

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE CARÇAÇAS
CONGELADAS DE PERUS ADQUIRIDAS NO COMÉRCIO
VAREJISTA**

Higor Oliveira Silva

Médico Veterinário

2014

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE CARÇAÇAS
CONGELADAS DE PERUS ADQUIRIDAS NO COMÉRCIO
VAREJISTA**

Higor Oliveira Silva

Orientador: Prof. Dr. Oswaldo Durival Rossi Júnior

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária (Medicina Veterinária Preventiva)

2014

Silva, Higor Oliveira
S586 Avaliação microbiológica de carcaças congeladas de perus
a adquiridas no comércio varejista / Higor Oliveira Silva. --
Jaboticabal, 2014
xi, 54 p. : 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista,
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2010
Orientador: Oswaldo Durival Rossi Júnior
Banca examinadora: Luiz Augusto do Amaral, Naiá Carla
Marchi de Rezende Lago
Bibliografia

1. Coliformes termotolerantes. 2. Refrigeração. 3. *Salmonella*
spp.. 4. *Staphylococcus* coagulase positivo. I. Título. II.
Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 619:614.31:636.592

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

HIGOR OLIVEIRA SILVA - nascido em Uberlândia, Minas Gerais, em 26 de novembro de 1985, é Médico Veterinário, formado em janeiro de 2012, pela Universidade Federal de Uberlândia (UFU). Foi bolsista do Programa de Educação Tutorial Institucional da Faculdade de Medicina Veterinária da mesma instituição, desenvolvendo atividades de Pesquisa, Ensino e Extensão. Durante a graduação foi estagiário do Laboratório de Doenças Infecciosas da UFU, atuando principalmente no que se refere às zoonoses. Em 2011, realizou estágio supervisionado no Laboratório de Tecnologia de Produtos de Origem Animal do Departamento de Tecnologia da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, em Jaboticabal, SP, e ainda, junto ao Serviço de Inspeção Federal em Estabelecimento Abatedouro Avícola, Unidade de Uberlândia, MG. Em fevereiro de 2012 ingressou no Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária (Medicina Veterinária Preventiva), da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - Câmpus de Jaboticabal, onde desenvolveu o seu projeto de dissertação com bolsa da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), sob orientação do Prof. Dr. Oswaldo Durival Rossi Júnior, além de outros trabalhos paralelos na mesma área.

"Tudo é ousado para quem nada se atreve."

Fernando Pessoa

DEDICATÓRIA

A Maria Parecida e José Antônio, meus queridos pais, sem os quais nunca teria conseguido vencer mais esta etapa. Pelo incentivo e confiança em mim depositados. Pelo amor sem medidas e pelo esforço exaustivo em garantir condições para que eu pudesse alcançar meus objetivos. Não só dedico esta vitória como a atribuo com todo o merecimento também à vocês.

À Laíce, minha namorada, pelo amor verdadeiro e tremendo carinho. Pela compreensão e pelo apoio nos momentos mais difíceis. Por nunca me abandonar, muito pelo contrário, como uma companheira incansável esteve sempre ao meu lado e me deu forças e coragem pra erguer a cabeça e seguir em frente. Obrigado pelo perfume que colocaste em minha vida, sua felicidade sempre estará entre as maiores motivações de meus esforços.

Ao Hudson, meu irmão e grande amigo, pela torcida e apoio. Nossos caminhos nos separaram, mas os laços permanecerão sempre fortes.

A todos meus familiares, padrinhos, avós, tios e primos, pelo apoio, colaboração e carinho. Por transmitir força e sempre me acolher quando precisei.

AGRADECIMENTOS

À Deus que está sempre ao meu lado, guiando meus passos e me iluminando em minha jornada. Por me dar forças pra suportar todas as provações e os obstáculos do caminho.

Agradeço em especial à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP pela concessão da bolsa de mestrado e pelo auxílio financeiro em reserva técnica, essenciais para a concretização deste trabalho.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Oswaldo Durival Rossi Júnior pelo profissionalismo ao qual devo espelhar, pelos ensinamentos, lições de vida, conselhos e incentivo em todos os momentos.

Aos professores Dr. Luiz Augusto do Amaral e Dra. Naiá Carla Marchi de Rezende Lago por aceitarem participar da banca e pelas críticas e sugestões que muito contribuirão para o enriquecimento do trabalho.

Ao professor Dr. Luis Antonio Mathias pelos ensinamentos estatísticos e por toda paciência em me atender.

A professora Dra. Karina Bürger pela contribuição com o trabalho e disposição em ajudar, sempre com um sorriso no rosto.

Aos professores e funcionários do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da UNESP, que contribuíram de várias formas.

Aos colegas e funcionários do laboratório, em especial Lila e Diba, pela paciência e atenção a mim concedidas.

À UNESP e ao Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária Preventiva, pelo suporte e por possibilitarem a realização desse trabalho. Aos motoristas da FCAV, pelo bom humor e paciência durante as coletas.

Aos meus verdadeiros amigos que sempre compreenderam os meus momentos de ausência.

Aos colegas do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, por compartilharem o conhecimento comigo ao longo destes últimos anos.

Aos amigos da república Tia Méri, e a dona Fátima, pela amizade e principalmente por me acolherem e me proporcionarem momentos de alegria.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	x
ABSTRACT.....	xi
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
3. OBJETIVOS.....	21
3.1. Objetivo Geral.....	21
3.2. Objetivos Específicos.....	21
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	22
4.1. Plano Amostral.....	22
4.1.1. Descrição das Amostras.....	22
4.2. Procedimento Experimental.....	23
4.2.1. Determinação do Número Mais Provável (NMP) de Coliformes Totais/grama.....	23
4.2.1.1. Teste Presuntivo.....	23
4.2.1.2. Teste Confirmatório.....	24
4.2.2. Determinação do NMP de Coliformes Termotolerantes e <i>Escherichia Coli</i> por grama.....	24
4.2.2.1. Coliformes Termotolerantes.....	24
4.2.2.2. <i>Escherichia coli</i>	24
4.2.3. Contagem Padrão de Microrganismos Heterotróficos Aeróbios ou Facultativos, Mesófilos e Psicotróficos Viáveis.....	25
4.2.4. Contagem de <i>Staphylococcus</i> spp., <i>Staphylococcus</i> Coagulase Positivo e de <i>Staphylococcus aureus</i>	25
4.2.5. Pesquisa de <i>Salmonella</i> spp.	26
4.2.5.1. Pré-Enriquecimento.....	26
4.2.5.2. Enriquecimento Seletivo.....	26
4.2.5.3. Plaqueamento.....	27
4.2.5.4. Identificação Presuntiva.....	27

	Página
4.2.5.5. Sorologia.....	27
4.2.6. Sensibilidade a Agentes Antimicrobianos.....	28
4.3. Análise Estatística dos Resultados.....	28
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	29
6. CONCLUSÕES.....	42
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	43
8. REFERÊNCIAS.....	44

AValiação Microbiológica de Carcaças Congeladas de Perus Adquiridas no Comércio Varejista

RESUMO – Com o objetivo de avaliar as condições higiênicas e sanitárias de carcaças congeladas de perus, temperadas, foram colhidas 63 amostras no comércio varejista da região nordeste do Estado de São Paulo, levadas ao Laboratório de Análise de Alimentos de Origem Animal e Água, Campus de Jaboticabal, SP, e submetidas à determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais, coliformes termotolerantes e *Escherichia coli*, à quantificação de microrganismos heterotróficos mesófilos, psicrotóticos, *Staphylococcus* spp., *Staphylococcus* coagulase positivo e *Staphylococcus aureus*, e também à pesquisa e tipificação de bactérias do gênero *Salmonella*, bem como identificar, in vitro, os antimicrobianos mais eficazes contra os microrganismos isolados. Todas as 63 amostras analisadas mostraram-se de acordo com os padrões microbiológicos estabelecidos na RDC 12/2001 da ANVISA, com limite de 10^4 NMP/g para população de coliformes termotolerantes. Em nenhuma das 63 amostras analisadas foi identificado *Staphylococcus aureus* e também não foram encontrados microrganismos do gênero *Salmonella*. Os resultados atribuem condições higiênicas e sanitárias satisfatórias às carcaças congeladas de peru, temperadas, comercializadas no varejo da região nordeste do Estado de São Paulo. Entretanto, cuidados devem ser tomados pelo consumidor no sentido de garantir que os produtos não sejam expostos a temperaturas acima da refrigeração que permitam a multiplicação dos microrganismos presentes, especialmente dos *Staphylococcus* coagulase positivo, que apesar de não serem estabelecidos limites populacionais para estes microrganismos na legislação vigente para este produto, se apresentaram em populações moderadamente elevadas, constituindo risco caso sejam mantidos em condições de refrigeração inadequadas.

Palavras-chave: Coliformes termotolerantes, Refrigeração, *Salmonella* spp., *Staphylococcus* coagulase positivo

MICROBIOLOGICAL EVALUATION OF FROZEN TURKEY CARCASSES ACQUIRED IN THE RETAIL

ABSTRACT – This research aims to evaluate the hygienic and sanitary conditions of frozen carcasses of turkeys, tempered, 63 samples were taken at retail in the northeastern region of São Paulo, brought to the Food Analysis Laboratory of Animal Origin and Water, Jaboticabal, SP, and the samples were submitted to different determinations: populations of mesophilic aerobic bacteria and psychrotrophs, *Staphylococcus* spp., coagulase positive *Staphylococcus* and *Staphylococcus aureus* enumeration, Most Probable Number (MPN) of total coliforms, thermotolerant coliforms and *Escherichia coli*, as well as to research and typing bacteria of the genus *Salmonella*, and identify, in vitro, the most effective antibiotics against the isolated microorganisms. All 63 samples were found according to the microbiological standards established in the RDC 12/2001 ANVISA, on limit 10^4 NMP/g for thermotolerant coliform population. In the 63 samples were not identified *Staphylococcus aureus* and also microorganisms of the genus *Salmonella*. The results gave satisfactory sanitary conditions to frozen carcasses of turkey, tempered, sold in outlets in the northeastern region of São Paulo. However, cares must be taken by the consumers to ensure that the products are not exposed to temperatures above refrigeration that allow the multiplication of microorganisms, especially *Staphylococcus* coagulase positive, although there isn't population limits for these microorganisms in the current legislation for this product, presented at moderately high populations, constituting a risk if they are kept in conditions of inadequate cooling.

Keywords: Thermotolerant coliforms, Refrigeration, *Salmonella* spp., coagulase positive *Staphylococci*

1. INTRODUÇÃO

Dados publicados pelo Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA) apontam o Brasil como terceiro produtor mundial de carne de perus em 2013, atrás de Estados Unidos e União Européia (UE), e o segundo exportador, com volume aproximado de 175 mil toneladas (USDA, 2013).

Apesar da cadeia de produção da carne de perus crescer em ritmo considerável na última década no país, e ser possível encontrar uma gama de seus produtos nas gôndolas de lojas especializadas durante todo o ano, as carcaças congeladas de perus mesmo sendo comercializadas já temperadas e de grande praticidade de preparo, continuam a ser um produto de demanda sazonal, ligada principalmente às festividades de fim de ano.

Isso não as caracteriza, porém, como produto de baixo risco à Saúde Pública. Por se tratar de alimentos prontos para serem levados ao forno, estes produtos necessitam de atenção especial em zelar para que os riscos envolvendo patógenos causadores de doenças transmitidas por alimentos (DTAs), sejam os mínimos possíveis.

Neste sentido analisar a presença de bactérias patogênicas ou deteriorantes, torna-se ferramenta importante no monitoramento e controle da distribuição destes na cadeia produtiva, inclusive no elo final desta com o consumidor, o comércio varejista, permitindo assim avaliar as boas práticas de produção e armazenamento, fornecendo ainda, subsídios para que medidas adequadas sejam adotadas para assegurar a saúde do consumidor.

A RDC nº 12/2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), estabelece o limite para presença de coliformes termotolerantes de 10^4 NMP/g em “carnes cruas preparadas de aves, refrigeradas ou congeladas, temperadas”, reforçando a necessidade de constante vigilância das ações de controle sanitário, visando a proteção à saúde da população e a regulamentação dos padrões microbiológicos para alimentos (BRASIL, 2001).

Há grande escassez de pesquisas nacionais em nível de produto final da carne de perus. Pesquisas realizadas em países desenvolvidos demonstram, porém, o envolvimento destes produtos em surtos de DTAs.

Diante disso, é importante a realização de estudos acerca das condições e qualidade higiênico-sanitária das carcaças congeladas de perus comercializadas em varejo, suas implicações e os riscos que estas possam ocasionar à Saúde Pública.

2. REVISÃO DE LITERATURA

A avicultura brasileira responde por quase 1,5% do Produto Interno Bruto (PIB), empregando mais de 3,6 milhões de pessoas, direta e indiretamente (UBABEF, [2013a?]).

Em 2012 foram produzidos no país mais de 442 mil toneladas de carne de peru, sendo 81% comercializadas “in natura”. Os estados de Santa Catarina, Paraná e Minas Gerais foram, respectivamente, os maiores produtores (27%, 24,71% e 17,64%) e exportadores desta carne (43 mil, 41 mil e 32 mil toneladas), sendo 60% do total destinada ao mercado interno (UBABEF, 2013b).

A produção de perus tem ganhado importância principalmente pela representação econômica desta exploração para o comércio brasileiro. Estando em contínua expansão no mercado nacional e internacional, principalmente na União Europeia, Angola e Chile, é previsto um aumento de 3% na produção para o ano de 2014, o que representaria cerca de 535 mil toneladas. Espera-se ainda um acréscimo de 20% no volume total de exportação, alcançando 180.000 toneladas, mesmo tendo quadruplicado nos últimos cinco anos (USDA, 2013).

Um dos fatores que garantem a permanência das indústrias alimentícias no mercado são os bons registros de segurança de seus produtos. Isso gera uma constante pressão em manter a reputação frente aos meios de comunicação, pois situações adversas podem acarretar grandes prejuízos ou até mesmo comprometer anos investidos na conquista de consumidores (FORSYTHE, 2002).

A segurança alimentar é definida no *Codex Alimentarius* como “garantia de que os alimentos não apresentam perigo para o consumidor quando são preparados e/ou consumidos de acordo com o uso para o qual foram destinados” (WHO, 2002).

Neste sentido, é necessária atenção especial para assegurar que a qualidade microbiológica da carne de aves perdure até a mesa do consumidor (FORSYTHE, 2002; CARDOSO et al., 2005). Evitar a contaminação microbiana de produtos desta

natureza é um grande desafio, por ocasião da própria tecnologia de abate, que possui inúmeras possibilidades de contaminação, seja a partir das superfícies de equipamentos, das mãos e vestuários de funcionários envolvidos no processo, ou ainda pela água utilizada para lavagem das carcaças (ASLAM et al., 2004).

Ao avaliar o impacto ocasionado pela perda de confiança do consumidor, Corlett (1998) descreveu que para cada cliente insatisfeito que reclame, outros 26 mantêm-se em silêncio. O consumidor insatisfeito informa seu problema para entre 8 e 16 pessoas, e 10% destas comentam com mais 20 pessoas. Dos insatisfeitos, 91% nunca mais comprarão o produto que gerou o desagrado. Neste caso, se o consumidor insatisfeito informar o episódio a 8 pessoas, perde-se 208 consumidores. O autor calcula ainda que o custo para atrair um novo consumidor é cinco vezes maior que para manter um.

