

**Avaliação da contaminação por *Salmonella*
spp. em peitos de frango embalados em
atmosfera protetora**

Dissertação para a obtenção do grau de Mestre na área
de Tecnologia Alimentar

Luís Miguel Ferreira Rosa

Orientadora:

Doutora Ana Maria Gomes de Sousa Neves



BIBLIOTECA

14062
903

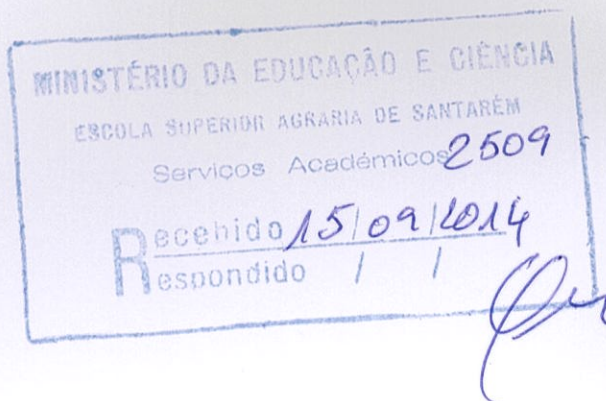
Santarém, 2014

OFERTA



INSTITUTO POLITÉCNICO DE SANTARÉM
Escola Superior Agrária de Santarém

Mestrado em Tecnologia Alimentar



AVALIAÇÃO DA CONTAMINAÇÃO POR *Salmonella spp.*
EM PEITOS DE FRANGO EMBALADOS
EM ATMOSFERA PROTETORA

Luís Miguel Ferreira Rosa

Santarém, 2014



INSTITUTO POLITÉCNICO DE SANTARÉM

Escola Superior Agrária de Santarém

Mestrado em Tecnologia Alimentar

AVALIAÇÃO DA CONTAMINAÇÃO POR *Salmonella spp.*

EM PEITOS DE FRANGO EMBALADOS

EM ATMOSFERA PROTETORA

Dissertação para a obtenção do grau de
Mestre em Tecnologia Alimentar

Luís Miguel Ferreira Rosa nº 110391019

Orientador: Doutora Ana Maria Gomes de
Sousa Neves

Santarém, 2014

AGRADECIMENTOS

À Professora Doutora Ana Neves, minha Orientadora, pela simpatia e amizade demonstradas, pela sua disponibilidade e pela grande partilha de experiência e conhecimentos durante a realização deste trabalho.

À Direção do Matadouro Industrial de Aves que possibilitaram a recolha das amostras e análise das mesmas e disponibilizaram toda a informação necessária para a prossecução dos objetivos deste trabalho.

Às técnicas de laboratório, pela disponibilidade, simpatia e auxílio durante a execução do trabalho laboratorial.

A todos os que me ajudaram e acompanharam durante a elaboração do presente trabalho.

A todos um sincero

Muito Obrigado!!!!

RESUMO

AVALIAÇÃO DA CONTAMINAÇÃO POR *Salmonella* spp. EM PEITOS DE FRANGO EMBALADOS EM ATMOSFERA PROTETORA

Segundo a EFSA as infeções por *Salmonella* são a segunda zoonose humana mais relatada na UE. O estudo avaliou a contaminação por *Salmonella* spp. em peitos de frango embalados em atmosfera protetora (120 amostras), tendo ainda sido controladas superfícies de contacto direto e indireto na sala de desmancha (60 amostras). As amostras de peito de frango apresentavam 6,7% e 11,7% de contaminação por *Salmonella* spp., respetivamente, no primeiro e no último dia de validade após embalagem em atmosfera protetora. Nas amostras das superfícies recolhidas antes da laboração não foi detetada a presença de *Salmonella* spp. O estudo mostrou que as salmonelas presentes no peito de frango não se relacionam com falhas de higienização das superfícies da sala de desmancha, sendo provavelmente devido a contaminações cruzadas, ao longo da linha de abate, desmancha e manipulação e embalamento. A embalagem com atmosfera protetora não limitou o crescimento de *Salmonella* spp..

Palavras-chave: *Salmonella* spp., peito de frango, atmosfera protetora, superfícies da sala de desmancha.

ABSTRACT

CONTAMINATION ASSESSMENT BY *Salmonella* spp. IN POULTRY BREAST PACKAGED IN PROTECTIVE ATMOSPHERE

According to EFSA the *Salmonella* infections are the second most reported human zoonotic disease in the EU. The study assessed the contamination by *Salmonella* spp. in chicken breasts wrapped in protective atmosphere (120 samples), having been controlled working surfaces in the cutting room (60 samples). Samples of chicken breast were 6.7% and 11.7% of contamination by *Salmonella* spp., respectively in the first and last day of validity after packaging in protective atmosphere in samples collected before the working surfaces was not detected the presence of *Salmonella* spp.. The study shows that salmonella present in the chicken breast is not relate with the sanitization process of the cutting room surfaces, being probably due to cross-contamination along slaughter, cutting and packing processes. Packing with protective atmosphere does not limit the growth of *Salmonella* spp.

Keywords: *Salmonella* spp., chicken breast, protective atmosphere, cutting room surfaces

ÍNDICE

DEDICATÓRIA	I
AGRADECIMENTOS.....	II
RESUMO	III
ABSTRACT	IV
ÍNDICE	V
ÍNDICE FIGURAS	VII
ÍNDICE QUADROS/TABELAS.....	VIII
ABREVIATURAS.....	IX
1.INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1. Produção Avícola.....	3
2.2. A Carne de Aves na Alimentação Portuguesa	5
2.2.1. Evolução do Consumo	5
2.2.2. Características nutricionais	6
2.2.3. Riscos Associados ao Consumo de Carne de Aves.....	6
2.3. <i>Salmonella</i> spp. em carne de frango	7
2.3.1. Caracterização do género <i>Salmonella</i> spp.....	7
2.3.2 Fatores que favorecem a prevalência de <i>Salmonella</i> spp. em carne de aves ...	9
2.3.2.1 Produção primária	9
2.3.2.2 Transporte e abate nos matadouros	11
2.3.2.3 Desmancha e embalagem	12
2.3.3.1 Medidas	13
2.3.3.2 Controlo de <i>Salmonella</i> spp. na UE e em Portugal	17
3. METODOLOGIA	21
3.1. Colheita de Amostras	21
3.1.1. Amostras de peito de frango.....	21
3.1.2. Amostras de superfícies de contato direto da sala de desmancha	22
3.2 Pesquisa de <i>Salmonella</i> spp.	22
4. RESULTADOS.....	24
4.1 Avaliação da Contaminação por <i>Salmonella</i> spp. em Amostras de Peito de Frango	24

4.2. Avaliação da Contaminação por <i>Salmonella</i> spp. nas Superfícies da Sala de Desmancha	24
5. DISCUSSÃO	26
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPETIVAS FUTURAS	28
BIBLIOGRAFIA	29
ANEXOS	38
Anexo I – Ficha técnica B22-50, Coopbox Hispania S.L.U, Espanha	39
Anexo II- Ficha técnica filme retráctil Toplex HB SP Shrink, Plastopil e de selagem Toplex HB, Plastopil	40
Anexo III – Ficha técnica do gás Extendapak – 43”, Praxair	42
Anexo IV- Plano de higienização	43

ÍNDICE FIGURAS

Figura 1 - Previsões sobre a produção e consumo de carne de aves a nível mundial (Retirado de AVEC, 2013).	3
Figura 2 - Produção de Frango em Portugal (Retirado de INE, 2014a).	4
Figura 3 - Estrutura da capitação diária de carne e miudezas em Portugal no período de 1990 a 2003, com relevo para a carne de animais de capoeira (Adaptado de INE, 2006).	5
Figura 4 - Principais serotipos responsáveis por salmonelose humana na UE em 2012 (Retirado de Hugas & Beloeil, 2014).	18
Figura 5 - Prevalência de <i>Salmonella</i> spp. em produtos de origem animal: PC, preparado de carne; CP, carne picada; PBC, produtos à base de carnes; APC, produtos prontos para consumo; PBL, produtos à base de leite (Retirado de Diakos & Borges, 2011).	20

ÍNDICE QUADROS/TABELAS

Tabela 1 - Taxonomia do género <i>Salmonella</i>	8
Tabela 2 - Prevalência <i>Salmonella</i> spp. em bandos de frangos.....	10
Quadro 1 - Resultados da pesquisa de <i>Salmonella</i> spp. em peitos de frango no primeiro e último dia de validade do produto	24
Quadro 2 - Resultados da pesquisa de <i>Salmonella</i> spp. em superficiais de processamento dos peitos de frango no início e meio da desmancha	25

ABREVIATURAS

ACMSF - Advisory Committee on the Microbiological Safety of Food

ASAE – Autoridade de Segurança Alimentar e Económica

AVEC - Associação de Processadores de aves e derivados Comércio nos países da UE

BAP - Balança Alimentar Portuguesa

DG AGRI-CE - Direção-Geral de Agricultura e Desenvolvimento Rural da Comissão Europeia

DGS - Direção-Geral de Saúde

DGV - Direção-Geral de Alimentação e Veterinária

ECDC - European Centre for Disease Prevention and Control

EFSA - Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos

EU- União Europeia

FAO - Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura

FSANZ - Food Standards Australia New Zealand

ICMSF - International Commission on Microbiological Specifications for Foods

INE- Instituto Nacional de Estatística

ISO - International Standard Organization

WHO - Organização Mundial de Saúde

UE - European Union

1. INTRODUÇÃO

A globalização dos alimentos afeta os padrões de surtos de doenças transmitidas por alimentos em todo o mundo e têm aumentado a preocupação dos consumidores com a segurança alimentar. Neste sentido, a avaliação dos dados epidemiológicos de doenças de origem alimentar em diversos países não só tem impacto local, mas também pode ser de interesse geral, especialmente no caso de grandes produtores e exportadores de vários alimentos e produtos (Gomes *et al.*, 2013). A vigilância é essencial para medir, controlar e prevenir doenças transmitidas por alimentos. Diversas ações ao nível da produção, processamento, venda de alimentos e dos consumidores, podem reduzir o risco de propagação de doenças transmitidas por alimentos (McCabe-Sellers & Beattie, S. E., 2004).

A estrutura de produção de frango em Portugal tem um cariz fortemente industrial, assente num modelo de integração vertical. O sistema de produção aplicado na grande maioria das explorações de frango, é o sistema intensivo, acontecendo o abate, normalmente, às 5 e 6 semanas (cria, recria e engorda), com o frango a atingir entre 1,7 kg e 1,950 kg de peso vivo. Tendo Portugal a tradição de consumo do frango de churrasco, essa produção específica, na sua maioria, tem um ciclo de produção mais curto sendo os bandos submetidos a vários desbastes, previamente à ida das aves para abate, por razões comerciais. O primeiro desbaste ocorre quando os frangos têm cerca de 28 dias de idade e o último com cerca de 42 dias (DGAV, 2014). De acordo com os dados do INE (2014a), verifica-se que 85,3% da carne de animais de capoeira disponível em 2012 teve origem na produção nacional.

O consumo de carne a nível mundial continua elevado, contudo há hábitos distintos quanto ao tipo de carne que se consome. Exemplo desta alteração de costumes é o aumento do consumo de carne de aves, especialmente frango, em detrimento do consumo de carnes vermelhas (Varnam & Sutherland, 1998; Rocha, 2006). Segundo a FAO, o consumo de carne de ave aumentou mundialmente nas últimas décadas (Goksoy, 2004). Em Portugal, 2008 e 2012, a carne de animais de capoeira apresentou um aumento de 6,2% das quantidades disponíveis diárias *per capita* para consumo (3,9 g/habitante), salientando a tendência de aumento da procura da carne de aves nos últimos anos (INE, 2014b).

A prevalência de *Salmonella* spp. em carne de aves é uma das preocupações que levaram a indústria avícola e os governos a introduzir planos de controlo para combater *Salmonella*. No caso da União Europeia, as metas foram definidas pelo Parlamento e pelo Conselho, obrigando os Estados-Membros em reduzir a prevalência de *Salmonella* na criação de aves, nomeadamente através dos Regulamentos N.º 853/2004, N.º 854/2004 e N.º 882/2004, bem como do Regulamento N.º 2073, alterado pelos Regulamentos N.º 1441/2007 e N.º 365/2010.

As estratégias para prevenir a transmissão da *Salmonella* para os seres humanos devem se concentrar em toda a cadeia de produção de carne de frango desde o campo à mesa. Na fase de produção primária, ambas as medidas de higiene e estratégias gerais de gestão agrícola são importantes. A contaminação por *Salmonella* em carne de aves poderá vir a diminuir no futuro, devido aos planos de ação estabelecidos, mas a erradicação completa de *Salmonella* é irrealista. A questão principal é manter um nível baixo de prevalência nos bandos e nos efetivos, bem como o número de bactérias em aves infetadas; assim a contaminação da carne e, portanto, a transmissão para os seres humanos, torna-se altamente improvável. Todos estes aspetos sublinham claramente a necessidade de uma ação coordenada de governos e indústrias relacionadas com aves (incluindo a indústria de alimentação e matadouros), em todas as fases da cadeia de produção (Van *et al.*, 2009).

