmonella* Enteritidis. **Microbiology**, v.153, p.1131-1140, 2007. Disponível em: <<http://mic.sgmjournals.org/content/153/4/1131.full.pdf+html>> . Acesso em: 12 de jul. de 2014.

GOLDBACH, S. G.; ALBAN, L., A cost–benefit analysis of salmonella–control strategies in Danish pork production. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 77, p. 1-14, 2006. Disponível em: <http://www.prairieswine.com/pdf/39563.pdf>. Acesso em 31 out. 2014.

GOMES, M. J. P. ENTEROBACTERIACEAS (*Salmonella* spp). BACTERIOLOGIA DA FAVET – UFRGS. Laboratório

de Análises Clínicas Veterinárias. Microbiologia Clínica, 2008. Disponível em: <www.ufrgs.br/labacvet>. Acessado em: 25 de jul. de 2014.

GOOSNEY D.L.; KNOECHEL, D.G.; FINLAY, B.B. Enteropathogenic *E. coli*, *Salmonella* and *Shigella*: **Master of host cell cytoskeletal exploitation. Emerging Infectious Diseases**, v.5, n.2, p.216-223,1999.Disponível em:<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2640686/pdf/10221873.pdf>>. Acesso em:20 de jul. 2014.

GRIFFITH, R. W.; SCHATZ, K. J.; MEYERHOLZ, D. K. Salmonellosis. In: STRAW, B. E.; ZIMMERMANN, J.J.; D'ALLAIRE, S.; TAYLOR, D. J. (Ed). **Disease of swine**. 9 ed. Ames: Blakwell Publishing, p. 739-754, 2006.

GROISMAN E.A.; OCHMAN, H. The path to *Salmonella*. **Features**, v.66,p.21-27, 2000. Disponível em:<<http://newsarchive.asm.org/jan00/images/f3.pdf>>.Acesso: 30 de ago. de 2014.

GULIG, P. A.; CURTISS III, R. Plasmid-Associated Virulence of *Salmonella* Typhimurium. **Infection and Immunity**, v. 55, n12, p. 2891-2901, 1987. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC260003/pdf/ia100096-0035.pdf>> . Acesso em: 12 de ago. 2014.

GUNN, J.S.; HOHMAM, E.L.; MILLER, S.I. Transcriptional regulation of *Salmonella* virulence: A PhoQ periplasmic domain mutation results in increased net phosphotransfer to

PhoP. **Journal Bacteriology**, v.178, n.21, p.6369-6373, 1996.

Disponível em:

<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC178515/pdf/1786369>>. Acesso em:30 de ago. de 2014.

HENSEL, M., J. et al. Simultaneous identification of bacterial virulence genes by negative selection. **Science**, v.269, p.400–403, 1995.

HOLT, J. G. et al. **Bergey's manual of determinative bacteriology**. 9. Ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1994. Cap 5: Facultative anaerobic Gram-negative rods: p. 175-189. HOLT, P. S. Host Susceptibility, Resistance and Immunity to *Salmonella* in Animals. In: WRAY, C.; WRAY, A. (Eds). **Salmonella in domestic Animals**. Wallingford: CABI Publishing, 2000. Cap 5, p. 73-87.

HUFFMAN, R. D., Current and future technologies for the decontamination of carcasses and fresh meat. **Meat Science**, v.62, issue3, p.285-294, 2002. Disponível em:<<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0309174002001201>>. Acesso em 31 de out. de 2014.

HUGAS, M.; TSIGARIDA, E. Pros and cons of carcass decontamination: the role of the European Food Safety Authority. **Meat Science**, n.78, p.43-52, 2008.

HURD, H. S. et. al. Risk-Based Analysis of the Danish Pork Salmonella Program: Past and Future. **Risk Analysis**, n.28, issue 2, p. 341-351, 2008. Disponível

em:<<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1539-6924.2008.01034.x/abstract?deniedAccessCustomisedMessage=&userIsAuthenticated=false>> . Acesso em 31 de out. de 2014.