A produção e distribuição de alimentos pelas empresas multinacionais e a progressiva abertura do mercado, embora impulsionem o comércio internacional, oferecem novos riscos para a transmissão de doenças veiculadas por alimentos (KAFERSTEIN; MORTAJEMI; BETTCHER, 1997).

Diversas fases da produção são passíveis de contaminação das carcaças, representando um agravante para a indústria avícola e de processamento de carne, uma vez que o patógeno transferido para as carcaças torna-se fator de risco para a saúde pública (REZENDE et al., 2005).

Máquinas em mau estado de conservação ou pouco higienizadas, manipuladores de baixo nível técnico ou pouco capacitados, utensílios contaminados e água não tratada, constituem riscos à saúde pública, já que a maioria dos contaminantes microbianos prolifera rapidamente caso haja condições favoráveis, principalmente de temperatura e atmosfera gasosa, podendo provocar deterioração no produto final e, conforme o microrganismo, acarretar riscos à saúde do consumidor. Durante o processo industrial, contaminantes podem ser eliminados por tratamento térmico, mas isto não ocorre quando o produto é comercializado “in natura” (GERMANO; GERMANO, 2003).

Para diminuir ou deter a deterioração ocasionada por microrganismos, faz-se uso da conservação pelo frio, pois a redução da temperatura atribui maior vida útil à carne (BEN et al., 1999; JOUKI et al., 2012). O congelamento, porém, não destrói

completamente a microbiota presente no produto, havendo apenas redução do número de células viáveis durante o armazenamento (GALARZ; FONSECA; PRENTICE-HERNÁNDEZ, 2010; YAMMAMOTO; HARRIS, 2001; SARANTOPOULOS; OLIVEIRA; CANAVESI, 2001).

O processamento bem conduzido mantém baixos níveis de contaminação microbiana, uma vez que a qualidade final dependerá da extensão da contaminação/recontaminação das espécies bacterianas presentes e da temperatura de armazenamento (REINDERS et al., 2001).

Vários estágios da cadeia de frio apresentam-se como pontos fracos da cadeia de produtos perecíveis, como veículos de transporte, pontos de transferência ou salas de estocagem. Há ainda etapas como o transporte e distribuição final dos produtos que fogem ao controle direto da indústria e frequentemente desviam das especificações. Pontos de comércio varejistas nem sempre conseguem manter adequada a cadeia de frio, o que acarreta aumento dos riscos microbiológicos para produtos cárneos (VANDENDRIESSCHE, 2008).

Também deve ser dada importância ao controle de temperatura durante o armazenamento doméstico até o momento da preparação e consumo (NYCHAS et al., 2008; PATTRON, 2006). O processo de descongelamento é muito mais lento do que o congelamento e menos uniforme, sendo mais difícil de ser realizado com segurança, expondo determinadas áreas da carne a condições de temperatura favoráveis ao desenvolvimento microbiano (PHAN, 2004; LEYGONIE et al., 2012).

Nesse sentido, identificar os motivos que levam a sobrevivência e multiplicação de microrganismos no produto final é fundamental para a adoção de medidas que previnam novas ocorrências (TODD; GUZEWICH; BRYAN, 1997) e conscientizar o consumidor sobre os riscos envolvidos.

Um dos fatores de vital importância para definir a qualidade de um alimento, são suas características microbiológicas. No caso da carne, esta avaliação baseia-se em parâmetros higiênico-sanitários, que permitem uma análise global da matéria-prima, da higiene e limpeza durante o processo, além da provável vida útil do produto final. Estes parâmetros já têm relação direta com a presença de contaminantes microbianos potencialmente patogênicos, sendo estes estabelecidos por legislação (BRASIL, 2001).

Utilizados para avaliar a qualidade microbiológica de alimentos, os microrganismos indicadores apontam possíveis contaminações de origem fecal, com a provável presença de patógenos ou deterioração do alimento, além de indícios relevantes sobre as condições higiênicas e sanitárias durante a produção, o processamento e o armazenamento (FRANCO; LANDGRAF, 2003; JAY, 2005).

De acordo com Silva Junior (2002), os principais grupos de microrganismos indicadores são: psicrotróficos, mesófilos, termófilos, bactérias anaeróbias, indicadores de contaminação fecal, que incluem coliformes totais, coliformes termotolerantes, *Escherichia coli*, família Enterobacteriaceae, enterococos e *Clostridium perfringens*; ainda são indicadores *Staphylococcus aureus*, bactérias mesófilas produtoras de esporos, clostrídios sulfito redutores, bolores e leveduras, microrganismos halófilos, proteolíticos, lipolíticos e osmofílicos. Franco e Landgraf (2003) acrescentam ainda que esses microrganismos fornecem informações sobre as condições higiênicas e sanitárias do produto analisado, no que se refere à contaminação de origem fecal, presença de patógenos ou deterioração potencial do alimento.

No histórico da utilização dos indicadores de segurança, assumiu-se que os patógenos de interesse eram provenientes de fontes intestinais, resultado de uma contaminação fecal de origem direta ou indireta. Deste modo, indicadores sanitários foram utilizados para detectar contaminação fecal de águas e a possível presença de patógenos intestinais. O primeiro indicador fecal foi a *E. coli*. Quando o conceito de indicadores fecais foi aplicado aos alimentos, alguns critérios adicionais foram salientados, e aqueles sugeridos por Buttiaux e Mossel (1961) ainda continuam válidos. Seguindo a prática de empregar a *E. coli* como indicador de contaminação fecal de águas, outros microrganismos foram sugeridos com o mesmo propósito. Com o tempo, muitos deles foram aplicados em alimentos (JAY, 2005).

O grupo dos coliformes totais é representado de forma geral por quatro gêneros da família Enterobacteriaceae: *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia* e *Klebsiella*. Inclui bacilos Gram-negativos, não formadores de esporos, fermentadores de lactose e produtores de gás quando incubados a temperaturas entre 35° e 37°C por 48 horas. São utilizados para avaliar as condições higiênicas, e altas populações denotam contaminação pós-processamento, limpeza e sanitização inadequadas,

além de tratamentos térmicos pouco eficientes ou multiplicação durante o processamento ou estocagem. Envolve cerca de 20 espécies, incluindo bactérias do trato gastrointestinal do ser humano e outros animais homeotérmicos, e também espécies não entéricas (FRANCO; LANDGRAF, 2003).

Além de serem encontrados nas fezes, também estão presentes no solo. Desta forma, a presença de coliformes totais nos alimentos não indica, de fato, contaminação de origem fecal ou microrganismos enteropatogênicos. Para tanto, a pesquisa de coliformes termotolerantes e de *Escherichia coli* fornece informação mais segura das condições sanitárias e melhor evidenciam a provável presença de enteropatógenos (APHA, 2001).

O grupo dos coliformes termotolerantes é um subgrupo dos coliformes totais, restrito àqueles fermentadores de lactose em 24 horas a temperatura entre 44,5° e 45,5°C, com produção de gás. Associa-se sua presença em alimentos à contaminação de origem fecal, que evidencia condições higiênicas e sanitárias insatisfatórias, tendo em vista que a população deste grupo é constituída por uma alta proporção de *E. coli* (FRANCO; LANDGRAF, 2003), um bastonete Gram-negativo, não esporulado, oxidase negativa, móvel por flagelos peritríquios ou não-móvel, anaeróbio facultativo capaz de fermentar a glicose e a lactose produzindo ácido e gases. Compõe naturalmente a microbiota intestinal, e é considerada a mais conhecida e mais facilmente diferenciada dos membros não fecais (LEITE; FRANCO, 2006).

Isolada e estudada por Dr. Theodor Escherich, durante tentativa de isolar o agente etiológico da cólera, foi inicialmente denominada *Bacterium coli commune* por sua presença nas diarréias de todos os pacientes examinados. Hoje chamada de *E. coli*, foi sugerida como indicador de poluição fecal por Schardinger, por ser isolada e identificada mais facilmente que outros patógenos presentes na água. Em 1895, T. Smith, sugeriu um método para se mensurar a potabilidade da água, que ficou então conhecido como o início do uso dos coliformes como indicadores de patógenos na água, sendo estendida posteriormente aos alimentos. Embora também possa ser introduzida nos produtos alimentícios a partir de fontes não fecais é o melhor indicador de contaminação fecal conhecido, principalmente, por sua relação com a presença de outros enteropatógenos, como a *Salmonella* spp. (JAY,

2005). Sabe-se que *E. coli* podem produzir toxinas que levam ao desenvolvimento de enfermidades em humanos e em animais (DOMINGUE et al., 2003).

Carcças de perus têm sido comercializadas no mercado nacional principalmente na forma de carcaças congeladas temperadas. Alguns condimentos utilizados principalmente como temperos e agentes flavorizantes possuem atividade antimicrobiana (BURT, 2004; SALAN, 2004; ANKRI; MIRELMAN, 1999; BAUTISTA et al., 1997; SHELEF 1983; ZAIKA; KISSINGER, 1983).

De acordo com a RDC nº 12/2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), para “carnes cruas preparadas de aves, refrigeradas ou congeladas, temperadas”, o limite para presença de coliformes termotolerantes na amostra indicativa é de 10^4 NMP/g (quando obtido por metodologia do número mais provável). A regulamentação dos padrões microbiológicos dos alimentos destinados ao consumo humano é indispensável para a avaliação das Boas Práticas de Produção de Alimentos e Prestação de Serviços, da aplicação do Sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) e da qualidade microbiológica dos produtos alimentícios, incluindo a elucidação de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA). O descumprimento aos termos desta Resolução constitui infração sanitária, sujeitando os infratores às penalidades da Lei nº 6.437, de 20 de agosto de 1977, e demais disposições aplicáveis (BRASIL, 2001).

O envolvimento de bactérias pertencentes à família Enterobacteriaceae em DTAs, geralmente associa-se a saneamento deficiente, asseio inadequado de pessoal e por contaminação cruzada das superfícies de trabalho e utensílios (BOPP et al., 2003).

O grupo dos microrganismos heterotróficos mesófilos é formado por microrganismos aeróbios ou facultativos e se multiplicam preferencialmente em temperatura próxima a 37°C (JAY, 2005). A maior parte dos microrganismos encontrados nas aves ainda vivas são aeróbios mesófilos (CARDOSO et al., 2005). Altas populações deste grupo em alimentos indicam higiene insuficiente na produção e condições inapropriadas de tempo e temperatura durante a produção ou conservação (SILVA, 2010a; ICMSF, 2000), propiciando condições favoráveis à multiplicação microbiana, inclusive dos patogênicos, podendo ainda haver toxinas resultantes do metabolismo microbiano, caracterizando-os como risco (APHA, 2001).

Os microrganismos psicrófilos se desenvolvem em temperaturas abaixo de 20°C. Contudo, aqueles que são capazes de se desenvolver entre 0° e 7°C, são classificados como psicrotróficos (JAY, 2000). Os psicrotróficos são um grupo de microrganismos mesófilos cuja temperatura ótima de desenvolvimento se encontra em torno de 25°C, muitos deles são proteolíticos e lipolíticos (SILVA, 2010a). Podem multiplicar-se, mesmo que lentamente, em temperaturas iguais ou inferiores a 0°C e geralmente são responsáveis por grande parte das deteriorações, comprometendo a vida útil dos produtos dependendo da forma de conservação e o número de microrganismos presentes (VIEIRA; TEIXEIRA, 1997).

O gênero *Staphylococcus* pertence à família Micrococcaceae, são bactérias Gram positivas, imóveis, apresentam metabolismo respiratório e fermentativo, atuando sobre os carboidratos com produção de ácidos, sendo aeróbios ou anaeróbios facultativos (JAY, 2005). São microrganismos mesófilos que se multiplicam em temperaturas entre 7° e 48°C, com um ótimo em torno de 30° e 37°C (JABLONSKI; BOHACH, 1997). São resistentes ao congelamento e sobrevivem a temperaturas iguais ou inferiores a - 20°C, entretanto são prontamente destruídos pela cocção (HALPINDOHNALÉK & MARTH, 1989).

São tolerantes a concentrações de cloreto de sódio em torno de 15% e produzem enterotoxinas em concentrações de até 10% (SANTANA, 2010). Multiplicam-se melhor na faixa de pH 4,5 a 9,3, com pH ótimo entre 6 e 7 para produção de toxinas (BERGDOLL, 1989) e produzem enterotoxinas entre 10° e 46°C (FRANCO; LANDGRAF, 2003).

Em condições aeróbias, possuem capacidade de se multiplicar em ampla faixa de atividade de água (0,83 a 0,99). A produção de enterotoxinas é possível a partir de uma atividade de água de 0,86, sendo a ótima 0,99 (BENNETT, 1992). Esse microrganismo é considerado um agente de importância, pelo grande potencial como causador de intoxicações, devido a ingestão de enterotoxinas pré-formadas nos alimentos durante a multiplicação bacteriana (BREWER, 1991; DINGES; ORWIN; SCHLIEVERT, 2000; ZECCONI; HAHN, 2001).

As enterotoxinas são proteínas simples de baixo peso molecular, ricas em aminoácidos como a lisina, ácido aspártico, ácido glutâmico, tirosina, entre outros. A maioria possui cisteína, à qual acredita-se ser responsável pela atividade emética.

São resistentes às enzimas proteolíticas como a tripsina e a pepsina, que permite sua passagem pelo trato gastrointestinal. São extremamente resistentes ao calor, não sendo inativadas inclusive quando submetidas a processos de esterilização de alguns enlatados ou radiação ionizante e não ionizante, aumentando sua importância na indústria de alimentos e para a saúde pública (WONG; BERGDOLL, 2002).

Os primeiros relatos acerca das enterotoxinas datam de 1930, descritos por Dack et al. após a investigação de um surto ocorrido nos Estados Unidos, envolvendo 11 pessoas após ingestão de bolo recheado com creme, das quais nove apresentaram quadros severos com vômitos, cólicas e diarreia grave. Os autores atribuíram a causa a uma substância tóxica produzida pelos estafilococos. Nas duas décadas seguintes vários estudos foram conduzidos para determinar a natureza deste agente tóxico, contudo, várias divergências ocorreram entre os autores ao fato de se tratar de um carboidrato ou uma proteína. Apenas em 1973 Bergdoll et al. descreveram os diferentes tipos de toxinas, mais precisamente, como sendo 5 tipos distintos, denominados como enterotoxinas A; B; C1; C2; C3; D e E (BERGDOLL et al., 1973). Hoje vários grupos de enterotoxinas com diferentes características são reconhecidas, sendo a maioria dos surtos provocados pelas A e D (JAY, 2005).

A produção da enzima coagulase é uma das provas mais utilizadas para se correlacionar a cepa isolada à produção de enterotoxina, entretanto essa relação entre a produção da coagulase e a produção de enterotoxina não é absoluta (WONG; BERGDOLL, 2002). Já foi relatada a produção de enterotoxinas por espécies de estafilococos negativos na prova de produção da coagulase e apesar de geralmente haver o envolvimento de *S. aureus* nos surtos de intoxicação alimentar, outras espécies coagulase positivos, como *S. intermedius* e *S. hyicus* também se incluem (ZOLI; NEGRETE; OLIVEIRA, 2002).

Geralmente, os alimentos envolvidos em intoxicações estafilocócicas são ricos em proteína, sofrem aquecimento durante o processamento, e são deixados em temperatura inadequada por muito tempo (GENIGEORGIS, 1989). As espécies de maior importância em alimentos são *S. hyicus*, *S. chromogenes*, *S. intermedius* e ainda *S. aureus*, a mais associada a intoxicações, envolvida em 98% dos surtos de DTAs envolvendo este gênero (SANTANA et al., 2010; SU; WONG, 1997).