A prevalência de *Salmonella* spp. em desmanchados de carne de aves, cuja manipulação pode ser consideravelmente maior quando comparadas com as carcaças, aumenta se a bactéria estiver presente na linha de abate. Em estudos realizados em frangos, pode ser observado *Salmonella* spp. em 30% (6/20) das amostras de cortes de peito e 13,3% (2/15) nas de coxas e sobrecoxas analisadas (Carvalho & Cortez, 2005).

O estudo apresentado neste trabalho enquadra-se na monitorização da presença de *Salmonella* spp. em peitos de frango embalados em atmosfera protetora, conjugada com a verificação das superfícies de contacto direto na sala de desmancha de um matadouro industrial de aves na zona centro de Portugal. As amostras de peito de frango foram controladas no primeiro e no último dia de validade, após embalagem em atmosfera protetora e conservação a temperaturas $\geq 4^{\circ}\text{C}$, procurando-se verificar a eficácia da embalagem/acondicionamento no controlo de *Salmonella* spp..

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Produção Avícola

Segundo a AVEC (2013) a produção de carne de frango, a nível mundial, aumentou 5% entre 2011 e 2012. As previsões para o ano de 2013 refletiam a mesma tendência, sendo o setor das aves o único a prever crescimento, tanto em produção como em consumo (Figura 1).

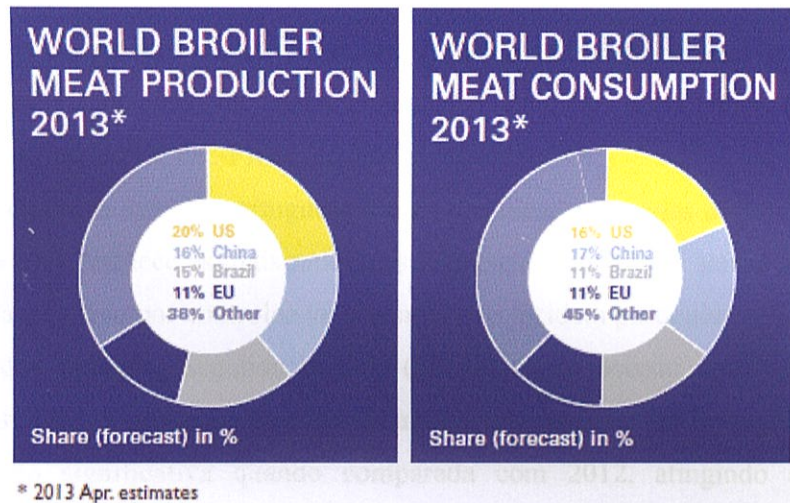


Figura 1 - Previsões sobre a produção e consumo de carne de aves a nível mundial (Retirado de AVEC, 2013).

O sector da carne de aves ocupa o quarto lugar entre os produtores a nível mundial, que gera um volume de faturação de 107 milhões de euros ano e emprega 676 mil trabalhadores na UE. Portugal é um importante produtor a nível europeu e o valor da produção final de aves supera os 2550 milhões de euros (AVEC, 2013). Segundo a DG AGRI-CE (2012) em 2012, as 12,4 milhões de toneladas de carne de aves de produção, juntamente com as importações (0,82 milhões de toneladas) e exportações (1,3 milhões de toneladas) manteve o nível de auto-suficiência na UE em 104%. Os países líderes na produção de carne de frango foram França, Reino Unido, Alemanha e Polónia, garantindo metade da produção da UE de carne de aves.

A UE importa produtos de alto valor (miudezas de aves, entre outros) do Brasil (70% do total das importações de carne de frango da UE) e Tailândia. O preço médio da carne de aves deve-se manter em 1,41 euros / kg, o principal importador de carnes até

2021 é o Japão, seguido pela China, México, Arábia Saudita e Rússia (OCDE-FAO, 2012).

Perspetiva-se que as exportações mundiais de carne de frango aumentarão 19% até 2021, em comparação com o período de 2009-11. A maior parte do crescimento das exportações de carne deverá ocorrer na América do Norte e do Sul, que serão responsáveis por quase 70% do aumento total em todas as carnes exportadas até 2021 (OCDE-FAO, 2012).

Os principais problemas e incertezas sobre o comércio de carne de aves na UE relaciona-se com a fragilidade ao nível do seu crescimento económico. As dificuldades da zona Euro podem influenciar a procura (rendimentos das famílias mais baixo), o abastecimento (limitações de financiamento e crédito) pode provocar impactos negativos nos preços (OCDE-FAO, 2012).

A tecnologia avícola portuguesa é uma das mais avançadas da UE. A produção nacional de aves obedece às mais modernas técnicas de produção, sendo acompanhada durante toda esta fase por controlos veterinários que incidem particularmente na saúde e bem-estar dos animais. Segundo o INE (2014a), e de acordo com as estatísticas agrícolas em 2013, a produção de carne de animais de capoeira em Portugal manteve-se sem alteração significativa quando comparada com 2012, atingindo as 334 mil toneladas (**Figura 2**). A produção de frangos de carne, que corresponde a 82% do total de animais de capoeira, apresentou um aumento de 0,8% em relação a 2012 (273 mil toneladas).

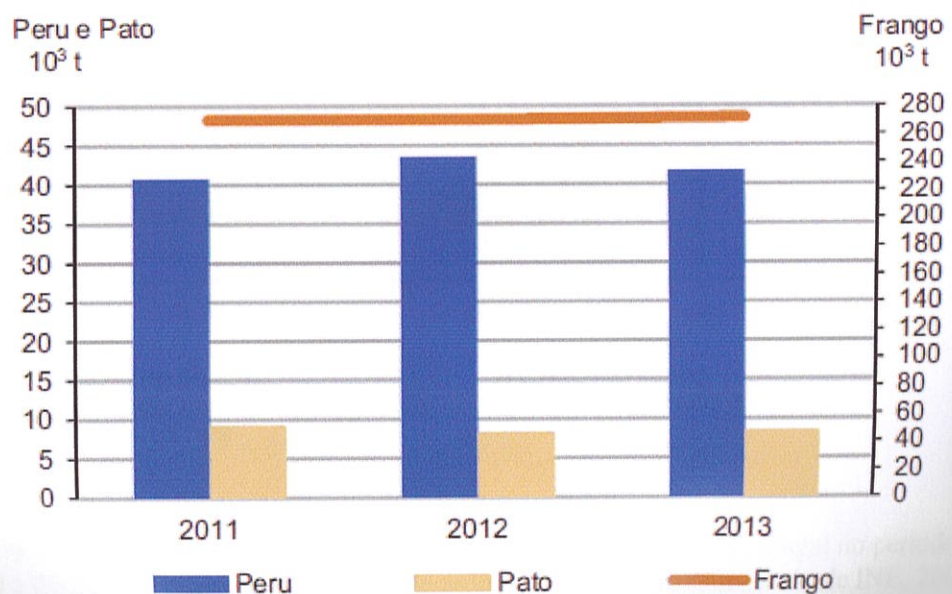


Figura 2 - Produção de Frango em Portugal (Retirado de INE, 2014a).

2.2. A Carne de Aves na Alimentação Portuguesa

2.2.1. Evolução do Consumo

O consumo global de produtos avícolas, especialmente carne de aves, tem aumentado de forma consistente ao longo dos anos, e esta tendência deverá ser para continuar. Grande parte do aumento da procura por produtos avícolas deve-se aos países em desenvolvimento. O crescimento da indústria avícola está a ter efeito sobre a procura (Velmurugu, 2013).

A Balança Alimentar Portuguesa (BAP) é um instrumento de análise estatística desenvolvida pelo INE, que permite conhecer as disponibilidades alimentares e nutricionais do país, através da evolução do perfil do consumidor nacional em termos de produtos, nutrientes e calorias. O primeiro conjunto de dados incidiu sobre a década de 90 (período entre 1990 e 2003), sendo atualizada quinzenalmente recorre à análise comparativa sempre que se justifica (INE, 2006).

A BAP para o período 1990-2003 (INE, 2006), refere que as carnes de animais de capoeira apresentaram 45% de aumento no consumo *per capita* diário, apenas ultrapassado pela carne de suíno que atingiu 61% (**Figura 3**).

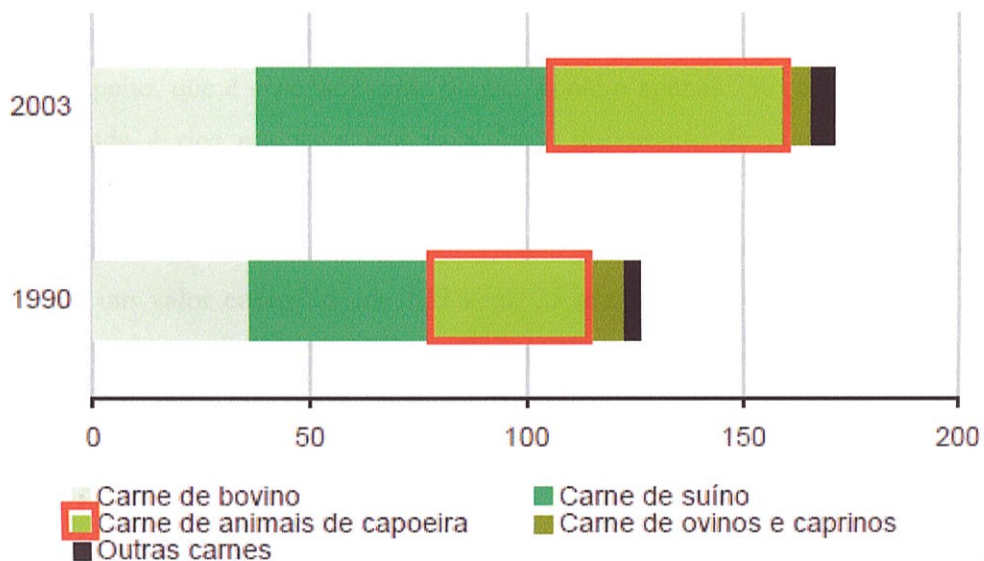


Figura 3 - Estrutura da captação diária de carne e miudezas em Portugal no período de 1990 a 2003, com relevo para a carne de animais de capoeira (Adaptado de INE, 2006).

No período de 2003 a 2008 a carne de animais de capoeira reforça a sua importância, representando 33% das disponibilidades alimentares de carnes (INE, 2010). Para o período de 2008 a 2012, a carne de animais de capoeira foi a única a apresentar um aumento de 6,2% das quantidades disponíveis diárias *per capita* para consumo (3,9 g/habitante), salientando a tendência de aumento da procura da carne de aves nos últimos anos. De acordo com os dados, verifica-se que 85,3% da carne de animais de capoeira disponível em 2012 teve origem na produção nacional (INE, 2014b).

2.2.2. Características nutricionais

A carne de frango consumida sem a pele é qualificada como um alimento saudável e com um teor muito baixo de gordura, portanto considerada um alimento adequado a uma alimentação sadia. A carne apresenta rico teor de proteínas de boa qualidade e é recomendado o consumo em todas as idades, e podem ser consumidas sem pele, por alguém que tenha riscos cardiovasculares, pois contem uma baixa taxa de colesterol. Na realidade, a carne de aves constituem uma fonte importante de proteínas. Além disso, trata-se de proteínas de boa qualidade porque são ricas em aminoácidos indispensáveis. Estas proteínas têm, por conseguinte, um bom valor biológico que é comparável ao das outras carnes (Venturini *et al.*, 2007).

O peito, que é o pedaço mais magro, contém apenas 2% de lípidos. A carne de frango ainda é rica em ferro e é uma fonte importante de vitaminas do grupo B, principalmente, B2 e B12 (Venturini *et al.*, 2007).

Segundo Venturini *et al.* (2007) cem gramas de carne de frango sem pele apresenta um valor energético de 129 kcal, 25 gramas de proteínas e 1,07 gramas de gordura total. No entanto, os valores referenciados pelo INSA (2010) para cem gramas de peito de frango cru sem pele, indicam 108 kcal, 24 gramas de proteínas e 1,1 gramas de gordura total.

2.2.3. Riscos Associados ao Consumo de Carne de Aves

A avaliação de risco é um processo científico realizado para identificar, caracterizar e quantificar o risco para a segurança alimentar e saúde pública associado ao consumo de carne de aves. As ferramentas que podem ser usadas neste processo

incluem risco de criação de perfil, quantitativos e qualitativos avaliação dos riscos e avaliações científicas. A aplicação dessas ferramentas para avaliar o risco para a saúde pública resultantes do consumo de carne de aves está dependente da finalidade da avaliação e a qualidade, quantidade e disponibilidade de dados relevantes, usando como base o definido pelo *Codex Alimentarius* (2001).

Segundo a EFSA (2012) a inspeção de carne de aves é reconhecida como uma valiosa ferramenta para a vigilância e monitoramento de condições específicas de saúde e bem-estar dos animais. Neste âmbito os riscos biológicos identificados foram *Campylobacter* spp., *Salmonella* spp. e as bactérias com o gene *ESBLAmpC*. De acordo com a FAO/WHO (2002), os riscos biológicos associados à carne de aves após desmacha até ao consumidor final, são *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., *Clostridium perfringens* e *Listeria*. A contaminação de carne de aves de capoeira e dos seus produtos com outras bactérias patogénicas, como *Staphylococcus aureus*, pode ser um resultado de manipulação imprópria de carne de aves.