HURD, H. S. et al. Experimental rapid infection in market swine following exposure to a *Salmonella* contaminated environment. **Berliner und Munchener Tierarztliche Wochenschrift**, v.114, p.382-384, 2001.
IN PORK. Quebec, Canada, p. 253–256, 2009.

KARASOVA, D. et al. Deletion of sodCI and spvBC in *Salmonella enterica* serovar Enteritidis reduced its virulence to the natural virulence of serovars Agona, Hadarand Infantis for mice but not for chickens early after infection. **Veterinary Microbiolog**, v. 139, p.304-309, 2009. Disponível em: http://ac.els-cdn.com/S0378113509003071/1-s2.0-s0378113509003071main.pdf?_tid=7610e073a2caec15bc244b9ab614acd4&acdnat=1345816350_766a8b780a5eb288f720fb4a29e37a70. Acesso em: 08 out. 2014.

KICH, J. D. et al. Prevalence, distribution, and molecular characterization of *Salmonella* recovered from swine finishing herds and a slaughter facility in Santa Catarina, Brazil. **International Journal of Food Microbiology**, v. 151, p. 307-313, 2011. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160511005757>>. Acesso em 20 de ago. de 2014.

LAWSON, L. G. et al. Cost-effectiveness of Salmonella reduction in Danish abattoirs. **International Journal of Food Microbiology**, v.134, p.126–132, 2009. Disponível

em:<<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160509001901>>. Acesso em 31 de out. de 2014.

MARCUS, S. L. et al. *Salmonella* Pathogenicity islands: big virulence in small packages. **Microbes and Infection**, n. 2, 145–156, 2000. Disponível em:
<http://www.sciencedirect.com/science?_ob=MIimg&_imagekey=B6VPN409V6FY-61&_cdi=6211&_user=686368&_pii=S1286457900002732&_origin=search&_zone=rslt_list_item&_coverDate=02%2F29%2F2000&_sk=999979997&_wchp=dGLzVzzzSkWb&_md5=6be7e1cc397067bc2b7f0b7971f6a53&_ie=/sdarticle.pdf>. Acesso em 19 de jul. de 2014.

McCLELLAND, M.; et. al. Complete genome sequence of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium LT2. **Letters to Nature**. v.413, p.852–856, 2001. Disponível em:
<<http://www.nature.com/nature/journal/v413/n6858/pdf/413852a0.pdf>>. Acesso em: 30 de ago. de 2014.

MONACK D.M. et al. ENCICLOPÉDIA BIOSFERA, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.9, N.16; p. 2011968 3 S. *Salmonella* exploits caspase-1 to colonize Peyer's patches in a murine typhoid model. **The Journal Experimental Medicine**, v.192, n.2, p.249-258, 2000. Disponível em:<<http://jem.rupress.org/content/192/2/249.full.pdf+html>>. Acesso em: 23 de ago. De 2014.

MONCRIEF, M. B.; MAGUIRE, M. E. Magnesium and the role of MgtC in growth of *Salmonella* Typhimurium. **Infection and Immunity**, v.66, n.8, p.3802–3809, 1998. Disponível em:

<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC108421/pdf/i003802>>. Acesso em: 30 de ago. de 2014.

MORGAN, E.; *Salmonella* pathogenicity islands. In: RHEN, M.; MASKELL, B.; MAESTROENI, P.; THRELFALL, J. *Salmonella* molecular biology and pathogenesis. Norfolk: **Horizon Bioscience**, 2007. cap.4, p.67-88.

MORILD, R. K.; OLSEN, J. E.; AABO, S. Change in attachment of *Salmonella* Typhimurium, *Yersinia enterocolitica*, and *Listeria monocytogenes* to pork skin and muscle after hot water and lactic acid decontamination. **International Journal of Food Microbiology**, v.145, p. 353–358, 2011. Disponível em:

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160510007087>. Acesso em 26 out. 2014

MORILD, R.K. et al. Pathogen reduction on pork by steam-ultrasound. **Journal of Food Protection**®, n.5,p. 700-864, 2011. Disponível

em:<<http://www.ingentaconnect.com/content/iafp/jfp/2011/00000074/00000005/art00009>>. Acesso em 31 de out. de 2014.