Staphylococcus aureus é uma bactéria patogênica cuja enfermidade resultante de seu envolvimento com os alimentos é classificada pelo ICMSF no grupo de risco III, que inclui doenças de perigo e risco moderado (SILVA, 2010a).

A gastroenterite estafilocócica se dá após a ingestão de alimentos contendo um ou mais tipos de enterotoxinas, e tanto o período de incubação da intoxicação como a severidade dos sintomas dependem da quantidade de toxina ingerida e da sensibilidade do indivíduo. Os principais sintomas são compostos por náuseas, vômitos, câibras abdominais e diarreia, podendo apresentar quadros febris quando há ingestão de grandes quantidades de toxina. O período de incubação é variável, podendo decorrer entre 15 minutos e 8 horas, sendo em média de 2 a 4 horas (WELKER et al. 2000; ZOLI; NEGRETE; OLIVEIRA, 2002; LOIR, Y. L.; BARON, F.; GAUTIR, M.; 2003).

O *S. aureus* está presente na pele, boca e fossas nasais do ser humano, a partir dos quais pode facilmente alcançar o alimento que manipula (MURRAY et al., 2000). Um alto percentual de pessoas sadias são portadoras de *S. aureus*, cerca de mais de 50% da população humana (BERGDOLL, 1989). Vanzo e Azevedo (2003) avaliaram amostras de fossas nasais, boca e mãos, de 67 manipuladores de alimentos em Ribeirão Preto-SP, e verificaram que 28 (41,8%) deles eram portadores de *S. aureus*, uma taxa considerada relativamente alta, sendo um possível elo de infecção cruzada e/ou contaminação de alimentos.

Sua presença em alimentos remete a condições inadequadas de higiene após o processamento, em decorrência de manipulação inadequada, ou limpeza e sanitização inapropriada dos equipamentos e utensílios (CUNHA NETO; SILVA; STAMFORD, 2002; SIQUEIRA, 1995).

Martins et al. (2003) destacam que a temperatura de refrigeração é eficaz no controle populacional de microrganismos deste grupo. Dessa forma, para prevenir a intoxicação estafilocócica, é importante além de manter a saúde dos manipuladores, manter os alimentos sob refrigeração, pois desta forma impede-se a multiplicação bacteriana em demasia e conseqüentemente a produção de enterotoxinas, evitando os surtos de intoxicação.

Entre 1969 e 1990 no Reino Unido ocorreram 359 surtos de intoxicação alimentar estafilocócica. As carnes de aves foram responsáveis por 22% dos

incidentes, a maioria atribuídos a frango cozido resfriado e em nove casos a carne de peru.

Em 1997 o *S. aureus* foi identificado como o agente etiológico em 569 de 1142 casos de intoxicações registrados na França (ROSEC & GIGAUD, 2002).

Já na Itália, em estudos realizados entre 2000 e 2002, verificou-se a presença de estafilococos coagulase-positiva em produtos de origem animal comercializados em supermercados, constatou-se que das 293 amostras de produtos cárneos analisados, 48% apresentavam o agente (NORMANNO et al., 2005).

Seguindo uma tendência mundial, os consumidores brasileiros também têm mostrado preocupação frente os riscos decorrentes das DTAs (GOMES, 2003).

Os dados referentes a surtos de doenças transmitidas por alimentos no Brasil são escassos, a maior parte dos relatos ocorreram nas regiões Sul e Sudeste, as áreas mais povoadas do país, principalmente por apresentarem sistemas de vigilância mais estruturados. Entretanto entre 2000 a 2011, 8.663 surtos de doenças transmitidas por alimentos foram registrados, afetando 163.425 pessoas e causando 112 mortes (Brasil, 2011).

Welker et al. (2000) ao investigarem 104 surtos ocorridos no Estado do Rio Grande do Sul em 2006 e 2007, observaram que *Staphylococcus* coagulase positivo estava envolvido em 28% dos casos, sendo os produtos cárneos responsáveis por 36% deles, dos quais 30% a carne de frango.

Em estudo realizado por Silva et al. (2010) entre 2005 e 2008 na região de Ribeirão Preto, SP, o *Staphylococcus aureus* foi o agente etiológico mais frequentemente envolvido em DTAs. Do total de 116 amostras de alimentos, em 13 (11,2%) foram isolados microrganismos potencialmente patogênicos e os produtos cárneos apresentaram maior envolvimento.

Outro patógeno de fundamental importância para a indústria alimentar e para a saúde pública pelo fato de também representar um dos principais parâmetros para a determinação dos padrões microbiológicos dos alimentos são as bactérias do gênero *Salmonella* (VON RUCKERT et al., 2009).

O gênero *Salmonella* pertence à família Enterobacteriaceae. São bacilos curtos, Gram-negativos, não esporulados. Geralmente são móveis com flagelos peritríquios, exceto *S. Pullorum* e *S. Gallinarum* que são imóveis. Sua multiplicação é

otimizada à temperatura de 37°C, porém também se multiplicam em temperaturas até 42°C, característica muito utilizada para reduzir a multiplicação de bactérias concorrentes, principalmente em amostras fecais (WALTMAN, 2000).

Quanto aos aspectos bioquímicos, são intracelulares facultativas, aeróbias ou anaeróbias facultativas (KAUFMANN; RAUPACH; FINLAY, 2001), catabolizam D-glicose ou outros carboidratos, com exceção de lactose e sacarose, produzindo ácido e gás. São catalase positiva e oxidase negativa como todos os membros da família. Utilizam o citrato como fonte de carbono, reduzem nitrato a nitrito e podem produzir ácido sulfídrico. Não fermentam malonato, não hidrolisam a uréia e não produzem indol. São conhecidos mais de 2500 sorotipos de *Salmonella*, classificados de acordo com antígenos somáticos e flagelares, conforme o esquema de Kauffman-White. Alguns sorotipos podem infectar as aves, causando ou não o paratifo aviário e podem ainda estarem associados com casos de DTAs (BERCHIERI JÚNIOR; FREITAS NETO, 2009).

Os sorotipos podem ser subdivididos em biotipos e fagotipos. A biotipagem analisa os diferentes padrões de fermentação de açúcares e assimilação de aminoácidos entre cepas de um mesmo sorovar. O método de fagotipagem é baseado na diferença de susceptibilidade das cepas a uma série de bacteriófagos (DUNKLEY et al., 2009).

Sua estrutura antigênica apresenta três tipos de antígenos: somático (O), composto de lipopolissacarídeos da parede celular, termorresistentes; flagelar (H) constituído de proteínas dos flagelos peritríqueos, termolábeis; e capsular (Vi), encontrado somente em *S. Typhi*, *S. Dublin* e *S. Hirchfeldii* (BARROW; HUGGINS; LOVELL, 1994).

As bactérias do gênero *Salmonella* causam nas aves o tifo aviário e a pulorose, cujos respectivos agentes etiológicos são *S. Gallinarum* e *S. Pullorum*, ou então, o paratifo aviário ocasionado por diversos sorotipos (JUNGHERR, 1940). A *S. Pullorum*, considerada agente de enfermidade de aves jovens devido à transmissão vertical, ocasiona enfermidade sistêmica de caráter agudo ou crônico, podendo resultar em alta mortalidade (BERCHIERI JÚNIOR; FREITAS NETO, 2009). *S. Gallinarum* ocasiona doença septicêmica aguda ou crônica, sendo mais comumente

observada em aves adultas. O tifo aviário possui características de septicemia e toxemia, com alta morbidade e mortalidade (SHIVAPRASAD, 2003).

Muitos sorovares de salmonela foram isolados de aves com ou sem apresentação de quadro clínico do paratifo aviário, sendo o mais comum *S. Typhimurium*, mas outros, entre eles *S. Enteritidis*, *S. Agona*, *S. Infantis*, *S. Hadar*, *S. Senftenberg* e *S. Heidelberg*, também foram identificados (BERCHIERI JÚNIOR, 2000).

O sistema intensivo de criação adotado na avicultura industrial tende a favorecer a entrada dessas bactérias nos plantéis, bem como permitir sua instalação, permanência e disseminação (BERCHIERI JÚNIOR; FREITAS NETO, 2009). As fontes de infecção de perus por *Salmonella* spp. são numerosas e semelhantes às dos frangos (POPPE, 2000) e a contaminação das carcaças é possível em diversas fases da produção, por ser encontrada nas penas, pele, pés e no trato digestivo das aves vivas, podendo contaminar a carne durante o processo de abate, evisceração e escaldagem (KNÖBL et al., 2000), além do risco de ocorrer contaminação cruzada durante o transporte dos perus (ARSENAULT et al., 2007). A contaminação da carne é encontrada principalmente onde há pouca higiene de abate (ISERI; EROL, 2010; KHAITSA; KEGODE; DOETKOTT, 2007; TRAMPEL et al., 2000).

Em função da sua implicação na Saúde Pública, e sabendo que a inocuidade dos produtos de origem animal é uma exigência nacional e internacional (SILVA, 1998), a prevenção da transmissão de *Salmonella* spp., por meio dos produtos de origem animal, tornou-se prioridade para o setor avícola (OLIVEIRA; SILVA, 2000).

O Ministério da Agricultura, da Pecuária e do Abastecimento (MAPA) estabeleceu por meio da Instrução Normativa nº. 70 (BRASIL, 2003), o plano denominado “Programa de redução de patógenos - Monitoramento microbiológico e controle de *Salmonella* spp. em carcaças de frangos e perus”, com o objetivo de realizar um constante monitoramento dos níveis de contaminação por este microrganismo em estabelecimentos de abate de aves. O plano atribuiu maior controle sobre o processo de abate visando atender as exigências de segurança alimentar, pautado nos princípios de Boas Práticas de Fabricação (BPF), Procedimento Padrão de Higiene Operacional (PPHO) e na APPCC.

O programa determina um agrupamento de análises que são realizadas em ciclos, estabelecendo um limite crítico de no máximo 12 análises positivas para *Salmonella* spp. em 51 amostras que compõem cada ciclo. Caso violado o limite crítico o Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal (DIPOA) determina ações restritivas junto ao estabelecimento produtor. Nesse sentido, o Programa assume importante papel por determinar a prevalência deste patógeno em carcaças de perus, bem como obter dados que possibilitem orientar estudos e estabelecer procedimentos regulatórios visando o controle sistemático desta bactéria no abate e processamento das carcaças de aves em estabelecimentos sob Inspeção Federal, contribuindo dessa forma para a redução dos riscos de que estas carcaças contaminadas cheguem à mesa do consumidor (BRASIL, 2003).

As DTAs ocasionadas por *Salmonella* spp. podem provocar uma série de sintomas incluindo gastroenterite, febre, dor abdominal, náusea, vômito, diarreia e dor de cabeça. Geralmente o quadro é limitado, mas pode ocorrer casos graves em idosos, crianças ou indivíduos imunologicamente comprometidos (FOLEY; LYNNE, 2008). Entre os agentes de DTAs, o gênero *Salmonella* é um dos principais determinantes de casos mortais, decorrente das complicações surgidas entre os pacientes afetados. A taxa de mortalidade situa-se ao redor de 4,1% e a carne de aves está incluída entre os alimentos que, comumente, mais transmitem a salmonela ao homem. Cerca de 5% das pessoas que sofrem salmonelose, tornam-se portadoras assintomáticas, por um tempo considerável, passando então, a exercer um importante papel na disseminação do agente, especialmente se participarem da cadeia de comercialização e produção de alimentos (JAY, 2000).

Historicamente *S. Typhimurium* era o agente mais comum associado às DTAs, contudo tem-se observado nas últimas décadas aumento da frequência de *S. Enteritidis* (BRADEN, 2006; FERNANDES et al., 2006). Este aumento foi verificado em 1993, associado à ocorrência de surtos de DTAs além da ocorrência de cepas resistentes aos agentes antimicrobianos (TAVECHIO et al., 1996).

Dados epidemiológicos divulgados em estudos recentes estimam que mais de 9 milhões de pessoas sofra alguma DTA nos EUA a cada ano. Tomando por base surtos ocorridos entre 1998 e 2008 os produtos cárneos de aves foram responsáveis por 22% das hospitalizações e 29% das mortes resultantes destas (PAINTER 2013).

Estando envolvida em quase 20.000 hospitalizações por ano, dentre estas, aproximadamente 380 mortes (SCALLAN et al., 2011), a salmonelose desponta como uma das principais DTAs de origem bacteriana (FOLEY; LYNNE, 2008).

Mais de 90.000 casos de salmonelose humana foram confirmados na União Européia pelo Sistema Europeu de Vigilância em 2010 (EFSA, 2012). Considerando que a maioria dos quadros gastroentéricos no ser humano desenvolve-se sem que haja hospitalização e sem que ocorra o isolamento do agente causal, a ocorrência das salmoneloses transmitidas por alimentos pode estar subestimada (FORSYTHE, 2002), pois a subnotificação dos serviços de vigilância epidemiológica é uma realidade mundial (SHINOHARA et al., 2008).

Vale ponderar que no Brasil, a ocorrência de DTAs provocadas por salmonela seja relevante devido às deficiências de saneamento básico e às más condições higiênicas e sanitárias do ambiente onde vive grande parte da população, aliadas ao precário controle de qualidade de algumas indústrias alimentícias (FUZIHARA; FERNANDES; FRANCO, 2000).

No comércio brasileiro de carnes as carcaças de aves podem ser encontradas nas formas resfriadas e congeladas. O resfriamento não inviabiliza a presença de salmonelas. Contudo, quando se trata de congelamento, espera-se que haja redução ou ausência de células bacterianas viáveis (SANTOS et al., 2000). Porém, Coelho et al. (1984) mostraram que houve sobrevivência da salmonela em amostras de carne bovina moída, armazenadas durante 90 dias a temperaturas de 0°C e -18°C.

Costa et al. (1996) em estudo realizado na cidade de Jaboticabal, interior de São Paulo, verificaram a presença de *Salmonella* spp. em 10,5% de 105 carcaças de frangos analisadas, provenientes de abatedouros com e sem controle higiênico sanitário.

Em trabalho experimental desenvolvido por Santos et al. (2000) com o objetivo de investigar a presença de salmonela em 150 carcaças de frango congeladas obtidas no varejo da cidade de Jaboticabal, verificaram que o percentual de positividade foi de 32%, sendo *S. Enteritidis* o sorovar mais encontrado, na ordem de 60,4% das amostras positivas, seguido de *S. Schwarzengrund* (8,3%), *S. Agona*

e *S. Poona* (6,2%), *S. Hadar* e *S. Mbandaka* (4,2%), *S. Anatum*, *S. Havana*, *S. Montevideo*, *S. Ouakan*, *S. I 4,5, 12:-* (2,1%).

Tessari et al. (2008), analisaram 116 amostras de carcaças de frango congeladas por meio do método convencional de cultivo, e constataram a presença de *Salmonella* spp. em 1,7% das amostras analisadas e ainda *S. Enteritidis* em 0,8%, totalizando 2,5%.

No estudo de Reiter et al. (2007) foi avaliada a prevalência de salmonela em cortes de frango em um abatedouro do sul do país. Os autores isolaram *Salmonella* spp. em 16,7% das amostras de asas congeladas e 13,3% das amostras de coxas congeladas.

Estes estudos demonstram que deve ser dada a devida atenção mesmo às carcaças congeladas por conta da possibilidade de também veicularem a *Salmonella* spp. Mondini e Gasparini (1964) já afirmavam que o comércio internacional de carne de peru congelada também pode ser um perigo.