De acordo com estudos da EFSA (2012) as dioxinas, bifenilos policlorados (PCBs), cloranfenicol, nitrofuranos e os nitroimidazóis, foram considerados os riscos químicos de elevada preocupação em aves de capoeira. No entanto, estas substâncias químicas em aves de capoeira, não são suscetíveis de representar um risco imediato ou agudo para a saúde dos consumidores.

2.3. *Salmonella* spp. em carne de frango

2.3.1. Caracterização do género *Salmonella* spp.

As bactérias do género *Salmonella* são bastonetes Gram-negativos, não esporogénicos, normalmente móveis e não encapsulados, anaeróbicos facultativos, pertencentes à família Enterobacteriaceae (Jay, 2000; Doyle & Beuchat, 2007).

A taxonomia do género *Salmonella* está em constante evolução, sendo as características bioquímicas, serológicas e genéticas determinantes para o estudo do grupo das salmonelas. Atualmente o género *Salmonella* encontra-se dividido em duas espécies (Doyle & Beuchat, 2007): *S. enterica* (com seis subespécies) e *S. bongori* (Tabela 1).

Tabela 1 - Taxonomia do género *Salmonella*

<i>Salmonella</i> (espécies/subespécies)	N.º de serotipos
<i>S. enterica</i> subsp. <i>enterica</i>	1504
<i>S. enterica</i> subsp. <i>salamae</i>	502
<i>S. enterica</i> subsp. <i>arizonae</i>	95
<i>S. enterica</i> subsp. <i>diarizonae</i>	333
<i>S. enterica</i> subsp. <i>houtenae</i>	72
<i>S. enterica</i> subsp. <i>indica</i>	13
<i>S. bongori</i>	22
Total	2543

Adaptado de Doyle & Beuchat (2007)

Neste contexto, a designação de uma das subespécies de maior relevância para a saúde pública é *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serotipo Typhimurium, embora seja designada correntemente como *Salmonella* Typhimurium ou *S. Typhi*.

Para muitos serotipos do género *Salmonella* existe uma relação específica com espécies animais. É essa a principal razão para que os resultados dos estudos epidemiológicos apontem para a associação de *S. Typhi* e *S. Paratyphi* a graves infeções no Homem. No entanto, as bactérias adaptadas às aves de capoeira são *S. Gallinarum* e *S. Pullorum*, sendo responsáveis por graves gastroenterites e elevadas taxas de mortalidades nas aves, mas que raramente aparecem associadas a infeções humanas (Lake *et al.*, 2004).

As bactérias do género *Salmonella* são quimioorganotróficas, sem necessidades nutricionais complexas, o que contribui para a capacidade de sobrevivência nos alimentos. A sua taxa de crescimento nesta bactéria patogénica e a sua capacidade de sobrevivência é influenciada por fatores como a temperatura, o pH, a atividade da água (a_w) e conservantes (Jay, 2000).

Existe alguma heterogeneidade nas indicações da literatura em relação às temperaturas de crescimento de *Salmonella* spp., no entanto a resiliência deste grupo microbiano faz com que o seu crescimento possa ocorrer entre temperaturas de 54°C até 2 a 4°C . De um modo geral a temperatura ótima de crescimento situa-se entre os 35 e os 43°C . Nos alimentos a resistência de *Salmonella* spp. à temperatura depende da

conjugação de fatores nutricionais, do pH e da a_w , mas de um modo geral a resistência aumenta com a diminuição da a_w e diminui a descida do pH (ICMSF, 1996, citado por FSANZ, 2013; Jay *et al.*, 2003 citado por FSANZ, 2013; Doyle & Beuchat, 2007).

A congelação não é um processo que assegure a destruição deste grupo microbiano. Segundo alguns estudos (Jay *et al.*, 2003, citado por FSANZ, 2013), temperaturas de -17 a -20°C permitem a manutenção de microrganismos viáveis, permitindo que *Salmonella* sobreviva longos períodos a temperaturas de conservação inferiores a -20°C.

As bactérias do género *Salmonella* crescem numa gama de pH entre 3,8 a 9,5, apresentando o seu ótimo a 7-7,5. Também a atividade da água tem um a forte influência no crescimento de *Salmonella* spp., sendo a a_w ótima de 0,99 e a mínima de 0,93 (Doyle & Beuchat, 2007; FSANZ, 2013).

A dispersão de *Salmonella* spp. no ambiente é devida à produção intensiva associada aos produtos de origem animal. Entre os muitos setores, a produção de ovos e frangos foi sempre um importante reservatório de salmonelas. A presença deste grupo microbiano no trato gastrointestinal de animais infetados, faz com que as suas fezes contaminem o ambiente, especialmente o solo e as águas. Assim, nos últimos anos a presença do género *Salmonella* tem surgido associado a produtos de origem vegetal, especialmente devido às técnicas de fertilização do solo, qualidade da água de rega e a falta de boas práticas de higiene entre a colheita e a distribuição (Doyle & Beuchat, 2007).

2.3.2 Fatores que favorecem a prevalência de *Salmonella* spp. em carne de aves

2.3.2.1 Produção primária

No início da avicultura comercial as bactérias *Salmonella* Gallinarum e *S. Pullorum* representavam os principais problemas sanitários, especificamente criação intensiva. Através de um trabalho intensivo de diagnóstico e eliminação de aves portadoras, estes serotipos foram quase eliminados dos bandos de aves de capoeira. No entanto, a erradicação destes serotipos terá dado lugar à instalação de *S. Enteritidis*, que proliferou nas criações. Assim, nas últimas décadas *S. Enteritidis* tenha sido implicada mais frequentemente nos surtos de salmoneloses através do consumo, principalmente, de produtos alimentícios de origem avícola (Mead *et al.*, 2010).

Segundo dados da EFSA (2007), a presença de *Salmonella* spp. em populações de aves (**Tabela 2**) é considerado como um fator de risco para a presença das bactérias em carne de aves. A contaminação das aves por bactérias do género *Salmonella* é multifatorial, embora possa ser relacionada com dos seguintes fatores na produção primária: contaminação da alimentação, fontes ambientais ou transmissão vertical a partir de ovos contaminados (ICMSF, 2005).

Segundo um relatório da EFSA (2009), os serotipos encontrados e sua prevalência nos bandos foram os seguintes: *Salmonella* Enteritidis 10,9% ;S. Typhimurium 0,5% ; S. Infantis 2,2% ;S. Mbandaka 0,4% ; S. Hadar 1,1%; Outros 6,5%. Neste estudo, Portugal foi um dos países excluídos devido à falta de dados suficientes para esta zoonose.

Tabela 2 - Prevalência *Salmonella* spp. em bandos de frangos

Member state	No. of flocks sampled ^a	% flocks positive for <i>Salmonella</i>
Austria	365	7.7
Belgium	373	15.3
Cyprus	248	10.9
Czech Republic	334	22.5
Denmark	295	3.1
Estonia	131	2.2
Finland	360	0.3
France	381	8.9
Germany	377	17.2
Greece	245	27.3
Hungary	359	65.7
Ireland	351	27.9
Italy	313	30.4
Latvia	121	9.1
Lithuania	156	5.1
Poland	357	57.7
Portugal	367	42.8
Slovakia	230	8.3
Slovenia	326	3.1
Spain	388	42.3
Sweden	291	0.0
The Netherlands	362	10.2
United Kingdom	382	10.7

^a The number of samples taken was statistically determined. Pooled fecal samples were obtained from boot swabs, and five swabs per flock were tested.

Retirado de Mead *et al.* (2010)

2.3.2.2 Transporte e abate nos matadouros

O transporte das aves para as unidades de abate e transformação, bem como as etapas de escaldão, depena, evisceração e arrefecimento favorecem a contaminação por *Salmonella* spp. (Nde *et al.* 2007).

O transporte das aves para o matadouro aumenta o stress das mesmas, diminuindo a sua resistência e tornando-as mais suscetíveis às infeções. A infeção por *Salmonella* spp. aumenta durante o transporte para o matadouro, uma vez que os animais defecam e contaminam as penas e pele, bem como as jaulas (Corry *et al.*, 2002). A influência do transporte de frangos é elevada pelo facto das caixas de transporte serem reutilizadas com elevada frequência e que este procedimento proporciona a contaminação (Slader, 2002).

O escaldão é utilizado para abrir os folículos na pele o suficiente para facilitar a remoção de penas. O tanque de escaldão pode servir essencialmente como um sistema de enriquecimento, em que os agentes são amplamente difundidos de todas as aves que entram no tanque. Isto pode surgir a partir de sujidade sobre a superfície da ave (Cason *et al.*, 2007) ou a libertação involuntária de matéria fecal. O tempo, a temperatura, o pH, a utilização de agentes antimicrobianos (Russell, 2008) e mesmo sentido do fluxo (Cason & Hinton, 2006) no processo são críticos em termos de manter a qualidade do produto e minimizar a prevalência de agentes patogénicos entéricos. A temperatura da água de escaldão depende do peso da ave e do tempo em que esta está mergulhada; nos frangos a temperatura oscila entre 50-52°C (ACMSF, 1996). No entanto, algumas espécies de *Salmonella* podem permanecer viáveis nos tanques de escaldão por longos períodos, constituindo um potencial de contaminação cruzada (ICMSF, 1996, citado por FSANZ, 2013).

As operações de abate de aves como a depena, a evisceração e o arrefecimento em tanques de água, têm sido considerados as maiores fontes de contaminação das carcaças de aves, uma vez que durante essas fases são frequentes as contaminações cruzadas (Nde *et al.*, 2007). Vários fatores contribuem para a facilidade com que a carne de ave se contamina, destacando-se a presença de *Salmonella* spp. no papo e moela, cuja rutura contribui para a contaminação das carcaças (Smith & Berrang, 2006) e a conspurcação interna e externa das carcaças com material fecal (Smith & Berrang, 2006). Segundo Goksoy (2004), após a evisceração automática, os números de *Enterobacteriaceae* aumentam devido à rutura no intestino e a incidência de *Salmonella*

spp. observada foi de 19% após a sangria, 11,9 % depois da depena e 14,3 % após a evisceração. A estes fatores predisponentes associa-se o difícil controlo dos microrganismos durante as operações de abate, devido às limitações de design do equipamento que é usado no escaldão, depena e evisceração, à dificuldade de lavar a cavidade abdominal depois da evisceração, visto que a carcaça continua inteira, e à retenção de água na pele, que facilita a entrada das bactérias nas fendas e folículos (Goksoy *et al.*, 2004).

Segundo Goksoy e colaboradores (2004) o abate afeta a qualidade microbiana e segurança de carcaças de frangos, uma vez que a incidência de *Salmonella* spp. sobre as carcaças aumentou de, respetivamente, 40 para 60% e de 33,3 para 40%, durante o processamento em duas instalações industriais diferentes. Apesar de uma elevada proporção de microrganismos serem retirados das carcaças durante o processamento, a aumento de *Salmonella* spp. verificou-se ser inevitável. Na realidade são vários os estudos que evidenciam a presença de *Salmonella* spp. nas carcaças de frango processados industrialmente (Almeida *et al.*, 2000; Fuzihara *et al.*, 2000; Tessari *et al.*, 2003; Rezende *et al.*, 2005; Reiter *et al.*, 2007; Tessari *et al.*, 2008), estando referenciado em alguns a identificação de *Salmonella* Enteritidis, subespécie de grande relevância em termos de saúde pública (Rezende *et al.*, 2005; Almeida *et al.*, 2003).

2.3.2.3 Desmancha e embalagem *em Salmonella* spp.

A prevalência de *Salmonella* spp. em peças resultantes da desmancha de carcaças de aves, cuja manipulação pode ser consideravelmente maior quando comparada com a das próprias carcaças, aumenta a probabilidade de contaminação da carne de aves. Num estudo de Borsoi e colaboradores (2005), a análise de 180 amostras de carcaças de frangos, peitos com pele e pedaços de frango recolhidas no comércio (supermercados e talhos), evidenciou o isolamento de bactérias do género *Salmonella* em 12,2% das amostras. Segundo Carvalho & Cortez (2005), num estudo realizado com frangos após a desmancha, foi observada a presença de *Salmonella* spp. em 30% de amostras de cortes de peito e 13,3% em amostras de coxas e sobrecoxas.

Nos Estados Unidos da América um estudo efetuado por uma organização de consumidores (Andrews, 2013), mostrou níveis preocupantes de bactérias patogénicas em 316 amostras de peito de frango (80% de enterococos; 65% de *Escherichia coli*;

43% *Campylobacter*; 14% de *Klebsiella*; 11% de *Salmonella*; 9% de *Staphylococcus aureus*).

Para além da segurança, um dos mais importantes aspetos a considerar na produção de carne de aves é a estabilidade. Estes indicadores podem ser modificados positivamente se a carne for embalada em atmosfera protetora e a temperatura de conservação for inferior a 4°C (Bolder, 2007, citado por Hulánková *et al.*, 2010). O efeito antimicrobiano do CO₂ ocorre em concentração igual ou superior à 10%, limitando a microbiota aeróbia e, em geral, as bactérias Gram negativas, em especial *Enterobacteriaceae*, incluindo *Salmonella* (Flores & e Matsos, 2005, citado por Hulánková *et al.*, 2010; Jay, 2000). Apesar de as bactérias do género *Salmonella* não se multiplicarem a temperaturas inferiores a 4°C, alguns estudos referem o desenvolvimento de *Salmonella* em carne de aves conservadas a temperaturas de 2°C (D'Aoust, 1991, citado por Hulánková *et al.*, 2010). Um estudo sobre o crescimento/sobrevivência de *Salmonella* Enteritidis em carne de frango embalada em vácuo ou em atmosfera protetora, revelou que a 3°C existe sobrevivência das bactérias. No entanto, nas amostras de carne de frango embaladas em diferentes atmosferas (10% N₂; 20%CO₂/80% O₂) e mantidas a 10°C, apresentam um crescimento rápido da população de *Salmonella* Enteritidis (Nychas & Tassou, 1996).