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

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.

NISSEN, H.; MAUGESTEN, T.; LEA, P. Survival and growth of *Escherichia coli* O157:H7, *Yersinia enterocolitica* and *Salmonella* Enteritidis on decontaminated and untreated meat. **Meat Science**, v.57, Issue 3, p.291–298, 2001. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S030917400001042>>. Acesso em 31 de out. de 2014.

OCHMAN, H. et al. Identification of a pathogenicity island required for *Salmonella* survival in host cells. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.93, p.7800-7804, 1996. Disponível em: <http://www.pnas.org/content/93/15/7800.full.pdf+html>>. Acesso em: 30 de ago. de 2014.

OCHOA, I. M. F.; RODRÍGUEZ, A. V.; Mecanismos moleculares de patogenicidad de *Salmonella* sp. **Revista Latinoamericana de Microbiología**, v.47, n.1-2, p. 25-42, 2005.

OHL, M.E.; MILLER, S.I. Salmonella: a model for bacterial Pathogenesis. **Annual Review Medical**, v.52, p.259-274, 2001. Disponível em:http://www.vmf.unileipzig.de/ik/wimmunologie/Lehre/SSO6/SS06-1-10-Salmonella_Bacterial_pathogenesis.pdf. Acesso em: 09 out. 2014.

PISSETI, C., et al. Detecção de *Salmonella enterica* e *Listeria monocytogenes* em carcaças suínas na etapa de pré-resfriamento. **Acta Scientiae Veterinariae**. 40(4): 1071, 2012.

Disponível em: <http://www.ufrgs.br/actavet/40-4/PUB%201071.pdf>. Acesso em 17 out. 2014.

QUINN, P. J et al. **Clinical Veterinary Microbiology**. London; Wolfe, 1994.

RAJKOVIK, A.; SMIGIC, N.; DEVLIEGHERE, F. Contemporary strategies in combating microbial contamination in food chain. **International Journal of Food Microbiology**, v.141, n.3, p.S29–S42, 2010. Disponível em:<<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160509006722>>. Acesso em 31 de out. de 2014.

RHEN, M.; DORMAN, C. J. Hierarchical gene regulators adapt *Salmonella enterica* to its host milieus. **International Journal of Medical Microbiology**, v. 294, p. 487–502, 2005.

Disponível em:

http://www.sciencedirect.com/science?_ob=MIimg&_imagekey=B7GW04F9739711&_cdi=20444&_user=686368&_pii=S1438422104001468&_origin=&_coverDate=03%2F04%2F2005&_sk=997059991&_view=c&_wchp=dGLbVIWzSkWB&_d5=53282d702b23ea7717f7fdb3a0db8df0&_ie=/sdarticle.pdf . Acesso em: 08 out. 2014.

ROSTAGNO, M. H.; HURD, H. S.; McKEAN, J. D. Split marketing as a risk factor for *Salmonella enterica* infections in swine. **Foodborne Pathogens and Diseases**. V.6, p.865-869, 2009.

ROTGER, R.; CASADÉUS, J. The virulence plasmids of *Salmonella*. **International Microbiology**, v.2, n.3, p.177-184, 1999. Disponível em:<<http://revistes.iec.cat/index.php/IM/article/viewFile/4c457c0251b1f.002/9208>> . Acesso em: 18 de jul. de 2014.

SCHMIDT, H.; HENSEL, M. Pathogenicity islands in bacterial pathogenesis. **Clinical Microbiology Reviews**, v.19, n.1, p.14-56, 2004. Disponível em:<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC321463/pdf/0038.pdf>>Acesso em: 30 de jul. de 2012.