Contudo, em nosso país são escassos os estudos que envolvam a carne de peru quanto à pesquisa de *Salmonella* spp., permitindo questionamentos quanto à segurança microbiológica destes produtos. Em contrapartida, há relatos de contaminação deste tipo de produto em estudos conduzidos nos EUA e na UE. Bryan et al. (1988) relatam que nos Estados Unidos e na Grã-Bretanha a carne de peru é responsável por duas vezes mais casos de salmonelose que a carne de frango.

Synnott et al. (1998) relataram um surto ocorrido em 1996 em Stafford, norte da Inglaterra. Os autores isolaram *S. Agona* em amostras de carne de peru pré-cozidas oferecidas no comércio.

Em estudo conduzido entre 2004 e 2005, em Ancara, capital da Turquia, por meio de cultura convencional foi isolada *Salmonella* spp. em 110 (45,8%) das 240 amostras analisadas de carne de peru moída comercializadas (ISERI; EROL, 2010).

Khaita, Kegode e Doetkott (2007) investigaram a ocorrência de *Salmonella* spp. em carne de peru oferecidas em diferentes pontos de venda no oeste dos EUA. Foram analisadas um total de 959 amostras, sendo 345 de carne crua e 614 prontas para serem consumidas. Das amostras analisadas, apresentaram contaminação por *Salmonella* spp. 4,1% das de carne crua, e 1,1% daquelas prontas para consumo.

A salmonelose torna-se um problema ainda maior pelo fato de muitas cepas apresentarem resistência a vários agentes antimicrobianos. O uso indiscriminado ou incorreto de antibióticos na medicina humana, na veterinária e na agricultura, tem contribuído muito para o aumento de resistência dos microrganismos a esses agentes (WHO, 2000).

Apesar do controle de resíduos de antimicrobianos em produtos de origem animal, ainda é possível encontrar microrganismos resistentes, provavelmente devido à administração equivocada realizada em propriedades de exploração zootécnica, por pessoas com pouca orientação sobre a correta administração destes (BRASIL, 1999). A exposição de microrganismos a doses subletais de antimicrobianos resulta no desenvolvimento de cepas com a resistência aumentada para estes antimicrobianos. Por esta razão, é importante que investigações sejam conduzidas quanto ao comportamento das bactérias frente aos antimicrobianos (COSTA et al., 2002). O acompanhamento das tendências de resistência é importante para intervir de forma adequada (EFSA, 2008).

Santos et al. (2000) identificaram 11 sorotipos em 150 carcaças de frango congeladas comercializadas no município de Jaboticabal, SP. O antibiograma dos isolados mostrou 100% de resistência à ampicilina, 75,0% à cefalotina, 52,1% à cefoxitina, 22,9% à tobramicina, 6,2% à polimixina B e à tetraciclina, 4,2% à gentamicina e 2,1% à netilmicina, ao aztreonam e à amicacina.

Em estudo realizado por Iseri e Erol (2010) *Salmonella* spp. foram isoladas em 110 de 240 amostras de carne de peru moída. Dos 110 isolados, 54 (49,0%) mostraram-se resistentes a antimicrobianos. Dentre os resultados observados, apresentaram maior resistência ao ácido nalidíxico (25,4%), seguido da estreptomicina (17,2%) e tetraciclina (15,4%). Foi observado ainda 9,9% dos isolados com múltipla resistência a quatro ou mais antimicrobianos e 1,8% à pelo menos dois.

Khaita, Kegode e Doetkott (2007), ao avaliarem o padrão de resistência a antimicrobianos por *Salmonella* spp. encontradas em carnes de perus oferecidas em diferentes pontos de venda no oeste dos EUA, verificaram ao todo 6 sorotipos diferentes, S. Hadar, S. Heidelberg, S. Typhimurium var. Copenhagen, S. Newport, S. Saintpaul e S. Agona; que foram testados frente à 15 antimicrobianos usados no

tratamento humano. Foi observada resistência à tetraciclina (76%), seguida por sulfisoxazol (43%), cloranfenicol (38%) e ampicilina (38%). Todos os isolados testados foram sensíveis à amicacina, ciprofloxacina, ceftriaxone, gentamicina e ácido nalidíxico.

A European Food Safety Authority (EFSA) é tida como o alicerce da UE na avaliação de riscos referentes à segurança alimentar humana e animal. Criada em Janeiro de 2002 como parte de um programa para melhoria da segurança alimentar, após uma série de casos de DTAs no final da década de 90, funciona como órgão de comunicação sobre os riscos existentes e emergentes, além de orientação científica. Percebendo a importância de acompanhar a ocorrência de resistência antimicrobiana de isolados obtidos de alimentos e animais, 2010 foi o primeiro ano em que a EFSA incluiu em seu relatório dados quantitativos referentes aos níveis de resistência de *Salmonella* spp. aos antimicrobianos alcançados a partir de isolados de perus. Dados registrados em 9 dos 25 países que compõem a UE, demonstraram que o nível de resistência da *Salmonella* spp. à ampicilina, sulfonamidas e tetraciclina foi de, 51%, 64% e 75%, respectivamente. *Salmonella* Typhimurium foi analisado apenas na França e Alemanha, contudo ambos declararam níveis extremamente elevados de resistência a estes antimicrobianos, com níveis de 90% à ampicilina, 100% às sulfonamidas e 90% às tetraciclina na França e 77%, 77%, e 73%, respectivamente, na Alemanha. Notou-se ainda, que os níveis de resistência registrados são mais elevados em isolados de perus em comparação com os de frangos (EFSA, 2010).

Estudos conduzidos nos EUA pelo Sistema Nacional de Monitoramento de Resistência Antimicrobiana (NARMS), programa de colaboração entre os Centros de Controle e Prevenção de Doenças (CDC), Centro de Administração de Alimentos e Medicamentos de Medicina Veterinária (FDA-CVM) e do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA), com o intuito de monitorar a resistência antimicrobiana de bactérias entéricas envolvidas em surtos de DTAs, analisaram amostras isoladas de humanos pelo CDC, produtos cárneos do FDA-CVM comercializados no varejo, e ainda, de animais destinados à produção pelo Serviço de Pesquisa Agrícola USDA. Observou-se que 4,1% dos isolados de perus eram

resistentes à amoxicilina/ácido clavulânico, ampicilina, ceftiofur, cloranfenicol, estreptomicina, tetraciclina e sulfametoxazol (FDA, 2010).

Pesquisas realizadas em países desenvolvidos já têm demonstrado o envolvimento da carne de perus nos surtos de DTAs e que a resistência aos antimicrobianos também é uma preocupação pertinente. Tendo em vista as considerações apresentadas e ainda a escassez de pesquisas que envolvam os produtos derivados da produção de perus, as implicações e os riscos que as DTAs proporcionam à Saúde Pública, considera-se importante e necessária a realização de estudos que abordem as características deste segmento quanto às condições e qualidade higiênico-sanitária dos produtos comercializados, além de acompanhar e registrar o comportamento de cepas que por ventura venham a ser isoladas. Deste modo, o presente estudo contribui para enriquecer a pesquisa nacional neste âmbito e estimula que novos pesquisadores também busquem contribuir acerca dos produtos finais oriundos da cadeia produtiva de perus.

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GERAL

Avaliar as características higiênicas e sanitárias de carcaças congeladas de perus, temperadas, adquiridas no comércio varejista, tendo como parâmetro a RDC nº12 de 2 de janeiro de 2001.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Quantificar microrganismos heterotróficos mesófilos e psicrotróficos em carcaças de perus congeladas, adquiridas em diferentes pontos comerciais.

Determinar o número mais provável de coliformes totais, coliformes termotolerantes e *Escherichia coli*.

Quantificar *Staphylococcus* spp., *Staphylococcus* coagulase positivo e *Staphylococcus aureus*.

Pesquisar, isolar e tipificar *Salmonella* spp.

Identificar, in vitro, os antimicrobianos mais eficazes contra *Salmonella* isolada e tipificada.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. PLANO AMOSTRAL

Foram adquiridas entre Outubro de 2012 e Novembro de 2013 um total de 63 amostras de carcaças congeladas de peru, temperadas, de três marcas diferentes amplamente comercializadas, sendo 21 amostras de cada marca, denominadas aqui como A, B e C, todas processadas sob fiscalização federal. Foram adquiridas em sete pontos comerciais, sendo cinco deles varejistas e dois atacadistas da região nordeste do estado de São Paulo.

As amostras foram colhidas em sua embalagem original, acondicionadas em caixa de isopor com gelo e levadas ao Laboratório de Análise de Alimentos de Origem Animal e Água, do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária da Universidade Estadual Paulista – Campus de Jaboticabal, SP, onde foram mantidas à temperatura de congelamento, a fim de manter a mesma condição do produto oferecido nos pontos de coleta. Procurou-se colher as amostras sempre no mesmo horário.

4.1.1. DESCRIÇÃO DAS AMOSTRAS

As carcaças são comercializadas inteiras, congeladas, com peso médio de 4 kg. Já temperadas, constituem-se de grande praticidade de preparo, por estarem prontas para ser levadas direto ao forno, inclusive contendo termômetro indicador.

O tempero das carcaças é composto basicamente de água, sal, proteína de soja, açúcares, especiarias naturais (incluindo pimenta, alho, cebola, dentre outros), realçador de sabor glutamato monossódico, estabilizantes como o polifostato de sódio, bem como o antioxidante eritorbato de sódio.

4.2. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

As carcaças foram descongeladas em temperatura de refrigeração por 48 horas. Assepticamente depois de pesadas, foram retiradas de sua embalagem original e transferidas para sacos de polietileno esterilizados. Foram adicionados 800 mL de água peptonada 0,1% tamponada pH 7,2, independente do peso da carcaça, e procedeu-se o processo de enxaguadura agitando o saco e massageando a amostra contida no mesmo por 2 minutos.

A proporção de diluente utilizado foi diferente de 1:1 (peso de amostra: volume de diluente), sendo assim calculou-se quantos gramas de amostra correspondiam a 1mL de lavado (igual ao peso da amostra lavada dividido por 800, volume de diluente), para permitir a conversão do número de UFC/mL para UFC/g de amostra. O volume de lavado foi considerado como a primeira diluição (10^0). Posteriormente foram preparadas as demais diluições decimais seriadas para o restante das análises.

Para a determinação do número mais provável (NMP) de coliformes totais por grama; NMP de coliformes termotolerantes e *Escherichia coli* por grama; contagem padrão de microrganismos heterotróficos aeróbios ou facultativos, mesófilos e psicrotróficos viáveis; pesquisa de *Salmonella* spp., e ainda, contagem de *Staphylococcus* spp., *Staphylococcus* coagulase positivo e de *Staphylococcus aureus* a metodologia foi baseada nas técnicas descritas por American Public Health Association (APHA, 2001).

4.2.1. DETERMINAÇÃO DO NÚMERO MAIS PROVÁVEL (NMP) DE COLIFORMES TOTAIS/GRAMA

4.2.1.1. TESTE PRESUNTIVO

A partir das diluições seriadas inoculou-se 1 mL, respectivamente, três tubos de caldo lauril sulfato triptose com tubo de Durham invertido, que permaneceram incubados a 35°C por 24 horas. Foram considerados positivos aqueles que revelaram desenvolvimento bacteriano e produção de gás, evidenciado pelo

acúmulo de gás no tubo de Durham. Em caso negativo, o tubo era reincubado até completar 48 horas.

4.2.1.2. TESTE CONFIRMATÓRIO

Dos tubos considerados positivos, no teste presuntivo, com auxílio de uma alça de níquel-cromo, foi transferida uma alçada de cada cultura para tubos correspondentes contendo tubo de Durham invertido e caldo lactosado verde brilhante – bile a 2%. A incubação se deu a 35°C por 24 a 48 horas. Foram considerados positivos os tubos que apresentaram desenvolvimento bacteriano e produção de gás. O resultado final foi obtido comparando-se os números de tubos positivos com os dados da tabela de Hoskins, considerando sempre três diluições consecutivas a partir da maior diluição com três tubos positivos.

4.2.2. DETERMINAÇÃO DO NMP DE COLIFORMES TERMOTOLERANTES E *Escherichia coli* POR GRAMA

4.2.2.1. COLIFORMES TERMOTOLERANTES

Dos tubos de caldo lauril sulfato triptose considerados positivos, foram transferidas uma alçada de cada cultura para tubos correspondentes de caldo *Escherichia coli* (Caldo EC) com tubo de Durham invertido. Estes foram incubados em banho-maria a $45,5 \pm 0,2^\circ\text{C}$ por 24 horas e os tubos que apresentaram desenvolvimento bacteriano e produção de gás, foram considerados positivos. Posteriormente o NMP por grama foi calculado com o auxílio da tabela de Hoskins.

4.2.2.2. *Escherichia coli*

A partir de cada tubo contendo caldo EC que apresentaram resultados positivos para coliformes termotolerantes, estriou-se uma alçada em placas de ágar eosina azul de metileno (EMB) que permaneceram incubadas a 35°C por 24 horas. Após a incubação, quando houve o desenvolvimento de colônias típicas de *E. coli*

(de cor negra, chata, seca e com brilho metálico) três a cinco delas foram transferidas para agar nutriente inclinado, que foi incubado a 35°C por 24 horas.

Após incubação, foram preparadas lâminas coradas pelo método de Gram, para verificar a morfologia bacteriana. Constatada a presença de bacilos Gram-negativos, em cultura pura, semeou-se os meios teste para provas bioquímicas (IMViC) para identificação; produção de indol (I), de Vermelho de Metila (VM), de Voges-Proskauer (VP) e de aproveitamento de citrato (C). Na realização destas provas foi adotada a metodologia descrita por MacFADDIN (1976).

4.2.3. CONTAGEM PADRÃO DE MICRORGANISMOS HETEROTRÓFICOS AERÓBIOS OU FACULTATIVOS, MESÓFILOS E PSICROTÓFICOS

Para estas determinações utilizou-se o método “pour plate”. Foram depositados 1mL de cada diluição no fundo de placas de Petri esterilizadas, em duplicatas, distribuídas em duas séries. Em seguida, foram adicionados 15 a 20 mL de ágar padrão para contagem, fundido e resfriado a temperatura de aproximadamente 45°C. Procedeu-se com a mistura do inóculo com o meio movimentando suavemente as placas em “forma de oito”. A solidificação do ágar se deu em temperatura ambiente. Uma série de placas foi incubada a 37°C por 48 horas, para a contagem de mesófilos e outra a 7°C por 10 dias em incubadora B.O.D., para a contagem de psicrotóxicos.

As contagens foram realizadas em contador de colônias, seguindo a técnica padrão, em placas sem espalhamento e preferencialmente com 25 a 250 colônias. A média aritmética do número de colônias contadas nas placas, multiplicado pelo fator de diluição correspondente, fornecem o número de microrganismos mesófilos e psicrotóxicos por grama da amostra analisada.

4.2.4. CONTAGEM DE *Staphylococcus* spp., *Staphylococcus* COAGULASE POSITIVO E DE *Staphylococcus aureus*

Inoculou-se 0,1 mL das diluições de 10^0 , 10^{-1} e 10^{-2} em placas contendo ágar Baird-Parker. Após, o inóculo foi distribuído por toda a superfície do meio utilizando

um bastão de vidro em forma de “L” esterilizado das placas de maior para as de menor diluição até que o líquido fosse absorvido. Em seguida, as placas foram incubadas a 35°C por 24 a 48 horas. Após a incubação foram selecionadas as placas com 20 a 200 colônias que se apresentassem negras, brilhantes, com zona de precipitação e circundadas ou não por halo claro.