2.3.3 Prevenção da contaminação por *Salmonella* spp.

2.3.3.1 Medidas

O controlo da salmonelose passa essencialmente pela compreensão dos mecanismos envolvidos no processo de diagnóstico e fatores relacionados aos aspetos epidemiológicos suscita a continuidade de pesquisas que possam minimizar os efeitos deletérios desta enfermidade bem como sua disseminação na população humana e animal (Rodrigues, 2011).

É obrigatória a vigilância epidemiológica da salmonelose por todos os Estados Membros da UE, assim como a informação de todos os casos positivos de modo a se constituir um pilar importante para uma política integrada de segurança alimentar (DGS, 2010). A análise de risco com as suas três componentes (avaliação, comunicação e gestão de riscos) constitui o sistema de organização oficial em vigor na UE, Regulamento (CE) N.º 178/2002 de 28 de Janeiro, para garantir a segurança da cadeia

alimentar tendo como objectivo um elevado nível de protecção da vida e da saúde humanas.

Assim, para prevenir a contaminação dos bandos é recomendada a implementação de medidas rigorosas de biossegurança e de controlo tanto nas explorações avícolas como a nível do abate e processamento das carcaças (EFSA, 2005; Baré, 2009). Biossegurança é atualmente preocupação mundial em todos os serviços de saúde de qualidade. Trata-se do conjunto de ações voltadas para a prevenção, minimização ou eliminação de riscos inerentes às atividades de pesquisa, produção, ensino, desenvolvimento tecnológico e prestação de serviços, visando à saúde do homem, dos animais, a preservação do meio ambiente e a qualidade dos resultados. (Teixeira *et al.*, 1996) Programas de biossegurança têm sido conhecidos por ser eficaz na prevenção de surtos de doenças no sistema de produção de aves. Alguns dos requisitos de implantação dos estabelecimentos, são os que constam do Decreto-Lei N.º 69/96, de 31 de Maio, diploma que regulamenta o exercício das actividades avícolas de selecção, multiplicação e recria de aves de reprodução ou de postura, criadas ou mantidas em cativeiro ou semicativeiro e na Portaria N.º 206/96 de 7 de Junho, que estabelece normas que disciplinam o exercício das actividades avícolas de selecção, de multiplicação, de recria, de incubação e de produção.

A protecção contra a entrada de novos serotipos na produção avícola tem que ser eficaz. É necessário estabelecer barreiras sanitárias entre as áreas sujas e áreas limpas. A natureza das barreiras tem que levar conta o tipo de instalação, o maneiio das aves e as maneiras pelas quais os microrganismos patogénicos podem ser novamente introduzidos no pavilhão, roedores, insetos e aves selvagens devem ser considerados (Neto *et al.*, 2005). A implementação de medidas de biossegurança tem como objectivo identificar e controlar as vias de entrada dos agentes nas explorações, através das pessoas (tratadores, fornecedores e técnicos), veículos pessoais e de transporte de mercadorias avícolas ou de aves vivas, outros animais (aves selvagens, insetos, roedores e animais domésticos), água de abastecimento e alimentos compostos (Costa, 2008). Os produtores de alimentos de origem animal têm obrigações éticas para reduzir o risco de perigos de origem alimentar em animais sob seus cuidados.

A contaminação da alimentação contaminada é uma importante fonte de salmonelose nos animais, sendo um alvo de atuação do controlo em vários países. O impacto da redução de *Salmonella* spp. nas rações animais no risco de salmonelose humana é difícil de avaliar e é suscetível de variar entre as indústrias de alimentos de

origem animal (Davies *et al.*, 2004). Segundo Van Immerseel (2009), é possível diminuir a contaminação da carcaça de frango, adicionando ácidos orgânicos na ração ou água potável em momentos apropriados.

Entre as medidas tomadas, salienta-se a aplicação sistemática do princípio “all in/all out”, isto é, de um vazio sanitário, de pelo menos duas semanas, para se proceder à limpeza e desinfecção das instalações. Deve-se igualmente proceder à remoção das camas, penas, restos de fezes e poeiras, sendo estes, posteriormente encaminhados para sistemas de tratamento, tais como compostagem, sistemas de biogás, deposição em aterro e incineração (DGV, 2005).

A qualidade das camas é um dos principais parâmetros de saúde, produtividade e bem-estar animal e é importante para reduzir a possibilidade de infeção em momentos do período de criação, com mais risco de multiplicação e disseminação de *Salmonella* spp. (Pires *et al.*, 2009).

Todos os locais, equipamentos, utensílios, veículos de transporte (rodilúvios), vestuário e calçado que estiveram em contacto com as aves deverão ser desinfetados, de preferência com a utilização consecutiva de dois desinfetantes (DGV, 2005).

As explorações avícolas devem estar idealmente afastadas de outras explorações agropecuárias e de possíveis fontes de contaminação, tais como estações de tratamento de águas residuais e aterros. Os pavilhões das aves devem ser desenhados de modo a prevenir a entrada de outros animais exteriores à exploração e deverão ser implementadas medidas para controlo de pragas. O acesso a pessoas exteriores à exploração deve ser limitado, e deverão ser promovidas medidas de higiene aos tratadores e pessoas afins da exploração, tais como desinfecção do equipamento, principalmente das botas, e lavagem das mãos. Recomenda-se que as instalações estejam equipadas, à entrada, com um vestiário limpo onde o pessoal e os visitantes possam calçar botas e vestir um fato-macaco, disponibilizados pela exploração. À entrada e à saída do vestiário, deve ser utilizado um pedilúvio desinfetantes e um antisséptico para as mãos (DGV, 2005).

Sendo a água não tratada um dos reservatórios de *Salmonella* spp., é premente impedir a entrada deste agente na exploração, disponibilizando água potável ou em alternativa proceder ao tratamento da mesma, através da aplicação de cloro (2-3 ppm), de sistemas de filtração ou de osmose reversa, bem como pela utilização de produtos químicos (Cox & Pavic, 2009).

Em Portugal, as explorações avícolas têm implementado medidas que impedem o contacto com outras aves, bem como sistemas obrigatórios de limpeza e desinfeção que permitem manter as aves saudáveis e obter carne sanitariamente segura (DGV, 2009). As medidas para o transporte, instalações e equipamentos no matadouro e instalações de desmancha, bem com as condições de higiene no abate e desmancha/desossa, fazem parte dos requisitos específicos da Seção II -Anexo III, do Regulamento (CE) N.º 853/2004 do Parlamento europeu e do Conselho de 29 de Abril de 2004 que estabelece regras específicas de higiene aplicáveis aos géneros alimentícios de origem animal.

Existem ainda medidas de atuação mais direcionada a uma vigilância microbiológica através de um rigoroso controlo analítico onde estão envolvidos dois grupos de critérios microbiológicos. Os critérios de segurança dos géneros alimentícios, definem a aceitabilidade de um produto ou de um lote de géneros alimentícios, aplicável aos produtos colocados no mercado ou em condições de o serem. Os critérios de higiene dos processos, que indicam se o processo de produção funciona de modo aceitável, não sendo aplicável a produtos já colocados no mercado e onde se estabelece um valor de contaminação indicativo acima do qual se torna necessário tomar medidas corretivas para preservar a higiene do processo. O Regulamento (CE) N.º2073/2005 da Comissão de 15 de Novembro de 2005, alterado pelo Regulamento (CE) N.º1441/2007 da Comissão de 5 de Dezembro de 2007, relativo a critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros, estabelece que o critério de higiene dos processos de abate de aves, especificamente de frango e peru, seja a ausência de *Salmonella* spp. em 25 g de pele do pescoço das carcaças após a refrigeração. O plano de amostragem obriga à recolha de 50 amostras, das quais não mais do que 7 podem ser positivas. As amostras são recolhidas em 10 sessões de amostragem, portanto 5 amostras por sessão, correspondentes a 15 carcaças. A colheita de amostras é feita pelo menos uma vez por semana e devendo o dia escolhido seja rotativo ao longo das sessões, para poder cobrir todos os dias da semana em que existe abate. A seleção de ser feita de modo a que a pele do pescoço seja suficientemente longa (pelo menos 4cm), para assegurar que se consegue cortar uma porção com pelo menos 10 g. As amostras devem ser refrigeradas e analisadas 24 horas seguintes. A frequência de amostragem poderá reduzir-se a uma amostra cada duas semanas no caso de se terem obtido resultados satisfatórios durante trinta semanas consecutivas (Moreno, 2006).

A água utilizada na indústria alimentar também está sujeita a análises periódicas para avaliação de parâmetros microbiológicos, químicos e organoléticos. O Decreto-Lei N.º 306/2007, de 27 de agosto, regula a qualidade da água destinada ao consumo humano e tem por objetivo proteger a saúde humana dos efeitos nocivos resultantes de qualquer contaminação da água de consumo, assegurando a sua salubridade e limpeza. Este decreto fixa quais os parâmetros a analisar, bem como os controlos de rotina, os controlos de inspeção feitos por laboratório creditado e as frequências mínimas de amostragem e análise da água.

2.3.3.2 Controlo de *Salmonella* spp. na UE e em Portugal

Sendo obrigatória a vigilância da salmonelose em humanos na UE, todos os casos e surtos devem ser epidemiologicamente estudados, incluindo o controlo de *Salmonella* nos animais e produtos a que dão origem. Neste sentido os resultados obtidos a partir de humanos, animais e alimentos são compilados e analisados pela EFSA e pelo ECDC. Anualmente é apresentado um relatório referindo as principais zoonose e seus agentes, bem como os principais surtos a nível alimentar (Hugas & Beloeil, 2014).

Nos relatórios anuais da EFSA entre 2007 e 2010, verifica-se um decréscimo do número de casos de salmonelose, o que não impede de ser relatada como a segunda doença zoonótica mais frequente, logo a seguir às doenças alimentares derivadas de *Campylobacter* (campilobacteriose) (EFSA, 2008; EFSA & ECDC, 2012). De acordo com os dados compilados (**Figura 4**), os principais serotipos associados com a salmonelose humana são *Salmonella*. Enteritidis, *S.* Typhimurium e *S.* Infantis (Hugas & Beloeil, 2014).

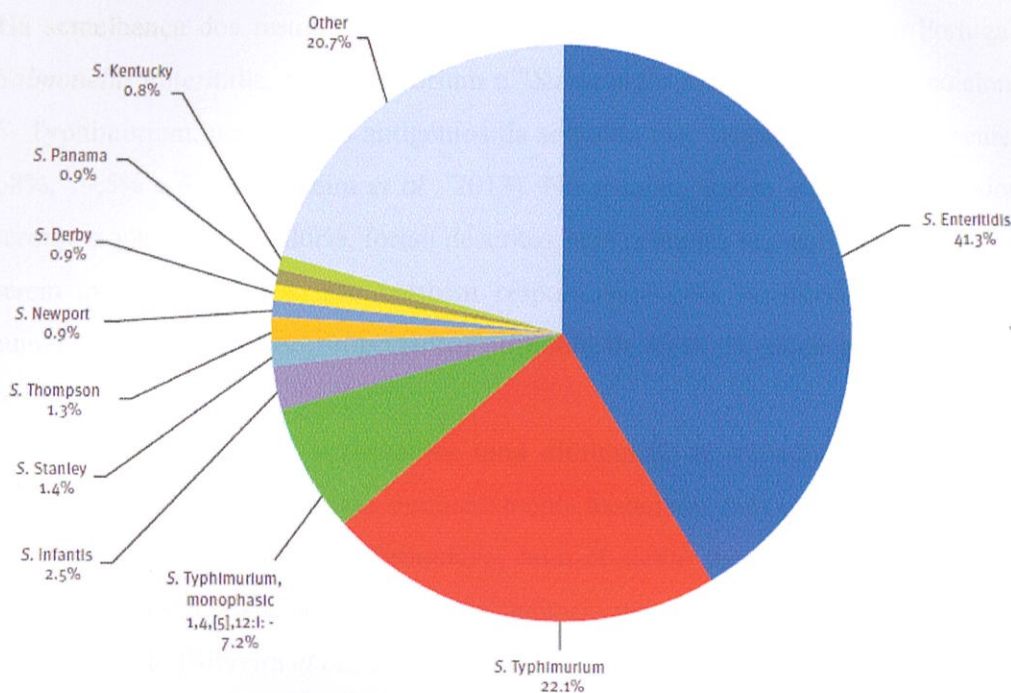


Figura 4 - Principais serotipos responsáveis por salmonelose humana na UE em 2012 (Retirado de Hugas & Beloel, 2014).

De acordo com o relatório da EFSA de 2012, os casos de salmonelose provocados por *Salmonella* Enteritidis, encontravam-se associados com o consumo de ovos e carne de aves contaminados.