SCHWARTZ P.; et al. Longitudinal study of *Salmonella enterica* infection in a swine herd in southern Brazil. In: IPVS CONGRESS, 2006, Copenhagen. **Proceedings**. Iowa: IPVS, 2006.

SCHWARTZ, K.J. Salmonellosis in: STRAW, B.E.; D'ALLAIRES, S.; MENGELING, W.L.; TAYLOR, D.J. **Disease Swine**. 8th ed. Ames: Iowa University Press, 2000.

SEIXAS, F. N.; TOCHETTO, R.; FERRAZ, S. M. Presença de *Salmonella* sp. em carcaças suínas amostradas em diferentes pontos da linha de processamento. **Ciência Animal Brasileira**, v.10, n.2, p.634-640, 2009.

SHAH, D.H. et al. Identification of *Salmonella* Gallinarum virulence genes in a chicken infection model using PCR based signature-tagged mutagenesis. **Microbiology**, v. 151, p.3957-3968, 2005. Disponível em:

<<http://openmed.nic.in/1198/01/013.pdf>>. Acesso em: 30 de ago. de 2014.

SHINOHARA, N. K. S. et al. *Salmonella* spp. importante agente patogênico veiculado em alimentos. **Ciência & Saúde Coletiva**, v.13, n.5, p. 1675-1683, 2008.

SILVA, L. E. et al. Longitudinal dissimination of *Salmonella enterica* clonal groups through the slaughter process of *Salmonella*-positive pigs batches. **Journal of Food Protection**, v.75, n.9, p.1580-1588, 2012.

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

SOFOS, J.N.; SMITH, G.C. Nonacid meat decontamination technologies: model studies and commercial applications. **International Journal of Food Microbiology**, v.44, p.171–188, 1998.

SWANEMBURG, M. et al. *Salmonella* in slaughter pigs: prevalence, serotyping and critical control points during slaughter in two slaughterhouse. **International Journal of Food Microbiology**. V.70, p. 243-254, 2001.

THORBERG, B.M.; ENGVALL, A. Incidence of *Salmonella* in Five Swedish Slaughterhouses. **Journal of Food**

Protection®, n.4, p. 439-586, 2001. Disponível em:
<<http://www.ingentaconnect.com/content/iafp/jfp/2001/00000064/00000004/art00019>>. Acesso em 29 de ago. de 2014.

TIMONEY, J. F. In: GYLES, C. L.; PRESCOTT, J. F.; SONGER, J. G.; THOEN, C. O. **Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals**. Ed: Blackwell. 3 ed. 2004, 456.

TINDALL B.J. et al. Nomenclature and taxonomy of the genus *Salmonella*. International. **Journal System Evolution Microbiology**, 55:521-524, 2005.

TORTORA, G. J; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**, 6 ed. Porto Alegre, Artmed, p.83. 2000.

USDA. United States Departamento of Agriculture. 2014. Disponível em:<<http://www.usda.gov/wps/portal/usda/>>. Acessado em 17 de out. de 2014.

VÁZQUEZ-TORRES, A. et al. Extraintestinal dissemination of *Salmonella* by CD18-expressing phagocytes. **Nature**, v.401, p.804-808,1999. Disponível em:<<http://www.nature.com/nature/journal/v401/n6755/pdf/401804a0.pdf>>.Acesso em: 30 de Ago. de 2014.

VERNIKOS, G.S.; PARKHILL, J. Interpolated variable order motifs for identification of horizontally acquired DNA: revisiting the *Salmonella* pathogenicity islands. **BIOINFORMATICS ORIGINAL PAPER**, v.22, n.18, p.2196-

2203, 2006. Disponível em:

<<http://bioinformatics.oxfordjournals.org/content/22/18/2196.full.pdf+html>>. Acesso em: 30 de ago. de 2014.

VIEIRA, M.A. Ilhas de patogenicidade. **O Mundo da Saúde**, São Paulo, v.33, n.4, p.406-414, 2009.