Das colônias com estas características, três a cinco foram semeadas em tubos de ágar nutriente inclinado e incubadas a 35°C por 24 horas. Posteriormente foram preparadas lâminas e coradas pelo método de Gram. As culturas em forma de cocos Gram-positivos agrupadas em forma de cachos de uva, seguiram para a prova de catalase para confirmar o gênero. Aquelas positivas foram submetidas à prova de coagulase livre com plasma de coelho citratado. A população de *Staphylococcus* coagulase positivo foi obtida com base no resultado desta prova, sendo proporcional ao número de colônias contadas em placa.

Averiguou-se a presença de *Staphylococcus aureus*, por meio das provas de fermentação do manitol em anaerobiose, e produção de acetoina (VP), de acordo com metodologia descrita por Mac Faddin (1976).

4.2.5. PESQUISA DE *Salmonella* spp.

4.2.5.1. PRÉ-ENRIQUECIMENTO

Após o processo de enxaguadura das carcaças e preparo das diluições das amostras, a solução restante foi mantida por 12 horas em temperatura ambiente, com posterior incubação a 37°C por mais 24 horas para a fase de pré-enriquecimento.

4.2.5.2. ENRIQUECIMENTO SELETIVO

Após a incubação, alíquotas de 2 mL do caldo de pré-enriquecimento foram repassadas para tubos contendo 20 mL de caldo selenito cistina, acrescidos de

solução de novobiocina (0,004%) e 0,2 mL para tubos contendo 20 mL de caldo Rappaport-Vassiliadis, também acrescido de solução de novobiocina (0,004%), e estes incubados a 37°C por mais 24 horas.

4.2.5.3. PLAQUEAMENTO

Fazendo uso de alça de níquel-cromo, as culturas em enriquecimento seletivo foram semeadas pela técnica de esgotamento em placas contendo ágar verde brilhante e ágar Mac Conkey, as quais foram incubadas a 37°C por 24 horas.

4.2.5.4. IDENTIFICAÇÃO PRESUNTIVA

Após 24 horas incubadas, verificou-se a presença de colônias sugestivas do gênero *Salmonella*, nas placas de ágar verde brilhante e ágar Mac Conkey. Aquelas colônias sugestivas, transparentes e arredondadas, foram transferidas para Agar Tríplice Açúcar Ferro (TSI) (Oxoid® CM 277) inclinado e Agar Lisina Ferro (LIA) (Oxoid® CM 381) inclinado, e incubados a 37°C por 24 horas.

As colônias que se apresentassem com características sugestivas do gênero *Salmonella* seriam semeadas em Agar Lúria Bertani (LB) (Difco™ 24110) e posteriormente incubadas a 37°C por 24 horas.

4.2.5.5. SOROLOGIA

As colônias bacterianas que exibissem crescimento compatíveis com o gênero *Salmonella*, seriam submetidas ao teste de aglutinação em lâmina, com a adição de soros anti-antígenos somáticos “O” e anti-antígenos flagelares “H” de *Salmonella* spp. (Probac do Brasil). Caso ocorressem colônias que reagissem positivamente, estas seriam enviadas ao Setor de Bacteriologia do Instituto Adolfo Lutz de São Paulo/SP para tipagem.

4.2.6. SENSIBILIDADE A AGENTES ANTIMICROBIANOS

Caso fosse isolada *Salmonella* spp. seriam realizados, conforme a técnica descrita por Kirby-Bauer (Bauer et al. 1964), os testes de sensibilidades aos antimicrobianos; gentamicina (10mcg), netilmicina (30mcg), carbenicilina (100mcg), cloranfenicol (30mcg), tetraciclina (30mcg), amicacina (30mcg), cefalotina (30mcg), ampicilina (10mcg), tobramicina (10mcg), polimixina B (300mcg), sulfazotrim (25mcg) e cefoxitina (30mcg), e a leitura e interpretação dos resultados se daria pela mensuração do halo de inibição utilizando régua milimetrada e seguindo critérios específicos instituídos para cada agente antimicrobiano, estabelecido pelo National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) (CLSI M100-S21, 2011), classificando as estirpes em sensíveis, intermediárias ou resistentes.

4.3. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Realizou-se análise estatística comparando os níveis de contaminação por *Staphylococcus* coagulase positivo entre as três marcas comerciais, por meio do teste Exato de Fisher.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A determinação populacional de coliformes totais apresentou maior variação nas amostras pertencentes à marca B, variando entre $< 3,0$ e $8,7 \times 10^1$ NMP/g. Nas demais amostras ocorreram variações entre $< 3,0$ e $8,6$ NMP/g para aquelas da marca A e $< 3,0$ e $9,3$ NMP/g para as da marca C (Tabela 1).

As populações de coliformes termotolerantes variaram com pouca amplitude, entre $< 3,0$ a $4,6$ NMP/g nas amostras da marca A e $< 3,0$ e $5,4$ NMP/g na marca C. Já a marca B apresentou população $< 3,0$ NMP/g (Tabela 1).

Tabela 1. Valores mínimos e máximos do número mais provável por grama (NMP/g) das populações de coliformes totais, coliformes termotolerantes e *Escherichia coli* em 63 amostras de carcaças congeladas de peru, temperadas, de três marcas comerciais distintas adquiridas em diferentes pontos comerciais.

Marcas	Populações de Microrganismos					
	Coliformes Totais (NMP/g)		Coliformes Termotolerantes (NMP/g)		<i>Escherichia coli</i> (NMP/g)	
	Min	Max	Min	Max	Min	Max
A	$< 3,0 \times 10^0$	$8,6 \times 10^0$	$< 3,0 \times 10^0$	$4,6 \times 10^0$	$< 3,0 \times 10^0$	$< 3,0 \times 10^0$
B	$< 3,0 \times 10^0$	$8,7 \times 10^1$	$< 3,0 \times 10^0$	$< 3,0 \times 10^0$	$< 3,0 \times 10^0$	$< 3,0 \times 10^0$
C	$< 3,0 \times 10^0$	$9,3 \times 10^0$	$< 3,0 \times 10^0$	$5,4 \times 10^0$	$< 3,0 \times 10^0$	$< 3,0 \times 10^0$

Dentre as amostras da marca A, 90,5% apresentaram populações $< 3,0$ NMP/g. O mesmo se observou em 80,9% daquelas da marcas B e 90,5% da marca C (Tabela 2).

Tabela 2. Distribuição das 63 amostras de carcaças congeladas de peru, temperadas, de três marcas distintas adquiridas em diferentes pontos comerciais, de acordo com o intervalo de variação populacional do número mais provável por grama (NMP/g) de coliformes totais.

População (NMP/g)	Número de amostras (%)		
	Marca A	Marca B	Marca C
$<3,0 \times 10^0$	19 (90,5)	19 (90,5)	17 (80,9)
$3,0 \times 10^0$ — $5,0 \times 10^0$	1 (4,8)	1 (4,8)	1 (4,8)
$5,0 \times 10^0$ — $1,0 \times 10^1$	1 (4,8)	0 (0,0)	3 (14,3)
$1,0 \times 10^1$ — $5,0 \times 10^1$	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
$5,0 \times 10^1$ — $1,0 \times 10^2$	0 (0,0)	1 (4,8)	0 (0,0)
Total de amostras	21 (100,0)	21 (100,0)	21 (100,0)

Os resultados remetem a boas condições higiênicas de processamento, devido aos baixos níveis populacionais observados neste grupo de microrganismos, onde somente uma das 63 amostras analisadas apresentou população superior a $5,0 \times 10^1$ NMP/g.

Os fosfatos, constituintes do tempero deste tipo de produto, demonstram papel importante no controle de microrganismos deste grupo. Bautista et al. (1997) demonstraram que o fosfato Trissódico promoveu redução de 1,7 ciclos log nas contagens de coliformes de carcaças de perus refrigeradas experimentalmente contaminadas. Os autores acreditam que sua atividade pode estar relacionada à sua alta alcalinidade.

Vale destacar ainda que a aplicação do congelamento também pode ter sido fator importante frente à população deste grupo de microrganismos. Jouki et al. (2012) ao investigarem o efeito do tempo de armazenamento sobre a qualidade da carne de perus, observaram significativa redução da carga microbiana de coliformes totais quando armazenada a -18°C , atribuindo efeito eficaz ao congelamento no controle de microrganismos deste grupo.

Nas análises de coliformes termotolerantes observou-se que todas as amostras pertencentes à marca B apresentaram populações $< 3,0$ NMP/g. Nas demais, apenas 2 amostras de cada marca comercial exibiram populações entre $3,0$ e $1,0 \times 10^1$ representando 9,5% delas (Tabela 3).

Tabela 3. Distribuição das 63 amostras de carcaças congeladas de peru, temperadas, de três marcas distintas adquiridas em diferentes pontos comerciais, segundo o intervalo de variação populacional do número mais provável por grama (NMP/g) de coliformes termotolerantes.

População (NMP/g)	Número de amostras (%)		
	Marca A	Marca B	Marca C
$<3,0 \times 10^0$	19 (90,5)	21 (100,0)	19 (90,5)
$3,0 \times 10^0$ — $5,0 \times 10^0$	2 (9,5)	0 (0,0)	1 (4,8)
$5,0 \times 10^0$ — $1,0 \times 10^1$	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (4,8)
Total de amostras	21 (100,0)	21 (100,0)	21 (100,0)

Todas as amostras encontram-se em pleno acordo com os padrões microbiológicos estabelecidos na RDC 12/2001 da ANVISA, onde o limite estabelecido para população de coliformes termotolerantes para “carnes cruas preparadas de aves, refrigeradas ou congeladas, temperadas”, é de 10^4 NMP/g (BRASIL, 2001).

Os resultados foram interpretados como indicado no anexo II da RDC 12/2001, comparando com os valores estabelecidos no Anexo I da mesma Resolução, onde tem-se: produtos em condições sanitárias satisfatórias, aqueles cujos resultados analíticos não excedam os estabelecidos para esse tipo de amostra; e produtos em condições sanitárias insatisfatórias, aqueles cujos resultados extrapolam os limites estabelecidos para tal tipo de alimento.

Os resultados apresentados na Tabela 4 mostram que em apenas quatro amostras foram identificadas *Escherichia coli*, com populações inferiores a 3,0 NMP/g, demonstrando boas condições de saneamento e higiene.

Tabela 4. Número mais provável por grama (NMP/g) de *Escherichia coli* em quatro amostras em que o microrganismo foi identificado, das 63 amostras de carcaças congeladas de peru, temperadas de três marcas distintas adquiridas em diferentes pontos comerciais.

População (NMP/g)		
Marca A	Marca B	Marca C
1,86	-	1,54
1,93	-	2,05

A população de *E. coli* pode ter sido afetada pela ação antimicrobiana do alho encontrado no tempero destes produtos. Ankri e Mirelman (1999) ao avaliarem a atividade da alicina, composto ativo extraído do alho, observaram uma variedade de efeitos antimicrobianos deste composto contra uma vasta gama de bactérias Gram-negativas e Gram-positivas, incluindo estirpes de *Escherichia coli* enterotoxigênicas e multirresistentes. O mecanismo de ação aparentemente se dá na RNA polimerase, interferindo em sua atividade enzimática ao reagir com o grupo sulfídrico que a compõe.

A maior variação populacional de microrganismos mesófilos foi observada na marca C, variando entre $7,3$ a $7,7 \times 10^3$ UFC/g. A maior e a menor população de microrganismos psicrotróficos referem-se às amostras pertencentes às marcas C e B, com $4,9 \times 10^4$ e $1,8 \times 10^1$ UFC/g, respectivamente (Tabela 5).

A maior contagem populacional de *Staphylococcus* spp. foi obtida em amostras da marca C, com $7,2 \times 10^3$ UFC/g, contudo a população de *Staphylococcus* coagulase positivo foi mais elevada em amostras da marca A, com $5,6 \times 10^2$ UFC/g (Tabela 5).

Tabela 5. Valores mínimos e máximos de microrganismos mesófilos e psicrotróficos, *Staphylococcus* spp. e *Staphylococcus* coagulase positivo em 63 amostras de carcaças congeladas de peru, temperadas, de três marcas comerciais distintas adquiridas em diferentes pontos comerciais.

Marcas	Populações de Microrganismos							
	Mesófilos (UFC/g)*		Psicrotróficos (UFC/g)*		<i>Staphylococcus</i> spp. (UFC/g)*		<i>Staphylococcus</i> coagulase positivo (UFC/g)*	
	Min	Max	Min	Max	Min	Max	Min	Max
A	$1,7 \times 10^1$	$4,5 \times 10^3$	$1,2 \times 10^2$	$3,5 \times 10^3$	$< 1,0 \times 10^1$	$5,6 \times 10^2$	Aus	$5,6 \times 10^2$
B	$1,1 \times 10^1$	$2,8 \times 10^3$	$1,8 \times 10^1$	$9,4 \times 10^3$	$< 1,0 \times 10^1$	$4,2 \times 10^3$	Aus	$2,2 \times 10^1$
C	$7,3 \times 10^0$	$7,7 \times 10^3$	$1,3 \times 10^2$	$4,9 \times 10^4$	$< 1,0 \times 10^1$	$7,2 \times 10^3$	Aus	$2,4 \times 10^3$

* Unidades formadoras de colônias por grama

De forma geral, entende-se que houve boas condições higiênicas e sanitárias no processamento dos produtos analisados, pois conforme Reinders et al. (2001) o congelamento tende a manter os níveis populacionais microbianos conforme

àqueles ao final do processo, sendo dependente portanto, do grau de contaminação presente e temperatura de armazenamento.

Galarz, Fonseca e Prentice-Hernández (2010) avaliando a carga microbiana em peitos de frango congelados cru, cozido e salgado, a cada 5 dias durante 20 dias em congelamento, observaram que as contagens de bactérias aeróbias mesófilas e psicrotóficas, e ainda de *Staphylococcus* spp., mantiveram-se praticamente constantes, com pouca oscilação, nos três tipos de produtos. Os autores ressaltam que 20 dias pode, de fato, ter sido tempo insuficiente para observar se houve redução da carga microbiana, contudo, Jay (2005) enfatiza que a proporção de células sobreviventes após congelamento diminui com o tempo, não havendo, entretanto, eliminação total.

As populações de microrganismos heterotróficos mesófilos, obtidas na contagem padrão em placas, das amostras da marca A variaram entre $1,0 \times 10^1$ e $5,0 \times 10^3$ UFC/g. Nas marcas B e C, as populações variaram respectivamente entre $1,0 \times 10^1$ e $5,0 \times 10^3$ UFC/g, e entre $<10^1$ até 10^4 UFC/g (Tabela 6).

Tabela 6. Distribuição das 63 amostras de carcaças congeladas de peru, temperadas, de três marcas distintas adquiridas em diferentes pontos comerciais, segundo o intervalo de variação de microrganismos heterotróficos aeróbios ou facultativos, mesófilos.

População (UFC/g)*	Número de amostras (%)		
	Marca A	Marca B	Marca C
$<1,0 \times 10^1$	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (4,8)
$1,0 \times 10^1$ — $5,0 \times 10^1$	2 (9,5)	3 (14,3)	2 (9,5)
$5,0 \times 10^1$ — $1,0 \times 10^2$	1 (4,8)	3 (14,3)	5 (23,8)
$1,0 \times 10^2$ — $5,0 \times 10^2$	9 (42,8)	9 (42,8)	5 (23,8)
$5,0 \times 10^2$ — $1,0 \times 10^3$	6 (28,6)	4 (19,1)	5 (23,8)
$1,0 \times 10^3$ — $5,0 \times 10^3$	3 (14,3)	2 (9,5)	2 (9,5)
$5,0 \times 10^3$ — $1,0 \times 10^4$	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (4,8)
Total de amostras	21 (100,0)	21 (100,0)	21 (100,0)

* Unidades formadoras de colônias por grama

Produtos que apresentam grande número destes microrganismos indicam falhas durante o processamento (CARDOSO et al., 2005). Apesar da maior população ter sido observada em uma amostra da marca C, 61,9% delas se

encontram no intervalo entre $1,0 \times 10^2$ e $1,0 \times 10^4$, enquanto as marcas A e B, apresentaram neste mesmo intervalo 85,7% e 71,4% de suas amostras, respectivamente.