Estudos na EU, conduzidos entre 2005 e 2006 e em 2008, em bandos de frangos e em carcaças de frango, mostravam uma prevalência de *Salmonella* de, respetivamente, 24 % e 16 %. Os resultados observados em 2010, a partir de uma monitorização mais uniforme entre os Estados Membros, mostraram uma prevalência de 4 % em bandos de frangos (EFSA, 2007; EFSA, 2010).

Os reservatórios de *Salmonella*, de acordo com os dados recolhidos na UE, são os suínos, frangos e perus. No entanto, a contribuição dos frangos para a ocorrência de salmonelose é de 4%, embora os resultados obtidos mostrem variações de 0.1 % a 40 % entre os Estados Membros. A evolução dos resultados fazem com que a EFSA considere que *Salmonella* spp. deva manter uma prioridade elevada na inspeção da carne de aves (EFSA, 2012).

Em Portugal, entre 2002 e 2012, o INSA identificou os serotipos de 6366 estirpes de *Salmonella* isoladas de doentes portugueses com sintomas de salmonelose.

Há semelhança dos resultados europeus, os serotipos mais comuns em Portugal são *Salmonella* Enteritidis, *S. Typhimurium* e "*Salmonella* 4,5:i:-" (mesmo grupo clonal de *S. Typhimurium*, mas sem os antígenos da segunda fase flagelar), respetivamente com 68%, 19,5% e 4,5% (Silveira *et al.*, 2013). No entanto, foram ainda identificados 113 serotipos que, na sua maioria, foram descritos pela primeira vez em Portugal. Apesar de serem menos frequentes, são também responsáveis pela ocorrência de salmonelose humana e, neste contexto, importantes do ponto de vista da saúde pública (Silveira *et al.*, 2014).

A partir de 2005 verificou-se uma diminuição acentuada nos isolamentos de *Salmonella* Enteritidis, serotipo frequentemente associado com o consumo de ovos e de carne de aves. Assim, a sua diminuição, num contexto de diminuição de *Salmonella* spp., parece estar associado ao controlo sanitário na produção primária e na cadeia de processamento (Silveira *et al.*, 2013).

No âmbito do Plano Nacional de Colheita de Amostras, a ASAE, no período compreendido entre 2008 e 2010, desenvolveu um estudo para conhecer a prevalência de *Salmonella* nos produtos de origem animal que se encontram a venda no mercado nacional (**Figura 5**). Ao contrário dos resultados da EFSA (2011) a maior prevalência das bactérias do género *Salmonella* verificou-se nos preparados de carne e/ou de carne picada, exceto carne de aves (Diakos & Borges, 2011). Considerando o nível de heterogeneidade na amostragem e tendo em conta a informação epidemiológica e os resultados da EFSA, parece ser necessário conhecer os níveis de *Salmonella* spp. na carne fresca de frango em Portugal.

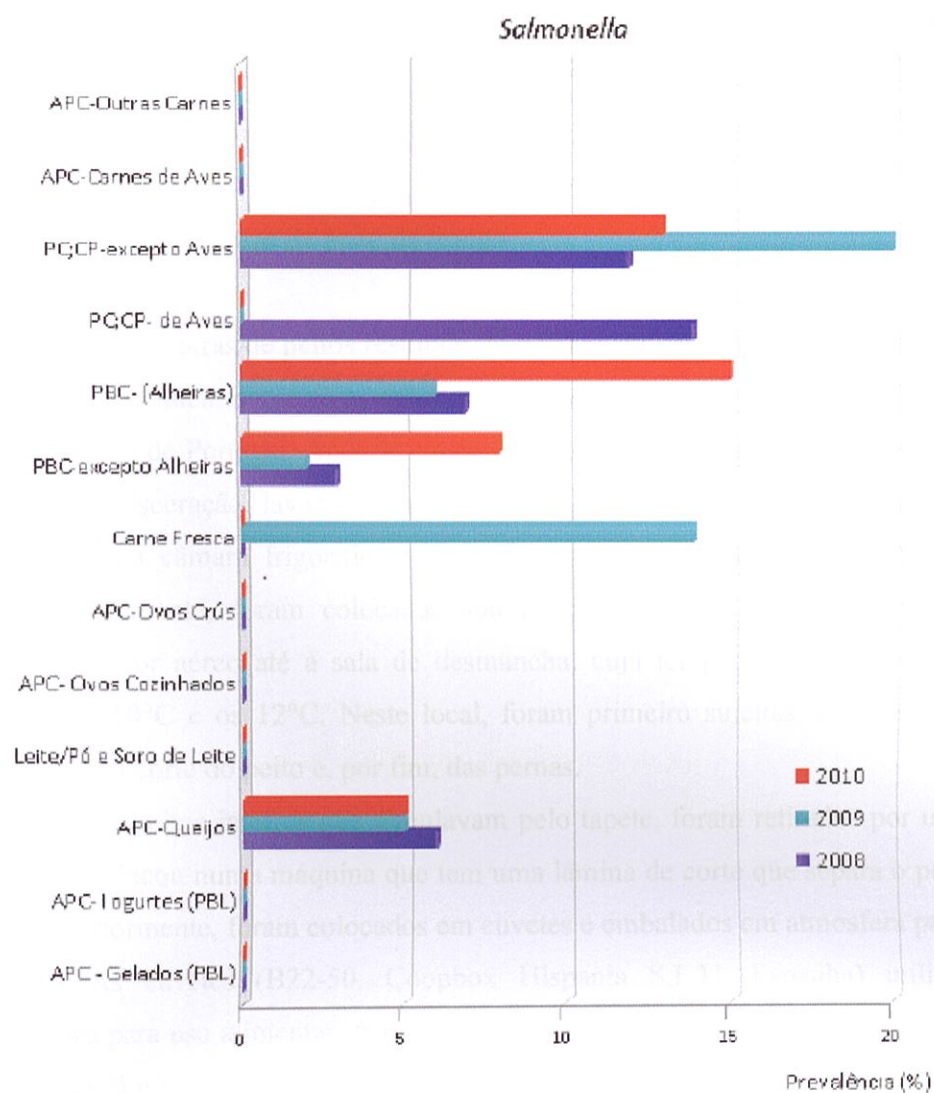


Figura 5 - Prevalência de *Salmonella* spp. em produtos de origem animal: PC, preparado de carne; CP, carne picada; PBC, produtos à base de carnes; APC, produtos prontos para consumo; PBL, produtos à base de leite (Retirado de Diakos & Borges, 2011).

3. METODOLOGIA

3.1. Colheita de Amostras

3.1.1. Amostras de peito de frango

As amostras de peitos resultam da desmancha de carcaças de frango ("broilers") de produção intensiva, após as operações de abate num matadouro industrial de aves da zona centro de Portugal. Após as etapas de pendura, insensibilização, sangria, escaldão, depena, evisceração, lavagem e arrefecimento, as carcaças eram colocadas durante 24 horas numa câmara frigorífica entre 0°C a 4°C, para estabilização da temperatura. Sequencialmente, foram colocadas automaticamente nos ganchos e seguiram pelo transportador aéreo até à sala de desmancha, cuja temperatura estava compreendida entre os 10°C e os 12°C. Neste local, foram primeiro sujeitas ao corte das asas, de seguida ao corte do peito e, por fim, das pernas.

Os peitos inteiros que circulavam pelo tapete, foram retirados por um operador que os colocou numa máquina que tem uma lâmina de corte que separa o peito do osso e, posteriormente, foram colocados em cuvetes e embalados em atmosfera protetora.

As cuvetes (B22-50, Coopbox Hispania S.L.U, Espanha) utilizadas eram próprias para uso alimentar, apresentavam uma estrutura retangular e eram constituídas por três lâminas: lâmina exterior de poliestireno expandido (EPS), lâmina central em poliestireno expandido de elevado impacto (HIPS) e lâmina interior com uma película de barreira de polietileno (PE) (Anexo I). Na sua base continham ainda um papel absorvente de humidade do tipo ABS (Coopbox Hispania S.L.U, Espanha).

Para a embalagem foram utilizados dois tipos de filme (Anexo II): retráctil (Toplex HB SP Shrink, Plastopil, Israel) e de selagem (Toplex HB, Plastopil, Israel). A selagem das embalagens foi efetuada com uma termoseladora (Reepack, Itália), sendo utilizada uma mistura comercial de gases ("Extendapak – 43", Praxair, Portugal), cujos componentes se encontravam nas seguintes proporções: 70% O₂, 20% CO₂, 10% de N₂ (Anexo III). Por fim, as embalagens foram pesadas, etiquetadas e armazenadas na câmara de refrigeração entre 0°C a 4°C.

Após a data de embalagem, o produto tem uma validade de nove dias.

Recolheram-se, aleatoriamente, amostras de peito de frango embaladas em atmosfera protetora e refrigeradas a 4°C, em diferentes dias de desmancha e a meio do período de laboração, durante seis meses (Novembro de 2012 a Abril de 2013), num total de 120 amostras (n=120). Cada recolha compreendeu seis amostras compostas por cinco peitos cada.

O transporte das amostras para o laboratório foi feito em caixa isotérmica com termoacumuladores.

3.1.2. Amostras de superfícies de contato direto da sala de desmancha

De acordo com o plano de higienização (Anexo IV), diariamente é efetuada uma limpeza alcalina e desinfecção às paredes, pavimentos e máquinas; semanalmente procede-se a uma limpeza ácida e desinfecção. A limpeza diária compreende as fases de lavagem com água, para remoção de todos os resíduos de alimentos das instalações e equipamento, de aplicação de um detergente alcalino a 3%, e por fim, a de enxaguamento das superfícies com água potável. Semanalmente é aplicado um detergente ácido a 2% seguido de um desinfetante a uma concentração de 0,5 %, durante 10 a 15 minutos, sobre todas as superfícies limpas, para reduzir a carga microbiana das mesmas.

As amostras das superfícies de contato selecionadas (máquina de peitos, lâmina de corte, mesa de apoio) na sala de desmancha, foram recolhidas em dias diferentes, após a higienização das instalações e a meio do período de laboração. Para a pesquisa de *Salmonella* spp. foram obtidas amostras numa área de 100cm², com o auxílio de uma zaragatoa e de um delimitador esterilizado (ISO 18593:2004). O transporte das amostras de superfície para o laboratório foi feito em caixa isotérmica com termoacumuladores.

3.2 Pesquisa de *Salmonella* spp.

Para a monitorização da ocorrência de contaminação por *Salmonella* spp. 60 amostras foram analisadas de imediato (1º dia de validade), enquanto as restantes 60 amostras foram mantidas refrigeradas a 4°C, sendo analisadas no 9º dia do prazo de validade.

A análise microbiológica para pesquisa de *Salmonella* spp. foi realizada de acordo com a metodologia Vidas (protocolo *Salmonella* spp. SLM, BioMérieux).

Primeiro fez-se o pré-enriquecimento com água peptonada (AT) à temperatura ambiente de 25 g das amostras de peito de frango ou colocou-se a zaragatoa em 10ml AT (suspensão-mãe), seguindo-se uma incubação a 37°C, durante 22-26 horas. Na fase de enriquecimento, transferiu-se 0,1mL da suspensão mãe para 10mL de meio líquido SX2 (*BioMérieux*), seguindo-se uma incubação a 41,5°C, durante 6 a 8 horas. A partir do meio líquido SX2 homogeneizado transferiram-se 1 a 2mL para tubo, procedendo-se de seguida a um aquecimento a 95°C-100°C, durante 15 minutos. Após nova homogeneização, transferiu-se 0,8mL para a barrete *Salmonella* spp. SLM, (*BioMérieux*). A imunodeteção foi realizada no equipamento *Mini-Vidas* (*BioMérieux*).

Todas as amostras positivas foram confirmadas de acordo com os procedimentos da ISO 6579:2002.

Resultados da pesquisa de *Salmonella* spp. em peitos de frango

N.º Amostras	N.º Amostras Positivas	% Resultados Positivos	N.º Amostras Negativas	% Resultados Negativos
10	3	30%	7	70%

4. RESULTADOS

4.1 Avaliação da Contaminação por *Salmonella* spp. em Amostras de Peito de Frango

Na pesquisa de *Salmonella* spp. em 25 gramas de peito de frango, realizada em amostras (n=60) provenientes de diferentes bandos e recolhidos em diferentes dias a meio da laboração e analisados no primeiro dia de validade, após a sua embalagem em atmosfera protetora e conservação a 4°C, os resultados indicam a presença destas bactérias em 6.7% das amostras (**Quadro I**). A análise das amostras (n=60) mantidas a 4°C até ao último dia do prazo de validade (9º dia) revelou que em 11.7% das amostras (**Quadro 1**) apresentou resultados positivos para *Salmonella* spp..

Quadro 1 - Resultados da pesquisa de *Salmonella* spp. em peitos de frango no primeiro e último dia de validade do produto

	Nº Amostras	Nº Amostras Positivas	% Resultados Positivos	Nº Amostras Negativas	% Resultados Negativos
1º Dia de Validade	60	4	6,7	56	93,3
9ª Dia de Validade	60	7	11,7	53	88,3

4.2. Avaliação da Contaminação por *Salmonella* spp. nas Superfícies da Sala de Desmancha

Para a avaliação hígido-sanitária das condições de desmancha de carcaças de frango, procedeu-se à pesquisa de *Salmonella* spp. em superfícies de contato direto selecionadas (máquina de desmancha de peitos, lâmina de corte, mesa de apoio) após a higienização e a meio do período de laboração. Os resultados mostram a ausência em todas as amostras (n=20) recolhidas após a higienização e imediatamente antes do início do período de laboração nas superfícies selecionadas (**Quadro2**). A meio do período de

laboração verifica-se que uma em cada três amostras (33,3%) recolhidas são positivas para *Salmonella* spp., para cada uma das superfícies em estudo (**Quadro 2**).