WHO – World Health Organization. Mediacenter, *Salmonella* non Typhoidal. Face sheet N° 139. 2013. Disponível em:



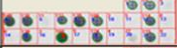




<<http://www.who.int/mediacenter/factsheets/fs139/en/index.html>>. Acessado em 17 de out. de 2014.

WONG K.K. et al. Identification and sequence analysis of a 27-kilobase chromosomal fragment containing a *Salmonella* pathogenicity island located at 92 minutes on the chromosome map of *Salmonella enterica* serovar TyphimuriumLT2, **Infection and Immunity**, v.66, n.7, p.3365-3371, 1998.

Disponível em: <http://iai.asm.org/content/66/7/3365.full>
Acesso em: 30 de ago. de 2014.

5 ANEXOS

Anexo 1 - Tipificação por microarranjo de *Salmonella* spp, tendo os genes capsulares e flagelares como referência para detecção.

	Kauffmann - White scheme	Check&Trace	
Enteritidis	O: <u>1</u> , 9, 12 H: g, m: -		Salmonella present, serovar: Enteritidis
Hadar	O: 6, 8 H: Z10: e, n, x		Salmonella present, serovar: Hadar
Heidelberg	O: <u>1</u> , 4, [5], 12 H: r: 1, 2		Salmonella present, serovar: Heidelberg
Infantis	O: 6, 7, <u>14</u> H: r: 1, 5		Salmonella present, serovar: Infantis
Montevideo	O: 6, 7, <u>14</u> H: g, m, [p], s: [1, 2, 7]		Salmonella present, serovar: Montevideo
Typhimurium	O: <u>1</u> , 4, [5], 12 H: i: 1, 2		Salmonella present, serovar: Typhimurium
Virchow	O: 6, 7, <u>14</u> H: r: 1, 2		Salmonella present, serovar: Virchow

Fonte: Imagem cedida pela Checkpoints®.

Anexo 2 - Número mais provável para uma quantidade inoculada de 0,1/ 0,01 e 0,001g

Combinações de Tubos Positivos	NMP/g Três Tubos	NMP/g Cinco Tubos	Combinação de Tubos Positivos	NMP/g Três Tubos	NMP/g Cinco Tubos
0-0-0	<3	<2	4-2-0	-	22
0-0-1	3	2	4-2-1	-	26
0-1-0	3	2	4-3-0	-	27
0-2-0	-	4	4-3-1	-	33
1-0-0	4	2	4-4-0	-	34
1-0-1	7	4	5-0-0	-	23
1-1-0	7	4	5-0-1	-	31
1-1-1	11	6	5-0-2	-	43
1-2-0	11	6	5-1-0	-	33
2-0-0	9	5	5-1-1	-	46
2-0-1	14	7	5-1-2	-	63
2-1-0	15	7	5-2-0	-	49
2-1-1	20	9	5-2-1	-	70
2-2-0	21	9	5-2-2	-	94
2-2-1	28	-	5-3-0	-	79
2-3-0	-	12	5-3-1	-	110
3-0-0	23	8	5-3-2	-	140
3-0-1	39	11	5-3-3	-	180
3-0-2	64	-	5-4-0	-	130
3-1-0	43	11	5-4-1	-	170
3-1-1	75	14	5-4-2	-	220
3-1-2	120	-	5-4-3	-	280
3-2-0	93	14	5-4-4	-	350
3-2-1	150	17	5-5-0	-	240
3-2-2	210	-	5-5-1	-	350
3-3-0	240	-	5-5-2	-	540
3-3-1	460	-	5-5-3	-	920
3-3-2	1100	-	5-5-4	-	920
3-3-3	>2400	-	5-5-5	-	-
4-0-0	-	13			
4-0-1	-	17			
4-1-0	-	17			
4-1-1	-	21			
4-1-2	-	26			

Fonte: Adaptado de Blodgett e Garthright (1998).