Alta população mesofílica indica que houve possibilidade de multiplicação microbiana no alimento, inclusive de patogênicos, determinando risco sanitário. À medida que a população desses microrganismos aumenta, incrementa-se também a possibilidade de existirem microrganismos patogênicos e a presença de toxinas resultantes do metabolismo microbiano (APHA, 2001).

Sabe-se que o congelamento reduz a contagem de células viáveis em 1 a 2 unidades logarítmicas, e que quando o armazenamento é prolongado esta redução pode ser ainda maior dependendo do tempo (YAMMAMOTO; HARRIS, 2001).

A marca A apresentou pequena amplitude na variação da população de microrganismos heterotróficos psicotróficos em comparação as demais marcas comerciais, variando entre 10^2 e $5,0 \times 10^3$ UFC/g, enquanto B e C variaram entre 10^1 e 10^4 UFC/g, e 10^2 e $5,0 \times 10^4$ UFC/g, respectivamente (Tabela 7).

Tabela 7. Distribuição das 63 amostras de carcaças congeladas de peru, temperadas, de três marcas distintas adquiridas em diferentes pontos comerciais, segundo o intervalo de variação de microrganismos heterotróficos aeróbios ou facultativos, psicotróficos.

População (UFC/g)*	Número de amostras (%)		
	Marca A	Marca B	Marca C
$<1,0 \times 10^1$	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
$1,0 \times 10^1$ — $5,0 \times 10^1$	0 (0,0)	6 (28,6)	0 (0,0)
$5,0 \times 10^1$ — $1,0 \times 10^2$	0 (0,0)	3 (14,3)	0 (0,0)
$1,0 \times 10^2$ — $5,0 \times 10^2$	9 (42,8)	5 (23,8)	7 (33,3)
$5,0 \times 10^2$ — $1,0 \times 10^3$	5 (23,8)	3 (14,3)	3 (14,3)
$1,0 \times 10^3$ — $5,0 \times 10^3$	7 (33,3)	3 (14,3)	4 (19,1)
$5,0 \times 10^3$ — $1,0 \times 10^4$	0 (0,0)	1 (4,8)	2 (9,5)
$1,0 \times 10^4$ — $5,0 \times 10^4$	0 (0,0)	0 (0,0)	2 (9,5)
Total de amostras	21 (100,0)	21 (100,0)	21 (100,0)

* Unidades formadoras de colônias por grama

A legislação brasileira não estabelece padrão para presença destes microrganismos em alimentos, entretanto, a International Commission on

Microbiological Specifications for Foods (ICMSF) (2000) estabelece 10^6 a 10^7 UFC/g como faixa padrão em que o grau de deterioração de alimentos refrigerados passa a ser crítico.

Tomando por base o ICMSF, nenhuma das marcas comerciais apresentou amostras com padrão insatisfatório. Considerando o intervalo de variação populacional observado, pode-se atribuir melhor condição às amostras da marca B frente às demais, tendo em vista que no intervalo que compreende 10^3 UFC/g, se encontra um percentual menor de amostras desta marca, ou seja, 19,1% das amostras da marca B contra 33,3% e 28,6% das marcas A e C respectivamente, havendo ainda mais outros 9,5% desta última na faixa de 10^4 UFC/g.

Vieira e Teixeira (1997) destacam que quando há o predomínio de microrganismos deste grupo nas carcaças, estes são responsáveis por grande parte das alterações dos produtos, comprometendo a vida de prateleira. Desta forma, a marca C apresenta maior comprometimento comercial, uma vez que o tempo de vida útil das carnes possui uma relação inversa com a contaminação inicial do produto (JAY, 2005).

A quantificação de *Staphylococcus* spp., disposta na Tabela 8 de acordo com o intervalo de variação populacional, variou entre $<1,0 \times 10^4$ e $1,0 \times 10^4$

Tabela 8. Distribuição das 63 amostras de carcaças congeladas de peru, temperadas, de três marcas distintas adquiridas em diferentes pontos comerciais, segundo o intervalo de variação da contagem de *Staphylococcus* spp.

População (UFC/g)*	Número de amostras (%)		
	Marca A	Marca B	Marca C
$<1,0 \times 10^1$	13 (61,9)	13 (61,9)	12 (57,14)
$1,0 \times 10^1$ — $5,0 \times 10^1$	4 (19,0)	7 (33,3)	2 (9,5)
$5,0 \times 10^1$ — $1,0 \times 10^2$	1 (4,8)	0 (0,0)	1 (4,8)
$1,0 \times 10^2$ — $5,0 \times 10^2$	2 (9,5)	0 (0,0)	2 (9,5)
$5,0 \times 10^2$ — $1,0 \times 10^3$	1 (4,8)	0 (0,0)	0 (0,0)
$1,0 \times 10^3$ — $5,0 \times 10^3$	0 (0,0)	1 (4,8)	2 (9,5)
$5,0 \times 10^3$ — $1,0 \times 10^4$	0 (0,0)	0 (0,0)	2 (9,5)
Total de amostras	21 (100,0)	21 (100,0)	21 (100,0)

* Unidades formadoras de colônias por grama

Apesar de uma amostra se encontrar no intervalo entre $1,0 \times 10^3$ e $5,0 \times 10^3$ as demais amostras da marca B apresentaram as menores populações de *Staphylococcus* spp., com 95,2% do total não superando $5,0 \times 10^1$ UFC/g. Na marca comercial C 19% das amostras apresentaram populações entre 10^3 e 10^4 UFC/g.

Resultados semelhantes foram observados por Freitas et al. (2001) ao analisar 15 amostras carcaças de frango comercializadas na cidade do Recife, das quais 10 delas resfriadas, encontraram 8 positivas para *Staphylococcus* spp. As contagens variaram de 10^1 a 10^4 UFC/g, onde 6,7% do total de amostras analisadas apresentaram população de 10^1 UFC/g, 53,3%, em 10^2 UFC/g, 26,7% em 10^3 UFC/g, e 13,3% apresentaram contagens de 10^4 UFC/g. A maior frequência de amostras observadas nas carcaças de frango resfriadas se encontravam em 10^1 e 10^2 UFC/g.

O *Staphylococcus* spp. é alvo da ação de especiarias componentes do tempero de produtos como os do presente trabalho. Estudos que avaliaram a ação dos óleos essenciais, compostos presentes nas especiarias e que apresentam propriedades antimicrobianas, antitoxigênicas, dentre outras, demonstram que estes são capazes de agir sobre microrganismos deteriorantes e patogênicos, apresentando maior ação contra bactérias Gram-positivas. A maior suscetibilidade destes microrganismos parece estar relacionada à ausência da membrana externa, não havendo restrição da difusão de compostos hidrofóbicos que podem provocar a morte da célula, como se vê em Gram-negativos por meio dos lipopolissacarídeos (BURT, 2004).

A presença de outros microrganismos também é um ponto importante, já que *Staphylococcus* spp. são considerados mal competidores (LOIR; BARON; GAUTIR, 2003).

A população de *Staphylococcus* coagulase positivo não ultrapassou $5,0 \times 10^3$ UFC/g (Tabela 9). Não houve diferença estatística significativa entre as três marcas comerciais, quando aplicado o teste exato de Fisher ($p < 0,05$).

Tabela 9. Distribuição da população de *Staphylococcus* coagulase positivo observada em 24 das 63 amostras de carcaças congeladas de peru, temperadas, de três marcas distintas adquiridas em diferentes pontos comerciais.

População (UFC/g)*	Número de amostras (%)		
	Marca A	Marca B	Marca C
<1,0x10 ¹	19 (90,5)	20 (95,2)	16 (76,2)
1,0x10 ¹ — 5,0x10 ¹	0 (0,0)	1 (4,8)	1 (4,8)
5,0x10 ¹ — 1,0x10 ²	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
1,0x10 ² — 5,0x10 ²	1 (4,8)	0 (0,0)	1 (4,8)
5,0x10 ² — 1,0x10 ³	1 (4,8)	0 (0,0)	1 (4,8)
1,0x10 ³ — 5,0x10 ³	0 (0,0)	0 (0,0)	2 (9,5)
Total de amostras	21 (100,0)	6 (100,0)	10 (100,0)
Nº amostras contaminadas/total de amostras analisadas (%)	2/21 ^a (9,5)	1/21 ^a (4,8)	5/21 ^a (23,8)

Valores seguidos de letras iguais não diferem estatisticamente quando aplicado o teste exato de Fisher ao nível de 5% de probabilidade.

* Unidades formadoras de colônias por grama

Considerando todas as 63 amostras analisadas, 12,7% apresentaram contaminação por *Staphylococcus* coagulase positivo, resultados inferiores àqueles observados por Normanno et al. (2005), que constataram a presença *Staphylococcus* coagulase-positivos em 48% das 293 amostras de produtos cárneos comercializados na Itália.

Resultados semelhantes ao do presente estudo foram observado por Martins et al. (2003) que ao analisarem a população de *Staphylococcus* coagulase-positivos em amostras de frangos congelados e refrigerados, adquiridos em supermercados do Estado do Rio Grande do Sul, observaram média populacional de 5,3 x 10³ UFC/g nos refrigerados e 3,5 x 10² UFC/g nos congelados. Segundo os mesmos, a maior média observada nos produtos refrigerados é resultante da ação da temperatura, que influi eficazmente no controle destes microrganismos.

A ausência ou baixas populações destes microrganismos em alimentos, porém, não descaracteriza risco, devido à termorresistência das enterotoxinas, que podem manter-se ativas nos alimentos (CUNHA NETO; SILVA; STAMFORD, 2002).

Para ocorrer intoxicação em indivíduos mais sensíveis, são necessários níveis de enterotoxina entre 0,01 a 0,4 µg por grama de alimento, alcançados quando o número de células contaminantes ultrapassa 10⁵ UFC/g (JAY, 2005). Neste sentido

é importante ponderar que se mal conduzido, o descongelamento pode propiciar condições para a multiplicação de microrganismos deste grupo.

Por se tratar de um processo lento, o descongelamento expõe os produtos cárneos a temperaturas favoráveis a multiplicação microbiana. Isto é particularmente mais preocupante quando este se dá a temperatura ambiente, que além da exposição à temperatura acima das de refrigeração, há aumento também da umidade e conseqüentemente da disponibilidade de nutrientes, devido à formação de exsudato (LEYGONIE et al., 2012).

Os microrganismos mais patogênicos não se desenvolvem em temperaturas inferiores a 5 °C, sendo importante, portanto, manter a carne a temperaturas de refrigeração durante o processo de descongelamento. No entanto, situações que permitam a elevação da temperatura mesmo que temporariamente acima desta, podem favorecer o desenvolvimento microbiano em superfícies que tenham sido expostas a contaminação, como se vê em ambientes domésticos, onde geralmente não há controle rigoroso de temperatura durante o descongelamento (PHAN, 2004).

As enterotoxinas produzidas pelos *Staphylococcus* são termorresistentes e produzidas a temperaturas entre 10 e 46° C (SANTANA et al., 2010). Sabe-se que se mantidos em temperaturas entre 0° e 4°C, os efeitos antimicrobianos dos componentes do alho, são mais eficazes que se armazenados a temperatura ambiente, onde com o decorrer do tempo, apresentam redução de ação sobre os microrganismos, sugerindo instabilidade térmica dos componentes ativos (HARRIS, 2001).

Desta forma, caso não haja controle adequado de temperatura durante o processo de descongelamento, a atividade antimicrobiana da alicina ficará comprometida, descompensando seu efeito inibidor sobre os microrganismos ali presentes e possibilitando que haja multiplicação microbiana até que sejam alcançados níveis populacionais de risco para produção significativa de enterotoxinas.

Sabe-se que o tempo de geração do *Staphylococcus* spp. gira em torno de 20 a 28 minutos em boas condições para sua multiplicação (GENIGEORGIS, 1989; SANTHANA, 2007; BAEZA, 2009). Neste sentido as carcaças analisadas no

presente estudo apresentam risco caso os consumidores sejam negligentes quanto aos cuidados com a temperatura e tempo entre o descongelamento e o preparo.

Estudos demonstram que boa parte dos consumidores são negligentes ao armazenar os produtos cárneos já no trajeto entre o mercado e suas residências, e também em seus domicílios, durante o preparo até o consumo (NYCHAS et al., 2008), demonstrando a necessidade de ações educativas direcionadas a eles.

Em pesquisa realizada por Pattron (2006) envolvendo 200 entrevistados, consumidores afirmaram que após a compra de alimentos perecíveis, incluindo os cárneos, estes eram em sua maioria transportados em carros de passeio sem embalagens isotérmicas ou refrigeradas, permanecendo em média 4,2 horas fora de refrigeração. Em relação ao descongelamento, 78 % dos entrevistados afirmaram fazê-lo à temperatura ambiente, 32 % usando água fria, 26 % no refrigerador e 14 % em aparelho de micro-ondas. Além disso, grande parte dos entrevistados demonstraram desconhecer a temperatura ideal de refrigeração (45% deles) e de congelamento (63%).

Em condições de descongelamento, em tempo e temperatura, como as observadas por Pattron, a população de *Staphylococcus* coagulase positivo apresentadas no presente estudo, fatalmente atingiriam populações em nível de 10^5 UFC/g ou mais, caracterizando risco para a produção de enterotoxinas.

Assim como Freitas et al. (2001) já destacava, a preocupação com os riscos decorrentes deste patógeno e seu envolvimento com alimentos e consequentemente em DTAs, é realmente pertinente.

Welker et al. (2000) ao investigarem 104 surtos ocorridos no Estado do Rio Grande do Sul em 2006 e 2007, observaram que *Staphylococcus* coagulase positivo estava envolvido em 28% dos casos, sendo os produtos cárneos responsáveis por 36% deles, dos quais 30% a carne de frango. Constatou-se ainda que as residências constituíam o principal local de ocorrência dos surtos investigados (43%), seguidos de estabelecimentos comerciais (18%) e refeitórios de empresas (14%). Estes resultados reforçam a necessidade de orientar e educar a população quanto aos cuidados necessários na conservação, manipulação e consumo e aos riscos associados à contaminação destes alimentos no ambiente domiciliar.

Em nenhuma das 63 amostras analisadas foi identificado *Staphylococcus aureus* e também não foram encontrados microrganismos do gênero *Salmonella*.

Em contrapartida Nwachukwu e Nnamani, (2013) isolaram estes microrganismos a partir de carnes de peru congeladas, também obtidas no varejo. Os isolados demonstraram alta resistência à ampicilina e estreptomicina. Os autores atribuíram alto risco destes produtos a saúde pública pela baixa qualidade microbiológica encontrada, por consequência de más condições sanitárias do ambiente de processamento.