Quadro 2 - Resultados da pesquisa de *Salmonella* spp. em superficiais de processamento dos peitos de frango no início e meio da desmancha

	Início Processo de Desmancha			Meio do Processo de Desmancha		
	Nº Amostras	Nº Amostras Positivas	% Resultados Positivos	Nº Amostras	Nº Amostras Positivas	% Resultados Positivos
Máquina de Peitos	20	0	0	3	1	33,3
Lâmina de Corte	20	0		3	1	
Mesa de Apoio	20	0		3	1	

5. DISCUSSÃO

O Regulamento (CE) N.º 2073/2005 da Comissão de 15 de Novembro de 2005, alterado pelo Regulamento (CE) N.º 1441/2007 da Comissão de 5 de Dezembro de 2007 e pelo Regulamento (UE) N.º 365/2010 da Comissão de 28 de Abril de 2010, relativo a critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros, estabelece que o critério de higiene dos processos de abate de aves, especificamente de frango e peru, seja a ausência de *Salmonella* spp. em 25 g de pele do pescoço das carcaças após a refrigeração. De acordo com a informação disponibilizada pelo matadouro para o período de Novembro de 2012 a Abril de 2013, a pesquisa de *Salmonella* spp. (realizada na pele do pescoço das carcaças de frango) nos resultados do controlo oficial revelou-se sempre negativa (dados não publicados). No entanto, são vários os estudos que referem a contaminação de carcaças de frango processadas industrialmente e preparadas para distribuição no comércio, em que a frequência da contaminação por bactérias do género *Salmonella* varia entre 2,5 a 42% (Fuzihara *et al.*, 2000; Almeida *et al.*, 2003; Tessari *et al.*, 2003; Carvalho & Cortez, 2005; Rezende *et al.*, 2005; Reiter *et al.*, 2007; Tessari *et al.*, 2008).

Para além da contaminação das carcaças de frango com *Salmonella* spp., estudos realizados com peças de frango após a desmancha demonstram a prevalência deste grupo bacteriano na carne de aves. Num estudo de Harrison e colaboradores (2001), a análise de 300 amostras de carcaças de frangos, peitos com pele e pedaços de frango recolhidas no comércio (supermercados e talhos), evidenciou o isolamento de bactérias do género *Salmonella* em 29% das amostras. De acordo com Carvalho & Cortez (2005), num estudo realizado com frangos após a desmancha, foi observada a presença de *Salmonella* spp. em 30% de amostras de cortes de peito e 13,3% de amostras de coxas e sobrecoxas.

Em Portugal, os dados da ASAE apontam para uma prevalência de *Salmonella* spp. superior a 10% em amostras de preparados de carne de aves e em carne de aves picada recolhidas em 2008 (Diakos & Borges, 2011). Assim, os 6,7 % de resultados positivos para *Salmonella* spp. nas 60 amostras de peitos de frango embalados em atmosfera protetora no 1º dia de validade obtidos neste estudo (**Quadro 1**), sugerem a necessidade de verificação da higiene das superfícies de contato direto durante o processo de desmancha.

Tendo como base as condições de higiene no abate e desmancha/desossa, que fazem parte dos requisitos que estabelecem regras específicas de higiene aplicáveis aos géneros alimentícios de origem animal (Seção II -Anexo III, do Regulamento (CE) N.º 853/2004 do Parlamento europeu e do Conselho de 29 de Abril de 2004), considerou-se necessário verificar a eficácia do processo de higienização nas superfícies de contato direto com as carcaças dos frangos para a obtenção dos peitos, em relação à presença de bactérias do género *Salmonella*. Nesta perspetiva, os resultados obtidos (**Quadro 2**) evidenciam a ausência deste grupo microbiano nas superfícies selecionadas, após a higienização e imediatamente antes do início da desmancha. No entanto, a repetição da análise durante o período de laboração, mostra que existem bactérias do género *Salmonella* nas superfícies de contato direto com os peitos de frango (**Quadro 2**). Assim, existem carcaças contaminadas que transferem bactérias para as superfícies, que, por sua vez, potenciam a contaminação dos cortes de peito obtidos a partir de carcaças não contaminadas.

Sendo a segurança e a estabilidade fatores importantes na produção de carne de aves, neste estudo foram também analisadas 60 amostras de peitos de frangos embalados em atmosfera protetora (70% O₂, 20% CO₂, 10% N₂) e armazenadas na câmara de refrigeração entre 0°C a 4°C durante nove dias (limite do prazo de validade). Os resultados obtidos na pesquisa de *Salmonella* spp. revelam 11,7% de amostras positivas, o que representa um aumento de amostras positivas em relação ao primeiro dia do prazo de validade. Estes resultados estão de acordo com o observado por outros autores que verificaram o desenvolvimento de *Salmonella* em carne de aves conservadas a temperaturas de 2°C (D'Aoust, 1991, citado por Hulánková et al., 2010) e o crescimento ou a sobrevivência de *Salmonella* Enteritidis em carne de frango embalada em atmosfera protetora e conservada a 3°C (Nychas & Tassou, 1996).

Neste contexto, a estabilidade e a segurança dos peitos de frango embalados em atmosfera protetora não são assegurados por uma temperatura de conservação inferior a 4°C (Bolder, 2007, citado por Hulánková et al., 2010), nem pelo efeito antimicrobiano do CO₂ (a concentrações superiores a 10%), sobretudo na limitação do crescimento ou sobrevivência de bactérias da família *Enterobacteriaceae*, incluindo *Salmonella* (Flores & Matsos, 2005, citado por Hulánková et al., 2010; Jay, 2003).

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPETIVAS FUTURAS

Na União Europeia as estratégias para prevenir a transmissão de *Salmonella* para os seres humanos concentram-se em toda a cadeia de produção de carne de frango desde o campo à mesa. As medidas definidas pelo Parlamento e pelo Conselho, obrigando os Estados-Membros a reduzir a prevalência de *Salmonella* na criação de aves, são os Regulamentos N.º 853/2004, N.º 854/2004 e N.º 882/2004, bem como o Regulamento N.º 2073 de 2005, alterado pelos Regulamentos N.º 1441/2007 e N.º 365/2010.

Os resultados apresentados neste estudo revelam que, apesar dos controlos oficiais negativos para *Salmonella* spp. na pele do pescoço das carcaças de frangos após a refrigeração, 6,7% das amostras de peitos de frango embalados em atmosfera protetora e obtidos a partir dessas carcaças, apresentam *Salmonella* no primeiro dia do prazo de validade. O número de amostras positivas aumentou para 11,7 % ao ser realizada a pesquisa de *Salmonella* no último dia de validade do produto.

Neste contexto parece-nos relevante um reforço do controlo oficial, nomeadamente através da análise da carne das carcaça de frangos, bem como a existência de um Plano Nacional de Colheita de Amostras, pela ASAE, que permita anualmente uma recolha sistemática de carcaças de frango processadas industrialmente, antes da sua distribuição comercial, bem como de frangos após a desmancha.

Considerando a informação divulgada pela EFSA, a nível nacional devia ser realizada a identificação dos serotipos de *Salmonella* isolados a partir das amostras positivas em carne de aves e efetuar-se um cruzamento com a informação disponível no INSA sobre os serotipos de *Salmonella* isolados de doentes portugueses com sintomas de salmonelose, especialmente resultante do consumo de carne de aves. Deste modo seria possível verificar os serotipos de *Salmonella* com maior prevalência na carne de aves e as implicações a nível nacional na salmonelose humana.

O aprofundamento do conhecimento da prevalência de *Salmonella* na carne de aves e, de um modo geral, nos produtos de origem animal que se encontram a venda no mercado nacional, serão uma ferramenta determinante para a prevenção da saúde pública nacional e na UE.

BIBLIOGRAFIA

- ACMSF (1996). Report on Poultry Meat. London: HMSO. Acedido em Dezembro 27, 2014, disponível em: [http://books.google.pt/books?id=6vXcP1vWT7wC&pg=PA540&lpg=PA540&dq=ACMSF+\(1996\).+Report+on+Poultry+Meat.+London:+HMSO.&source=bl&ots=VpPWJqXai&sig=pA3mDnTDHo9nYMKNeuf9jlva xUU&hl=ptPT&sa=X&ei=ujA6VKvnDir1atjRgZgH&ved=0CCEQ6AEwAA#v=onepage&q=ACMSF%20\(1996\).%20Report%20on%20Poultry%20Meat.%20London%3A%20HMSO.&f=false](http://books.google.pt/books?id=6vXcP1vWT7wC&pg=PA540&lpg=PA540&dq=ACMSF+(1996).+Report+on+Poultry+Meat.+London:+HMSO.&source=bl&ots=VpPWJqXai&sig=pA3mDnTDHo9nYMKNeuf9jlva xUU&hl=ptPT&sa=X&ei=ujA6VKvnDir1atjRgZgH&ved=0CCEQ6AEwAA#v=onepage&q=ACMSF%20(1996).%20Report%20on%20Poultry%20Meat.%20London%3A%20HMSO.&f=false).
- Almeida, C.I., Gonçalves, P.M.R., Franco, R.M. & Carvalho, J.C.A.P (2000). Isolamento e identificação de *Salmonella* em carcaças de frango congelados e frescos, através de método rápido. *Higiene Alimentar*, 14 (70), 59-62.
- Almeida, E.S.F., Sigarini, C.O., Orges, N.F., Delmondes, E.C., Ozaki, A.S. & Souza, L. C. (2003). Pesquisa de *Salmonella* spp em carcaças de frango (*Gallus gallus*), comercializadas em feira livre ou em supermercado no município de Cuiabá, MT, Brasil. *Higiene Alimentar*, 17 (110), 74-79.
- Andrews, J. (2013). Gut Bacteria on 97 Percent of Retail Chicken Breasts. Report on Food Safety News. Acedido em Setembro 24, 2014, disponível em: <http://www.foodsafetynews.com/2013/12/consumer-reports-gut-bacteria-on-97-percent-of-retail-chicken/#.VCewVfldVgi>.
- AVEC (2013). Annual Report: Association of Poultry Processors and Poultry Trade in the EU Countries. Acedido em Julho 10, 2013, disponível em: http://www.avec-poultry.eu/system/files/archive/newstructure/publications/annual_reports/AVEC%202013%20-%20FINAL_0.pdf.
- Baré, J., Sabbe, K., Wichelen, J.V., Van Gremberghe, I., D'hondt, S. & Houf, K. (2009). Diversity and habitat specificity of free-living protozoa in commercial poultry houses. *Applied and Environmental Microbiology*, 75 (5), 1417- 1426.
- Gomes, B. C., Franco, B. D. G. M. & De Martinis, E. C. P. (2013). Microbiological Food Safety Issues in Brazil: Bacterial Pathogens. *Foodborne Pathogens and Disease*. 197- 205.
- Borsoi, A. (2005). Ocorrência, contagem e resistência antimicrobiana de *Salmonella* isoladas de carcaças de frangos resfriadas e pesquisa de *Salmonella* em galpões de frangos de corte. Acedido Setembro 29, 2014, disponível em: <http://hdl.handle.net/10183/5793>.

- Carvalho, A.C.F.B. & Cortez, A.L.L. (2005). *Salmonella* spp. em carcaças, carne mecanicamente separada, linguiças e cortes comerciais de frango. *Ciência Rural*, 35 (6), 1465-1468.
- Cason, J.A., Buhr, R.J., Richardson, L.J. & Cox, N.A. (2007). Internal and external carriage of inoculated *Salmonella* in broiler chickens. *Poultry Science Journal*, 6, 952-954.
- Cason, J.A., Hinton, A. Jr. (2006). Coliforms, *Escherichia coli*, *Campylobacter*, and *Salmonella* in a Counterflow Poultry Scalding Tank with a Dip Tank. *Journal of Poultry Science* 5 (9): 846-849.
- Codex Alimentarius* (2001). Principles and Guidelines for the Conduct of Microbiological Risk Assessment. Food Hygiene Basic. Texts, 2nd Edition. *Codex Alimentarius*.
- Corry, J.E., Allen, V.M., Hudson W.R., Breslin, M.F. & Davies, R.H. (2002). Sources of *Salmonella* on broiler carcasses during transportation and processing: Modes of contamination and methods of control. *Journal of Applied Microbiology*. 93, 593-598.
- Costa, P.M. (2008). Biossegurança em explorações pecuárias: a perspectiva avícola. *Ordem dos Médicos Veterinários*, 50, 26-31.
- Cox, J.M. & Pavic A. (2009). Advances in enteropathogen control in poultry production. *Journal of Applied Microbiology*, 108 (3), 745-755.
- Davies, P. R., Scott, H.H., Funk, J.A., Fedorka-Cray, P.J. & Frank T. J. (2004). The Role of Contaminated Feed in the Epidemiology and Control of *Salmonella enterica* in Pork Production. *Foodborne Pathogens and Disease*, 1(4): 202-215.
- Decreto-Lei n.º 69/96. Diário da República, I Série- A N.º 127 de 31 de Maio de 1996, Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas.
- Decreto-Lei n.º 306/2007, Diário da República, I Série de 27 de Agosto de 2007. Regime da qualidade da água destinada ao consumo humano.