Khaita, Kegode e Doetkott (2007) ao investigarem a ocorrência de *Salmonella* em 959 amostras de carne de perus cruas (345) e prontas para consumo (614), adquiridas em pontos de venda, obtiveram 21 (2,2%) das amostras (14 [4,1%] crua e 7 [1,1 %] prontas para consumo) contaminadas, envolvendo 6 sorotipos: S. Hadar, S. Heidelberg, S. Typhimurium var. Copenhagen, S. Newport, S. Saintpaul, e S. Agona. Aquelas isoladas em amostras de carne crua apresentaram maior resistência aos antimicrobianos (53%) em comparação com às prontas para serem consumidas (33 %). Os autores ressaltam a necessidade de continua a vigilância nestes produtos de carne a fim de garantir uma alimentação segura.

El Allaoui et al. (2013) colheram e analisaram 192 amostras de cortes e miúdos de peru (peito, coxa e sobre coxa, fígado e moela) em supermercados de Marrocos. Do total, 47 (24,5 %) apresentaram-se contaminados com *Salmonella*.

Estudo composto por quase 5.000 surtos de DTAs ocorridos nos EUA entre 1998 e 2008, estimou que a carne de aves estivesse envolvida, em média, em 12% das internações ocasionadas por surtos a cada ano, e aproximadamente 20% das mortes resultantes destes, sendo o gênero *Salmonella* responsável por 26% delas (PAINTER, 2013).

Há estudos no Brasil que também relatam a presença de *Salmonella* em carcaças de aves mantidas em temperatura de congelamento. Santos et al. (2000), ao avaliar 150 carcaças de frango congeladas adquiridas em comércio varejista contido na mesma região do presente estudo, observou um percentual de 32,0% de contaminação. Em antibiograma, verificou ainda que 100% das cepas isoladas apresentaram resistência à ampicilina.

Apesar de não ter sido constatada a presença de *Salmonella* nas carcaças analisadas, o presente exposto reforça a necessidade de vigilância constante frente a elucidação do envolvimento deste microrganismo a produtos desta natureza.

6. CONCLUSÕES

Em função dos resultados obtidos é possível concluir que:

- As populações encontradas na determinação do número mais provável (NMP) de coliformes totais, coliformes fecais e *Escherichia coli* por grama; na contagem padrão de microrganismos heterotróficos aeróbios ou facultativos, mesófilos e psicotróficos; e na contagem de *Staphylococcus* spp. demonstram que as amostras não apresentaram falhas abusivas durante o processamento, atribuindo ainda, melhores condições às amostras da marca B, frente às demais.

- Todas as amostras analisadas estavam dentro dos padrões estabelecidos em legislação para “carnes cruas preparadas de aves, refrigeradas ou congeladas, temperadas”, que determina o limite de 10^4 NMP/g para população de coliformes termotolerantes.

- Caso não haja controle adequado de temperatura durante o preparo ou descongelamento de produtos desta natureza, há a possibilidade de multiplicação de *Staphylococcus* coagulase positivo até níveis populacionais de risco para produção significativa de enterotoxinas.

- As amostras não representam riscos à saúde pública em relação à *Salmonella* spp., uma vez que esta não foi identificada em nenhuma das 63 analisadas.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados demonstraram que as amostras não excederam os parâmetros permitidos em legislação, atribuindo condições higiênicas e sanitárias satisfatórias às carcaças congeladas de peru, temperadas, comercializadas em pontos comerciais da região nordeste do Estado de São Paulo. Entretanto, cuidados devem ser tomados pelo consumidor no sentido de garantir que os produtos não sejam expostos à altas temperaturas devido ao risco de multiplicação de *Staphylococcus* coagulase positivo, que mesmo não sendo estabelecido limites a populações destes em legislação vigente, se apresentaram em população moderadamente elevada, constituindo risco caso sejam mantidas em condições de refrigeração inadequada, seja no transporte, armazenamento, ou descongelamento.

8. REFERÊNCIAS

- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4 ed. Washington: APHA, 2001. 676 p.
- ANKRI, S.; MIRELMAN, D. Antimicrobial properties of allicin from garlic. **Microbes and Infection**, Issy les Moulineaux, v. 1, n. 2, p. 125–129, 1999.
- ARSENAULT, J.; LETELLIER, A.; QUESSY, S.; MORIN, J. P.; BOULIANNE, M. Prevalence and risk factors for *Salmonella* spp. and *Campylobacter* spp. carcass contamination in turkeys slaughtered in Quebec, Canada. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 70, n. 8, p. 1350–1659, 2007.
- ASLAM, M.; GREER, G. G.; NATTRESS, F. M.; GILL, C. O.; McMULLEN, L. M. Genotypic analysis of *Escherichia coli* recovered from product and equipment at a beef packing plant. **Journal of Applied Microbiology**, West Sussex, v. 97, n. 1, p. 78-86, 2004.
- BAEZA, R.; ROSSLER, C.; MIELNICKI, D.; ZAMORA, M. C.; CHIRIFE, J. Theoretical modelling of *Staphylococcus aureus* growth in a cooked meat product kept at ambient temperature using temperature profiles of selected Mexican cities. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, vol. 29, n.1, p. 81-84, 2009.
- BARROW, P. A.; HUGGINS, M. B.; LOVELL, M. A. Host specificity of *Salmonella* infection in chickens and mice is expressed in vivo primarily at the level of the reticuloendothelial system. **Infection and Immunity**, Washington, DC, v. 62, n. 10, p. 4602–4610, 1994.
- BAUER, A. W.; KIRBY, W. M. M.; SHERRIS, J. C.; TURCK M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. **American Journal of Clinical Pathology**, New York, v. 45, n. 4, p. 493-496, 1964.
- BAUTISTA, D. A.; SYLVESTER, N.; BARBUT, S.; GRIFFITHS, M. W. The determination of efficacy of antimicrobial rinses on turkey carcasses using response surface designs. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 34, n. 3, p. 279-292, 1997.
- BEN, A. M.; MARCHELLO, J. A.; AHMAD, H. A. Effect of freezing and microbial growth en myoglobin derivates of beef. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, DC, v. 47, n. 10, p. 4093-4099, 1999.
- BENNETT, R. W. Staphylococcal enterotoxins. In: VANDERZANT, C.; SPLITTSTOESSER, D. F. (Ed.). **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 3rd. ed. Washington, DC: American Public Health Association, 1992. Ch. 34.

BERCHIERI JÚNIOR, A.; FREITAS NETO, O. C. Salmoneloses aviárias. In: BERCHIERI JÚNIOR, A.; SILVA, E. N.; DI FÁBIO, J.; SESTI, L.; ZUANAZE, M. A. F. **Doenças das aves**. 2. ed. Campinas: FACTA, 2009. Seção 4, p. 435-454.

BERCHIERI JÚNIOR, A. Salmoneloses aviárias. In: BERCHIERI JÚNIOR, A.; MACARI, M. (Ed.). **Doenças das aves**. Campinas: Facta, 2000. p. 185-195.

BERGDOL, M. S.; BENNETT, R. W. Staphylococcal enterotoxins. In: AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 2nd. ed. Washington, DC: American Public Health Association, 1989. Ch. 34, p. 428-457.

BOPP, D. J.; SAUDERS, B. D.; WARING, A. L.; ACKELSBERG, J.; DUMAS, N.; BRAUNHOWLAND, E.; DZIEWULSKI, D.; WALLACE, B. J.; KELLY, M.; HALSE, T.; MUSSER, K. A.; SMITH, P. F.; MORSE, D. L.; LIMBERGER, R. J. Detection, isolation and molecular subtyping of *Escherichia coli* O157:H7 and *Campylobacter jejuni* associated with a large waterborne outbreak. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, DC, v. 41, n. 1, p. 174-180, 2003.

BRADEN, C. R. *Salmonella* enterica serotype Enteritidis and eggs: a national epidemic in the United States. **Clinical Infectious Diseases**, Cary, v. 43, n. 4, p. 512-517, 2006.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Instrução Normativa MA nº 42, de 20 de dezembro de 1999. Altera o Plano Nacional de Controle de Resíduos em Produtos de Origem Animal - PNCR, e os Programas de Controle de Resíduos em Carne - PCRC, Mel - PCRM, Leite - PCRL e Pescado - PCRP. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 20 dez. 1999. Seção 1. Disponível em: <<http://www.jusbrasil.com.br/diarios/1514413/dou-secao-1-22-12-1999-pg-253>>. Acesso em: 01 Jun. 2012.

BRASIL, Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 70, de 06 de outubro de 2003. Programa de Redução de Patógenos – Monitoramento Microbiológico e Controle de *Salmonella* spp. em Carcaças de Frangos e Perus, 2003. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 10 out. 2003. Seção 1, p. 9. Disponível em: <<http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=consultaLegislacaoFederal>>. Acesso em 29 de março de 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Dispõe sobre o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 10 jan. 2001. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12_01rdc.htm> Acesso em: 01 Jun. 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de vigilância em Saúde. **Vigilância epidemiológica das doenças de transmissão hídrica e alimentar – VEDTHA.**

Brasília, DF, 2011. Disponível em:

<http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/10_passos_para_investigacao_surtos.pdf> Acesso em: 10 Mar. 2014.

BREWER, M. S. **Food storage, food spoilage, and foodborne illness.** Urbana, Illinois: Phyllis Yates Picklesimer, 1991. 19 p.

BRYAN, F. L.; MICHANIE, S. C.; ALVAREZ, P.; PANIAGUA, A. Critical control points of street-vended foods in Dominican Republic. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 51, n. 5, p. 373-383, 1988.

BURT, S. A. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 94, n. 3, p. 223-253, 2004.

BUTTIAUX, R.; MOSSEL, D. A. A. The significance of various organisms of faecal origin in foods and drinking water. **Journal of Applied Bacteriology**, West Sussex, v. 24, n. 3, p. 353-364, 1961.

CARDOSO, A. L. S. P.; CASTRO, A. G. M.; TESSARI, E. N. C.; BALDASSI, L.; PINHEIRO, E. S. Pesquisa de *Salmonella* spp, coliformes totais, coliformes fecais, mesófilos, em carcaças e cortes de frango. **Revista Higiene Alimentar**, Mirandópolis, v. 19, n. 128, p. 144-150, 2005.

CARDOSO, A. L. S. P.; TESSARI, E. N. C.; CASTRO, A. G. M.; KANASHIRO, A. M. I. Pesquisa de *Salmonella* spp., coliformes fecais e mesófilos em carcaças e produtos derivados de frango. **Instituto Biológico**, São Paulo, v. 67, n. 1, não paginado, 2000.

COELHO, M. S. L.; GUIMARÃES, W. V.; BORGES, A. C.; SILVA, D. O.; ARAÚJO, A. F. Sobrevivência de *Salmonella* em carne bovina moída armazenada em baixas temperaturas. **Revista de Microbiologia**, São Paulo, v. 15, n. 1, p. 17-23, 1984.

CORLETT, D. A. Jr. **HACCP user's manual.** Maryland: Aspen Publishers Inc., 1998.

COSTA, F. N.; LIMA, M. S.; RABELO, R. N. Comportamento frente à ação de antimicrobianos de cepas de *Staphylococcus coagulase positiva*, *Escherichia coli* e *Bacillus cereus* isolados de derivados lácteos. **Revista Higiene Alimentar**, Mirandópolis, v. 16, n. 92/93, p. 80-83, 2002.

COSTA, F. N.; ROSSI JÚNIOR, O. D.; NADER FILHO, A. TAVECHIO, A. T. Sorovares de *Salmonella* isolados de carcaças de cortes de frango obtidos na indústria e no comércio de Jaboticabal, Estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, Niterói, v. 4, p. 97-100, 1996.

- CUNHA NETO, A.; SILVA, C. G. M.; STAMFORD, T. L. M. *Staphylococcus* enterotoxigênicos em alimentos in natura e processados no estado de Pernambuco, **Brasil. Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, Campinas, v. 22, n. 3, p. 263-271, 2002.
- DINGES, M. M.; ORWIN, P. M.; SCHLIEVERT, P. M. Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. **Clinical Microbiology Review**, Washington, DC, v. 13, n. 1, p. 16-34, 2000.
- DOMINGUE, G.; WILLSHAW, G. A.; SMITH, H. R.; PERRY, N.; RADFOR, D.; CHEASTY, T. DNA-based subtyping of verocytotoxin-producing raw meat sources. **Letters in Applied Microbiology**, West Sussex, v. 37, n. 6, p. 433-437, 2003.
- DUNKLEY, K. D.; CALLAWAY, T. R.; CHALOVA, V. I.; MCREYNOLDS, J. L.; HUMEB, M. E.; DUNKLEY, C. S.; KUBENA, L. F.; NISBET, D. J.; RICKE, S. C. Foodborne *Salmonella* ecology in the avian gastrointestinal tract. **Anaerobe**, London, v. 15, n. 1-2, p. 26-35, 2009.
- EFSA (EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY). Scientific opinion of the panel on biological hazards on a request from the European Food Safety Authority on foodborne antimicrobial resistance as a biological hazard. **The EFSA Journal**, Parma, 765 p., 2008.
- EFSA (EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY). Scientific opinion on an estimation of the public health impact of setting a new target for the reduction of *Salmonella* in turkeys. **EFSA Journal**, Parma, v. 10, n. 4, p. 1-89, 2012.
- EFSA (EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY). Scientific opinion on monitoring and assessment of the public health risk of "*Salmonella* Typhimurium-like" strains. **EFSA Journal**, Parma, v. 8, n.10, p. 1-48, 2010.
- FDA (U.S. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION). **National Antimicrobial Resistance Monitoring System - Enteric bacteria (NARMS): 2007 executive report**. Rockville, MD: U.S. Department of Health and Human Services: US Food and Drug Administration, 2010.
- FEHLHABER, K.; JANETSCHKE, P. **Higiene veterinária de los alimentos**. Zaragoza: Acribia, 1992. 669 p.
- FERNANDES, S. A.; TAVECHIO, A. T.; GHILARDI, A. C. R; DIAS, A. M. G.; ALMEIDA, I. A. Z. C.; MELO, L. C. V. *Salmonella* serovars isolated from humans in São Paulo State, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São paulo, v. 48, n. 4, p. 179-184, 2006.
- FERREIRA, A. J. P.; FERREIRA, C. S. A. Estafilococose e estreptococose aviária. In: BERCHIERI JÚNIOR, A.; MACARI, M. **Doenças das aves**. Campinas: FACTA, 2000. Cap. 4.3, p. 209-215.

FOLEY, S. L.; LYNNE, A. M. Food animal-associated *Salmonella* challenges: pathogenicity and antimicrobial resistance. **Journal of Animals Science**, Amsterdam, v. 86, n. 2, p. 173-187, 2008.

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da segurança alimentar**. Trad. Maria Carolina Minardi Guimarães e Cristina Leonhardt. Porto Alegre: Artmed, 2002. p. 216, 211.

FRANCO, B. D. G; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. 2. ed. São Paulo: Livraria Atheneu, 2003.

FREITAS, M. F. L.; MOTA, R. A.; VILELA, S. M. O; SENA, M. J.; BEZERRA, R. Cepas de *Staphylococcus* sp. isoladas de carcaças de frango comercializadas na cidade do Recife – PE, Brasil. **Ciência Animal Brasileira**, Goiania, v. 2, n. 2, p. 139-145, 2001.

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

GALARZ, L. A.; FONSECA, G. G.; PRENTICE-HERNÁNDEZ, C. Crescimento microbiano em produtos à base de peito de frango durante simulação da cadeia de abastecimento. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 30, n. 4, p. 870-877, out-dez. 2010.

GENIGEORGIS, C. A. Present state of knowledge on staphylococcal intoxication. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 9, n. 4, p. 327-360, 1989.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. **Higiene e vigilância sanitária de alimentos**. 2. ed. São Paulo: Livraria Varela, 2003. 655 p.