- Diakos, A. & Borges, M. (2011). Prevalência de *Salmonella* nos produtos de origem animal no retalho em Portugal, no âmbito do controlo oficial. *Revista Riscos e Alimentos - Alimentos de origem animal. 1*: 10-16. ASAE. Acedido Setembro 29, 2014, disponível em: <http://www.asae.pt/>.
- DG AGRI - CE (2002). Prosseguir o sucesso da fileira avícola: aprender com a investigação e a prática. *Revista Aves e Ovos*, 229 (29), 20-26.
- DGV (2005). Biossegurança nas explorações avícolas. *Aves e Ovos*, 181, 28-31.
- DGV (2009). *Carne de aves*. Acedido Dezembro 26, 2013, disponível em: agricultura.pt/portal/page/portal/MADRP/PT/gripe_das_aves/recom_tecn_plan_vigilanc/folhetos/COMSUMCARNEAVES.pdf.
- DGV (2014). Programa nacional de controlo de salmonelas. Acedido em Dezembro 26, 2013, disponível em: <http://www.dgv.minagricultura.pt/portal/page/portal/DGV/genericos?generico=427819&cboui=427819>.
- DGS (2010). Doenças de Declaração Obrigatória 2004-2008. Ministério da Saúde. Governo de Portugal.
- Doyle, M.P., Beuchat, L.R. & Montville, T.J. (2007) *Food Microbiology, fundamentals and frontiers*. 3rd edition, ASM Press, Washington, D.C.
- EFSA (2005). Scientific Report of the Scientific Panel on Biological Hazards on the request from the Commission related to *Campylobacter* in animals and foodstuffs. Acedido em Março 01, 2013, disponível em: <http://www.efsa.eu.int>.
- EFSA (2007). Report of the task force on zoonoses data collection on the analysis of the baseline survey on the prevalence of *Salmonella* in broiler flocks of *Gallus gallus* in the EU, 2005-2006. *EFSA Journal*, 98, 1-85.
- EFSA (2008). Scientific Opinion of the Panel on Biological Hazards (BIOHAZ Panel) on a request from EFSA on Overview of methods for source attribution for human illness from food borne microbiological hazards. *The EFSA Journal*, 764, 1-43.

- EFSA (2009). Community Summary Report: Trends and Sources of Zoonoses and Zoonotic agents in the European Union in 2007. *The EFSA Journal*, 223, 109-133.
- EFSA (2010). Analysis of the baseline survey on the prevalence of *Campylobacter* in broiler batches and of *Campylobacter* and *Salmonella* on broiler carcasses in the EU, 2008, Part A: *Campylobacter* and *Salmonella* prevalence estimates. *The EFSA Journal*, 8 (3), 1503.
- EFSA (2011). The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2009. *The EFSA Journal*, 9 (3): 2090. Acedido em Setembro 19, disponível em: www.efsa.europa.eu/efsajournal
- EFSA (2012). Scientific opinion on the public health hazards to be covered by inspection of meat (poultry). *The EFSA Journal* 10 (6): 2741. Acedido em Setembro 25, 2014, disponível em: www.efsa.europa.eu/efsajournal.
- EFSA & ECDC (2012). The European Union Summary Report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2010. *The EFSA Journal*, 10 (3): 2598.
- FAO/WHO (2002). Risk Assessments of Salmonella in eggs and broiler chickens. Food and Agriculture Organization/World Health Organization, Geneva, Switzerland. Acedido Setembro 25, 2014, disponível: <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/005/y4392e/y4392e00.pdf>.
- FSANZ (2013). *Agents of Foodborne Illness*. (2^a ed.), Food Standards Australia, New Zealand, Canberra. Acedido em Setembro. 25, 2013, disponível em: www.foodstandards.gov.au.
- Fuzihara, T., Fernandes, A. & Franco, B. (2000). Prevalence and dissemination of *Salmonella* serotypes along the slaughtering process in Brazilian small poultry slaughterhouses. *Journal of Food Protection*, 563, 1749-1753.
- Gomes, B. C., Franco, B. D. G. M. & De Martinis, E. C. P. (2013). Microbiological Food Safety Issues in Brazil: Bacterial Pathogens. *Foodborne Pathogens and Disease*, 10, 197- 205.

- Göksoy, E., Kirkan, S. & KöK, F. (2004). Microbiological quality of broiler carcasses during processing in two slaughterhouses in Turkey. *Poultry Science*, 83, 1427-1432.
- Hugas M. & Beloeil, P.A.(2014) Controlling Salmonella along the food chain in the European Union - progress over the last ten years. *Eurosurveillance*, 19, 19 Acedido Setembro. 25, 2014, disponível em: pii=20804.Available online: <http://www.eurosurveillance.org/>.
- Hulánková ,R., Bořilová G. & Steinhauserová, I. (2010). Influence of Modified Atmosphere Packaging on the Survival of *Salmonella* Enteritidis PT 8 on the Surface of Chilled Chicken Legs. *Acta Veterinaria Brno*, 79, 127-132. Acedido em Outubro 25, 2014, disponível em http://actavet.vfu.cz/79/9/0127/same_authors/.
- ICMSF (2005). Microorganisms in Foods 6: Microbial Ecology of Food Commodities. Blackie Academic & Professional.
- INE (2006). Balança Alimentar Portuguesa - 1990-2003. *Destaque*, 14 de Dezembro. Acedido Setembro 19, 2014, disponível em: www.ine.pt
- INE (2010). Balança Alimentar Portuguesa - 2003-2008. *Destaque*, 30 de Novembro. Acedido Setembro 19, 2014, disponível em: www.ine.pt
- INE (2014a). Estatísticas Agrícolas 2013. Instituto Nacional de Estatística, I.P. Acedido Setembro 19, 2014, disponível em: www.ine.pt
- INE (2014b). Balança Alimentar Portuguesa - 2008-2012. *Destaque*, 4 de Abril. Acedido Setembro 19, 2014, disponível em: www.ine.pt
- INSA (2010). Tabela da Composição de Alimentos. Acedido Setembro 26, 2014, disponível em: www.insa.pt.
- ISO 6579 (2002). *Microbiology of food and animal feeding stuffs Horizontal method for the detection of Salmonella spp.*. International Standard Organization. Geneva.
- ISO 18593 (2004). *Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal methods for sampling techniques from surfaces using contact plates and swabs.* International Standard Organization. Geneva.

- Jay, J. M (2000). *Modern food microbiology*. (6^a Ed.). Aspen Publishers, Inc. Gaithersburg, MD.
- Lake, R., Hudson, A. & Cressey, P. (2004). Risk profile: *Salmonella* (non-typhoid) in poultry (whole and pieces). New Zealand Food Safety Authority, Christchurch, New Zealand. Acedido Setembro 26, 2014, disponível em: http://www.foodsafety.govt.nz/elibrary/industry/Rik_Profile_Salmonella_Typhoidal-Science_Research.pdf.
- McCabe-Sellers, B.J. & Beattie, S.E. (2004). Food Safety Emerging Trends in Foodborne Illness Surveillance and Prevention. *Journal of the American Dietetic Association*, 104 (11), 1708-1717.
- Mead G., Lammerding, A.M, Cox, N., Doyle, M.P., Humbert, F., Kulikovskiy, A., Panin, A., Nascimento, V.P. & Wierup M. (2010). Scientific and technical factors affecting the setting of *Salmonella* criteria for raw poultry: a global perspective. *Journal of Food Protection*, 73 (8), 1566-1590.
- Moreno, B. (2006). Higiene e Inspección de Carnes I. Espanha: Ediciones Díaz de Santos.
- Nde, C. W., McEvoy, J. M., Sherwood, J. S. & Logue, C. M. (2007). Cross contamination of turkey carcasses by *Salmonella* species during defeathering. *Poultry Science*, 86, 162-167.
- Neto, C.C., Assaff Filho, J.M. & Nunes, L.A. (2005). Biossegurança - Roedores. Acedido em Dezembro 26, 2013, disponível em: http://www.aviculturaindustrial.com.br/site/dinamica.asp?id=1586&tipo_tabela=cet&categoria=manejo.
- Nycha, G.J.E. & Tassou, C.C. (1996). Growth/survival of *Salmonella enteritidis* on fresh poultry and fish stored under vacuum or modified atmosphere. *Journal of Applied Microbiology*, 23 (2), 115-119.
- OECD/FAO (2012), OECD-FAO Agricultural Outlook 2012-2021, OECD Publishing and FAO. Acedido em Dezembro 26, 2013, disponível em: http://dx.doi.org/10.1787/agr_outlook-2012-en.

Pires, S.M., Evers, E.G., Van Pelt, W., Ayers, T., Scallan, E., Angulo, F.J., Havelaar, A. & Hald, T. (2009). Attributing the human disease burden of foodborne infections to specific sources. *Foodborne Pathogens and Disease*, 4 (6), 417-424.

Portaria N° 206/96 de 7 de Junho.

Regulamento (CE) N.º 2160/2003 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 17 de Novembro, relativo ao controlo de *salmonelas* e outros agentes zoonóticos específicos de origem alimentar.

Regulamento (CE) N.º 178/2002 do Parlamento Europeu e do Conselho de 28 de Janeiro que determina os princípios e normas gerais da legislação alimentar, cria a Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos e estabelece procedimentos em matéria de segurança dos géneros alimentícios.

Regulamento (CE) N.º 853/2004 do Parlamento Europeu e do Conselho de 29 de Abril que estabelece regras específicas de higiene aplicáveis aos géneros alimentícios de origem animal.

Regulamento (CE) N.º 854/2004 do Parlamento Europeu e do Conselho de 29 de Abril que estabelece regras específicas de organização dos controlos oficiais de produtos de origem animal destinados ao consumo humano.

Regulamento (CE) N.º 882/2004 do Parlamento Europeu e do Conselho de 29 de Abril relativo aos controlos oficiais realizados para assegurar a verificação do cumprimento da legislação relativa aos alimentos para animais e aos géneros alimentícios e das normas relativas à saúde e ao bem-estar dos animais.

Regulamento (CE) N.º 2073/2005 da Comissão de 15 de Novembro de 2005 relativo a critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios.

Regulamento (CE) N.º 1441/2007 da Comissão 5 de Dezembro, Jornal Oficial da União Europeia L 322.

Regulamento (CE) N.º 365/2010 da Comissão de 28 de Abril que altera o Regulamento (CE) N.º 2073/2005 relativo aos critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios no que diz respeito a *Enterobacteriaceae* no leite pasteurizado e noutros produtos lácteos líquidos pasteurizados e a *Listeria monocytogenes* no sal alimentar.

- Reiter, M. G. R., Fiorese, M. L., Moretto, G., López, M. C. & Jordano, R. (2007). Prevalence of *Salmonella* in a poultry slaughterhouse. *Journal of Food Protection*, 70, 1723-1725.
- Rezende, C.S.M., Mesquita, A.J., Andrade, M.A., Linhares, G.F.C., Mesquita, A.Q. & Minafra, C.S. (2005). C.S. Sorovares de *Salmonella* isolados de carcaças de frangos de corte abatidos no Estado de Goiás, Brasil, e perfil de resistência a antimicrobianos. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, 100, 199-203.
- Rocha, D. (2006). Ambiente em foco: consumo de carne de frango já supera o de carne bovina. Acedido em Junho 28, 2014, disponível em: <http://www.ambienteemfoco.co.br>.
- Rodrigues C., Figueiredo A.L.P., Lavor, C.T.B. & Ramalho, M. H. N. (2011). Salmonellosis: Factors involved in the process of diagnosis and importance to public health. *Ciência Animal* 21 (1), 54-64.
- Russell, SM (2008). The Effect of an Acidic, Copper Sulfate-Based Commercial Sanitizer on Indicator, Pathogenic, and Spoilage Bacteria Associated with Broiler Chicken Carcasses When Applied at Various Intervention Points During Poultry Processing. *Poultry Science*, 87, (7), 1435-1440.
- Silveira L, Marques A, Machado J.(2012). Infecções por *Salmonella enterica* no período entre 2000-2012. *Boletim Epidemiológico*, 2 (Supl 1), 14-16.
- Silveira L, Marques A, Machado J.(2013). *Salmonella enterica*: serotipos menos frequentes com importância em patologia humana, caracterizados no INSA entre 202 e 2013. *Boletim Epidemiológico*; 2 (Supl 1):14-16.
- Silveira L, Marques A, Santos, J., Furtado, C., Machado J. (2014). *Salmonella enterica*: serotipos menos frequentes com importância em patologia humana, caracterizados no INSA entre 2000-2014. *Boletim Epidemiológico*, 3 (especial), 44-47.
- Slader, J., Dominique, G., Jorgensen, F., McAlpine, K., Owen, R.J., Bolton, F.J. & Humphrey, T.J. (2002). Impact of transport crate reuse and of catching and processing on *Campylobacter* and *Salmonella* contamination of broiler chickens. *Applied of Environmental Microbiology*, 68, 713-719.
- Smith, D. P. & Berrang, M. E. (2006). Prevalence and numbers of bacteria in broiler crop and gizzard contents. *Poultry Science*, 85, (1),144-147.

- Teixeira, P.; Valle, S. (1996). *Biossegurança: uma abordagem multidisciplinar*. Rio de Janeiro: Acedido em Setembro. 26, 2014, disponível em: http://www.google.pt/books?hl=pt-PT&lr=&id=Jc57AwwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PT10&dq=Teixeira,+P.%3B+Valle,+S.+Biosseguran%C3%A7a:+uma+abordagem+multidisciplinar.+Rio+de+Janeiro:+Ed.+FIOCRUZ,+1996.&ots=wkkr1zmmc&sig=KrIcnwvYkOkzDOJJB-OBVu61zS8&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false
- Tessari, E.N.C., Cardoso, A.L.S.P., Castro, A.G.M. & Zanatha, G.F. (2003). Prevalência de *Salmonella enteritidis* em carcaças de frango industrialmente processadas. *Ciência Rural*, 107, 52-55.
- Tessari, E.N.C., Sicchiroli, A.L., Cardoso, P., Kanashiro, A.M.I., Stoppa, G.F.Z., Luciano, R.L. & Castro, A.G.M. (2008). Ocorrência de *Salmonella* spp. em carcaças de frangos industrialmente processadas, procedentes de explorações industrial do Estado de São Paulo. *Ciência Rural*, 38 (9), 2557-2560.
- Van Immerseel, F., De Zutter, L., Houf, K., Pasmans, F., Haesebrouck, F. & Ducatelle, R. (2009). Strategies to control *Salmonella* in the broiler production chain. *Worlds Poultry Science Journal*, 65 (3), 367- 391.
- Velmurugu Ravindran (2014). Poultry feed availability and nutrition in developing countries Main ingredients used in poultry feed formulations. Acedido em Setembro. 26, 2014, disponível em: <http://www.fao.org/docrep/013/al705e/al705e00.pdf>.
- Venturini, K.S., Sarcinelli, M.F. & Silva, L.C. (2007). Características da carne de frango. Acedido em Setembro 20, 2014, disponível em: http://www.agais.com/telomc/b01307_caracteristicas_carnefrango.pdf.

Anexo I – Ficha técnica B22-50, Coopbox Hispania S.L.U, Espanha

COOPBOX HISPANIA S.L.U.	FICHA TECNICA COMERCIAL	Revisión N°: 1
		Fecha: 03-11-06
REGISTRO 0216M19407		
Bandeja barrera constituida en tres laminas: lamina exterior en Poliestireno expandido (EPS), lamina central en HIPS, y film barrera con capa en PE en el interior, mas una servilleta absorbente ABS.		

Código Artículo	Descripción Artículo			Confección	Código
	Modelo	Color	Tipología	Unid/Paq	EAN-13
CX2250BB	B22-50	Blanco	Aerpack+ABS	300	8435163470254

Datos Bandeja			Toler.		
A - Largo Exterior	250	mm	+ 0,2mm		
B - Ancho Exterior	180	mm			
a - Largo Util Interior	190	mm			
b - Ancho Util Interior	120	mm			
H - Altura	50	mm			
Peso Mínimo	13,5±2		Peso Máximo	14,9±2	gr

Datos Paquete			
N° Filas/Paquete	6		Unid
N° Bandejas/Fila	51		Unid
N° Real Bandejas/Paquete	306		Unid
Dimensiones Paquete	Alto	Ancho	Largo
	36,0	76,0	95,0
			cm
Volumen Paquete	0,260		m³

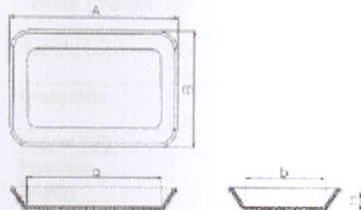
El producto aqui especificado ha sido fabricado por COOPBOX HISPANIA S.L.U., y esta identificado con la marca cxi

NUMERO DE REGISTRO SANITARIO 39/02275/MU



COOPBOX HISPANIA S.L.U.

Certificada por AENOR según Norma UNE-EN ISO 9001:2000
Para: El diseño y la producción de envases y embalajes de poliestireno expandido destinados al envasado de alimentos.
Numero de registro: ER-0058/1999



Cada saco es identificado con una etiqueta para la identificación del producto y lote de fabricación.
(Esta etiqueta será imprescindible para cualquier reclamación).

Nuestros productos cumplen la legislación nacional y comunitaria sobre plásticos en contacto con alimentos, en todos sus apartados.
Están envasados y envasados atendiendo a las especificaciones de la reglamentación técnica sanitaria.



Bandejas aptas para entrar en contacto con alimentos.
Las sustancias empleadas en su fabricación están incluidas en la lista positiva de sustancias de partida autorizadas para utilizarse en la fabricación de materiales y objetos plásticos.



Bandejas fabricadas con: Poliestireno cristal.
Sin recuperado procedente del exterior de nuestras instalaciones y sin CTC o HCTC.
Recicla: Nuestros productos son fácilmente reciclables.

Esta información técnica se ofrece como guía para el usuario, pero sin que sirva de garantía.
El usuario deberá comprobar si el producto es adecuado para su proceso y aplicación.

COOPBOX HISPANIA S.L.U. - POLIG. IND. SAPIRELORCA - BUZON Nº91 - AVDA. RIO GUADALENTIN - PARCELAS C13 A C17 - 20017 - LORCA (MURCIA)
TEL: 068 478 900 FAX: 068 478 901 CIF: B 77412105



Anexo II- Ficha técnica filme retráctil Toplex HB SP Shrink, Plastopil e de selagem Toplex HB, Plastopil

Plastopil
The strength of flexibility

DATA SHEET

Toplex HB SP Shrink

High Barrier shrinkable lidding film

Special features

- Controlled low-force shrinkage
- Lock seals to PE
- Excellent anti-fog properties
- High tear strength for ease of processing

Property	ASTM	Values	Units
Thickness		47 (1.88)	μ (mil)
Yield		46.6 (32.8)	m^2/Kg (msi/Lb)
Tensile Strength	MD D-882	50 (7250)	N/mm^2 (psi)
	TD	35 (5075)	N/mm^2 (psi)
Tensile Load	MD D-882	59	N
	TD	65	N
Elongation	TD D-882	100	%
	TD	80	%
Impact F50	D-1709	450	g
Puncture	Plastopil		
Energy	Method	100	N/mm
Haze	D-1003	9	%
Clarity	D-1746	90	%
C.O.F	in-in D-1894	0.8-0.7	
Static-Dynamic	out-out		
OTR (Oxygen)	D-3985		
23°C (73°F), dry		3 (0.19)	$cc/m^2/day$ ($cc/100\text{ in}^2/day$)
WVTR (water vapour)	E-96		
38°C (100°F), 90% rh		9.5 (0.61)	$g/m^2/day$ ($g/100\text{ in}^2/day$)
Shrink	MD	30	%
125°C	TD	30	%

Film complies with FDA, CFIA & EC relevant regulations – food grade film
Recommended storage conditions: 15°C-25°C (55°F-77°F) in dry place, away from direct sunlight.
Can be used at least up to 1 year from receipt of film, if stored as recommended

Typical values, not specification limits.
Plastopil assumes no liability for use of this data

Update: 01/2006 code: 9504/047

Plastopil Nazorea Company Ltd
Nazorea 30960-0001 | Tel: 511-4-950200 | Fax: 511-4-950201
E-mail: sales@plastopil.com | www.plastopil.com



Toplex HB 44

High Barrier lidding film for trays

Special features

- Lock seals to PE and PP sealing layers
- Superior hot-tack
- Excellent sealing through product residue
- Excellent anti-log properties
- Outstanding clarity and gloss

Property	ASTM	Values	Units
Thickness		44 (1.76)	μ (mil)
Yield		21.1 (14.8)	m^2/Kg (msi/Lb)
Tensile Strength	MD D-882	60 (8700)	N/mm^2 (psi)
	TD	60 (8700)	N/mm^2 (psi)
Tensile Load	TD	66	N
	TD	66	N
Elongation	MD D-882	100	%
	TD	90	%
Impact F50	D-1709	400	g
Puncture Energy	Plastopil Method	140	N/mm
Haze	D-1003	6	%
Clarity	D-1746	95	%
C.O.F	in-in D-1894	> 1	
Static-Dynamic	out-out		
OTR (Oxygen) 23°C (73°F), dry	D-3985	3 (0.19)	$cc/m^2/day$ ($cc/100\text{ in}^2/day$)
WVTR (water vapour) 38°C (100°F), 90% rh	E-96	12 (0.77)	$g/m^2/day$ ($g/100\text{ in}^2/day$)

Film complies with FDA, CFIA & EC relevant regulations – food grade film.
Recommended storage conditions: 15°C-25°C (55°F-77°F) in dry place, away from direct sunlight.
Can be used at least up to 1 year from receipt of film, if stored as recommended.
Typical values, not specification limits.
Plastopil assumes no liability for use of this data.

Update: 01/2006 code: 3600/044

Plastopil Hazoresa Company Ltd
Hazoresa 30060 Israel | Tel: 972-4-9596000 | Fax: 972-4-9596120
E-mail: sales@plastopil.com | www.plastopil.com



Anexo III – Ficha técnica do gás Extendapak – 43”, Praxair

ESPECIFICAÇÕES DE PRODUTO



Código: GEX43
Nº ONU: 3166
Ficha de Segurança de Produto Nº: 301-19-01A
Rev. EDP: 01
Data: 28/08/2007

Extendapak-43

CORES DE IDENTIFICAÇÃO DO VASILHAME:

CORPO	Preto
FRANJA	
OGIVA	Preto-Branco, Cinza-Branco
TIPO DE VALVULA	G

CARACTERÍSTICAS DO PRODUTO	ESPECIFICAÇÕES GARANTIDAS
CO2 20% Azoto 10% Oxigénio 70%	19 - 21 % CO2 68 - 72 % O2 Sem cheiro








NOTAS: Mistura de CO2 alimentar E250, N2 alimentar E811 e O2 alimentar E948

EDPGC rev 01
ABAJE AVES

Importante: A informação contida neste documento foi preparada com base em processos que neste momento a Praxair Portugal Gases, S.A. controla e desenvolve, considerando os métodos analíticos empregues e as suas limitações. Esta informação deve ser utilizada exclusivamente por pessoal técnico qualificado, a seu juízo e risco.

Anexo IV- Plano de higienização

SALA DE DESMANCHA/ CORREDOR






Elementos	FREQUÊNCIA			SISTEMAS L + D UTILIZADOS
	Alcalino	Ácido	Desinfectante	
. Paredes . Tetos . Pavimentos . Máquinas . Outros	 D	 S	 D	Equipamento de baixa pressão
				
				PRODUTOS SUPERVIX A DESOCAL FOAM PRODESIN
INSTRUÇÕES DE L + D Diariamente <ol style="list-style-type: none"> Retirar todo o material que possa obstruir a limpeza. Varrer todos os restos sólidos e recolhê-los a seco com pá e balde. Enxaguar todas as superfícies com água a pressão para eliminar sujidade mais consistente. Aplicar o detergente alcalino SUPERVIX A por projecção de espuma sobre todas as superfícies a limpar. <ul style="list-style-type: none"> Concentração: 3%. Temperatura de aplicação: 40-50°C. Tempo de actuação: Mínimo 10 minutos. Após o período de actuação do detergente, enxaguar todas as superfícies espumadas com água potável a pressão, até eliminação completa do detergente Semanalmente <ol style="list-style-type: none"> Aplicar detergente ácido DESOCAL FOAM por projecção de espuma para desincrustar e dar brilho às superfícies de aço inoxidável. <ul style="list-style-type: none"> Concentração: 2% Temperatura de aplicação: 40-50°C Tempo de actuação: Mínimo 10 minutos Realizar um enxaguamento final, com água potável, sobre todas as superfícies espumada. Diariamente <ol style="list-style-type: none"> Aplicar por pulverização o desinfectante PRODESIN sobre todas as superfícies limpas. <ul style="list-style-type: none"> Concentração: 0,5%. Temperatura de aplicação: Ambiente. Tempo de actuação: Mínimo de 10 minutos. Após o período de actuação do desinfectante, enxaguar com água potável as superfícies desinfectadas. 				
MEDIDAS DE SEGURANÇA: <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;">    </div>				

LIMPEZA ALCALINA
 LIMPEZA ACIDA
 DESINFECÇÃO

lla

D: diário; S: semanal; M: mensal; T: trimestral; P: periódico; DCU: depois de cada utilização

HIGIENE PESSOAL

Elementos	FREQUÊNCIA	SISTEMAS L + D UTILIZADOS
	Neutro	
. Mãos . Duche	 Sempre que se considere necessário	Sistema Manual 
		PRODUTOS
		VITA BAC
INSTRUÇÕES DE L + D <u>Sempre que considere necessário:</u> 1. Sempre que necessário lavar as mãos e tomar banho com o detergente neutro VITA BAC aplicado puro mediante doseador. • Concentração: puro • Temperatura de aplicação: ambiente • Tempo de actuação: 1-2 minutos 1. Após lavadas as mãos, deve secá-las com papel de um só uso.		
MEDIDAS DE SEGURANÇA:   		

D: diário; S: semanal; M: mensal; T: trimestral; P: periódico DCU: depois de cada utilização

lla