HARRIS, J. C.; COTTRELL, S. L.; PLUMMER, S.; LLOYD, D. Antimicrobial properties of *Allium sativum* (garlic). **Applied Microbiology and Biotechnology**, Heidelberg, v. 57, n. 3, p. 282–286, 2001.

ICMSF (INTERNATIONAL COMMITTEE ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATION FOR FOOD). **Microorganisms in Food**. I – Their significance and methods of enumeration. 2nd ed. Toronto: University Press, 2000. 439 p.

ISERI, O.; EROL, I. Incidence and antibiotic resistance of *Salmonella* spp. in ground turkey meat. **British Poultry Science**, Oxfordshire, v. 51, n. 1, p. 60-66. 2010.

JABLONSKI, L. M.; BOHACH, G. A. *Staphylococcus aureus*. In : DOYLE, M. P.; BEUCHAT, L. R.; MONTVILLE, T. J. **Food microbiology: fundamentals and frontiers**. Washington, DC: Amer Society for Microbiology, 1997. Cap. 10, p. 353-375.

JAY, J. **Microbiologia de alimentos**. Porto Alegre: Artmed, 2005. p. 52-55, 471-485.

JAY, J. M. Indicators of food microbiological quality and safety. In: _____. **Modern food microbiology**. 6. ed. Maryland: Aspen Publication, 2000. p. 387- 407.

JOUKI, M.; TABATABAEI, F.; KHAZAEI, N.; MOTAMEDI SEDEH, F. Effects of Storage Time on Quality Characteristics of Frozen Turkey Meat. **International Journal of Animal and Veterinary Advances**, Reading, v. 4, n. 1, p. 63-67, 2012

JUNGHERR, E. Paratyphoid infection in birds. **Veterinary Medicine**, v. 35, p. 112-116, 1940.

KÄFERSTEIN, F. K.; MONTARJEMI, Y.; BETTCHER, W. Foodborne disease control: a transnational challenge. *Emerging, Infectious Diseases*, Atlanta, v. 3, n. 4, p. 503-510, 1997. Special Issues. Disponível em: <<http://wwwnc.cdc.gov/eid/content/3/4/pdfs/v3-n4.pdf>>. Acesso em: 17 nov. 2013.

KAUFMANN, S. H. E.; RAUPACH, B.; FINLAY, B. B. Introduction: microbiology and immunology: lessons learned from *Salmonella*. **Microbes and Infection**, Issy les Moulineaux, v. 3, n. 14-15, p. 1177–1181, 2001.

KHAITSA, M. L.; KEGODE, R. B.; DOETKOTT, D. K. Occurrence of antimicrobial-resistant *Salmonella* species in raw and ready to eat turkey meat products from retail outlets in the midwestern United States. **Foodborne Pathogens and Disease**, New Rochelle, v. 4, n. 4, p. 517-525. 2007.

KNÖBL, T.; FERREIRA, A. J. P.; FÁBREGA, V. L. A.; M. T. S.; ALCÂNTARA, M. T. S.; AYALA, J. L. Utilização de dióxido de cloro no controle de *Salmonella sp* em abatedouro de aves. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Campinas, v. S2, p. 92, 2000.

LEITE, A. M. O.; FRANCO, R. M. Coliformes totais e *Escherichia coli* em coxas de frango comercializados no Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, Niterói, v. 13, n. 2, p. 80-83, 2006.

LEYGONIE, C.; BRITZ, T. J.; HOFFMAN, L. C. Impact of freezing and thawing on the quality of meat: Review. **Meat Science**, v. 91, p. 93–98, 2012.

LOIR, Y. LE; BARON, F.; GAUTIR, M. *Staphylococcus aureus* and food poisoning. **Genetic Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 2, n. 1, p. 63-76, 2003.

MacFADDIN, J. F. **Biochemical tests for identification of medical bacteria**. Baltimore: The Williams e Wilkins, 1976. 312 p.

MONDINI, S.; GASPARINI, U. *Salmonella* in imported frozen turkeys. **Nuova Veterinaria**, Faenza, v. 40, p. 125-128, 1964.

MURRAY, P. R.; ROSENTHAL, K. S.; KOBAYASHI, G. S.; PHALLEIC, M. A. **Microbiologia médica**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. 151 p.

NUNES, F. **Brazilian turkey industry takes off**. [S.l.]: WATTAgNet.com, 2008. Disponível em: <www.wattagnet.com/3194.html>. Updated: Jun 24, 2009. This article appeared in WATT Poultry USA, August 2008. Acesso em: 02 maio 2012.

NWACHUKWU, E.; NNAMANI O. H. Internenational Evaluation of turkey meat for bacteria and indicator microorganisms of public health importance. **Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, kancheepuram, v. 2, n. 10, p. 224-229, 2013.

OLIVEIRA, D. D.; SILVA, E. M. Salmonela em ovos comerciais: ocorrência, condições de armazenamento e desinfecção da casca. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 52, n. 6, p. 655-661, 2000.

PAINTER, J. A.; HOEKSTRA, R. M.; AYERS T.; TAUXE R. V.; BRADEN, C. R.; ANGULO, F. J.; GRIFFIN, P. M. Attribution of Foodborne Illnesses, Hospitalizations, and Deaths to Food Commodities by using Outbreak Data, United States, 1998–2008. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 19, n. 3, p. 407-415, 2013.

PATTRON, D. D. An observational study of the awareness of food safety practices in households in Trinidad. **Internet Journal of Food Safety**, [Los Angeles], v. 8, n. 1, p. 14-18, 2006.

PHAM, Q. T. Refrigeration and freezing technology | thawing. **Encyclopedia of meat sciences**, [S.l.], v. 3, p. 1150-1156, 2004.

POPPE C. *Salmonella* infections in the domestic fowl. In: WRAY, S.; WRAY, A. (Ed.). **Salmonella in domestic animals**. Wallingford: CABI Publishing, 2000. p. 107-132.

REINDERS, R. D.; WEBER, M. F.; LIPMAN, L. J. A.; VERHOEFF, J.; BIJKER, P. G. H. Control of VTEC in Dutch livestock and meat production. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 66, n. 1-2, p. 79-83, 2001.

REITER, M. G. R.; FIORESE, M. L.; MORETTO, G.; LÓPEZ, M. C.; JORDANO, R. Prevalence of *Salmonella* in a poultry slaughterhouse. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 70, n. 7, p. 1723-1725, 2007.

REZENDE, C. S. M.; MESQUITA, A. J. de; ANDRADE, M. A.; LINHARES, G. F. C.; MESQUITA, A. Q.; MINAFRA, C. S. Sorotipos de *Salmonella* isolados de carcaças de frangos de corte abatidos no estado de Goiás, e perfil de resistência a antimicrobianos. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, Lisboa, v.100, n. 555- 556, p. 199-203, 2005.

- SALLAM, Kh. I.; ISHIOROSHI, M.; SAMEJIMA, K. Antioxidant and antimicrobial effects of garlic in chicken sausage. **Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie**, [Amsterdam], v. 37, n. 8, p. 849–855, 2004.
- SANTANA, E. H. W.; BELOTI, V.; ARAGON-ALEGRO, L. C.; MENDONÇA, M. B. O. C. Estafilococos em alimentos. **Arquivo do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 77, n. 3, p. 545-554, 2010.
- SANTHANA, R. L.; HING, H. L.; BAHARUDIN, O.; TEH, H. Z.; AINDA, S. R.; NOR, A. C. P.; VIMALA, B.; PARAMSARVARAN, S.; SUMARNI, G.; HANJEET, K. Rapid Method For Transmission Electron Microscope Study Of *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. **Annals of Microscopy**, [Singapore], v. 7, p. 102-108, 2007.
- SANTOS, D. M. S.; BERCHIERI JUNIOR, A.; FERNANDES, S. A.; TAVECHIO, A. T.; AMARAL, L. A. *Salmonella* em carcaças de frango congeladas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Seropedica, v. 20, n. 1, p. 39-42, 2000.
- SARANTOPOULOS, C. I. G. L.; OLIVEIRA, L. M.; CANAVESI, E. **Requisitos de conservação de alimentos em embalagens flexíveis**. Campinas: CETEA/ITAL, 2001. 213p.
- SCALLAN, E.; HOEKSTRA, R. M.; ANGULO, F. J.; TAUXE, R. V.; WIDDOWSON, M. A.; ROY, S. L.; JONES, J. L.; GRIFFIN, P. M. Foodborne illness acquired in the United States-Major pathogens. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 17, n. 1, p. 7-15, 2011.
- SHELEF, L. A. Antimicrobial effects of spices. **Journal of Food Safety**, Hoboken, v. 6, n. 1, p. 29-44, 1983.
- SHINOHARA, N. K. S.; BARROS, V. B.; JIMENEZ, S. M. C.; MACHADO, E. C. L.; DUTRA, R. A. F.; FILHO, J. L. L. *Salmonella* spp., importante agente patogênico veiculado em alimentos. **Ciência e Saúde coletiva**, Rio de Janeiro, v. 13, n. 5, p. 1675-1683, 2008.
- SHIVAPRASAD, H. L. Pullorum disease and fowl typhoid. In: SAIF, Y. M. (Ed.). **Diseases of poultry**. 11 ed. Ames, Iowa: Iowa State Press, 2003. p. 568-582.
- SILVA, J. A. Microrganismo patogênicos em carne de frangos. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 12, n. 58, p. 9-14, 1998.
- SILVA JÚNIOR, E. A. **Manual de controle higiênico-sanitário em alimentos**. 5. ed. São Paulo: Varela, 2002. 479 p.

SILVA, E. P.; BERGAMINI, A. M. M.; OLIVEIRA, M. A. Alimentos e agentes etiológicos envolvidos em toxinfecções na região de Ribeirão Preto, SP, Brasil: 2005 a 2008. **Boletim Epidemiológico Paulista**, São Paulo, v. 7, n. 77, p. 4-10, 2010b. Disponível em: <http://www.cve.saude.sp.gov.br/agencia/bepa77_alimentos.htm>. Acesso em: 27 fev. 2014.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H. V. S.; SANTOS, R. F. S.; GOMES, R. A. R. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 4. ed. São Paulo: Varela, 2010. 625 p.

SIQUEIRA, R. S. **Manual de microbiologia de alimentos**. Brasília, DF: EMBRAPA, 1995. 159 p.

SYNNOTT, M. B.; BRINDLEY, M.; GRAY, J.; DAWSON, J. K. An outbreak of *Salmonella* Agona infection associated with precooked turkey meat. **Communicable Disease and Public Health**, London, v. 1, n. 3, p. 176-179, 1998.

SU, Y. C.; WONG, A. C. L. Current perspectives on detection of staphylococcal enterotoxins. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 60, n. 2, p. 195-202, 1997.

TAVECHIO, A. T.; FERNANDES, S. A.; NEVES, B. C.; DIAS, A. M. G.; IRINO, K. Changing patterns of *Salmonella* serovars: increase of *Salmonella* Enteritidis in São Paulo, Brazil. **Revista Instituto Medicina Tropical**, São Paulo, v. 38, n. 5, p. 315-322, 1996.

TESSARI, E. N. C.; CARDOSO, A. L. S. P.; KANASHIRO, A. M. I.; STOPPA, G. F. Z.; LUCIANO, R. L.; CASTRO, A. G. M. Ocorrência de *Salmonella* spp. em carcaças de frangos industrialmente processadas, procedentes de explorações industriais do Estado de São Paulo, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 9, p. 2557-2560, 2008.

TODD, E. C.; GUZEWICH, J. J.; BRYAN, F. L. Surveillance of foodborne disease IV. Dissemination and uses of surveillance data. **Journal of Food Protection**, Des Moines, n. 6, p. 715-723, 1997.

TRAMPEL, D. W.; HASIAK, R. J.; HOFFMAN, L. J.; DEBEY, M. C. Recovery of *Salmonella* from water, equipment, and carcasses in turkey processing plants. **Journal of Applied Poultry Research**, Cary, v. 9, n. 1, p. 29-34, 2000.

UBABEF (UNIÃO BRASILEIRA DE AVICULTURA). **História da avicultura no Brasil**. São Paulo, [2013a?]. Disponível em: <http://www.ubabef.com.br/a_avicultura_brasileira/historia_da_avicultura_no_brasil>. Acesso em: 23 dez. 2013.

UBABEF (UNIÃO BRASILEIRA DE AVICULTURA). **Relatório anual**. São Paulo, 2013b. Disponível em <<http://www.ubabef.com.br/files/publicacoes/732e67e684103de4a2117dda9ddd280a.pdf>>. Acesso em: 7 dez. 2013.

USDA (UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE). **Livestock and Poultry**: world markets and trade. Washington, DC, apr. 2013. Disponível em: <http://www.fas.usda.gov/psdonline/circulars/livestock_poultry.pdf>. Acesso em: 03 dez. 2013.

VANDENDRIESSCHE, F. Meat products in the past, today and in the future. **Meat Science**, Amsterdam, v. 78, n. 1-2, p. 104-113, 2008.

VANZO, S. P.; AZEVEDO, R. V. P. Detecção de *S. aureus* em manipuladores de alimentos - perfil de resistência a antibióticos e quimioterápicos - SP. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 17, n. 104/105, p. 114-123, 2003.

VIEIRA, C. R. N.; TEIXEIRA, C. G. Condições higiênico-sanitárias de carcaças resfriadas de frango comercializadas em Poços de Caldas-MG. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 11, n. 48, p. 36-40, 1997.

VON RUCKERT, D. A. S.; PINTO, P. S. A.; SANTOS, B. M.; MOREIRA, M. A. S.; RODRIGUES, A. C. A. Pontos críticos de controle de *Salmonella* spp. no abate de frangos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 61, n. 2, p. 326-330, 2009.

WALTMAN, W. D. M. Methods for the Cultural Isolation of *Salmonella*. In: WRAY, C.; WRAY, A. **Salmonella in domestic animals**. New York: Cabi International, 2000. v. 21, n. 1, p. 355-372.

WONG, A. C. L.; BERGDOLL, M. S. Staphylococcal food poisoning. In: CLIVER, D. O.; RIEMANN, H. P. **Foodborne diseases**. 2. ed. Amsterdam: Academic Press, 2002. p. 231-248.

WHO (WORLD HEALTH ORGANIZATION). **WHO Global principles for the containment of antimicrobial resistance in animals intended for food**. Switzerland, 2000. Disponível em: <http://whqlibdoc.who.int/hq/2000/WHO_CDS_CSRAPH_2000.4.pdf>. Acesso em: 8 jan. 2014.

WHO (WORLD HEALTH ORGANIZATION). **WHO Global strategy for food safety: safer food for better health**. Switzerland, 2002. Disponível em: <http://www.who.int/foodsafety/publications/general/en/strategy_en.pdf>. Acesso em: 02 Jan. 2014.

YAMMAMOTO, S. A.; HARRIS, L. J. The effects of freezing and thawing on the survival of *Escherichia coli* O157:H7 in apple juice. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 67, n. 1-2, p. 89-96, 2001.

ZAICA, L. A.; KISSINGER, J. C. Inhibitory and stimulatory effects. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 46, p. 1205–1210, 1983.

ZECCONI, A.; HAHN, G. *Staphylococcus aureus* in raw milk and human health risk. **Bulletin of IDF**, Brussels, v. 345, p. 15-18, 2001.

ZOLI, J. A.; NEGRETE, I. R. A.; OLIVEIRA, T. C. R. M. Avaliação da contaminação por *Staphylococcus aureus* e *Salmonella* spp. de maionese de batata comercializada em Londrina, PR. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 16, n. 95, p. 62-70, 2002.