

DETECÇÃO DE *Salmonella* spp. EM ÁGUA DE LAVAGEM DE CARÇAÇAS DE FRANGO UTILIZANDO O MÉTODO DE REACÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE (PCR)

Daiani Paulina Rissato

Graduada em Farmácia pela Faculdade Integrado de Campo Mourão - CIES. E-mail: daianipaulina@gmail.com

Ana Paula Borgo

Discente do Curso de Farmácia da Faculdade Integrado de Campo Mourão - CIES. E-mail: apb.borgo@gmail.com

João Paulo Moreira

Discente do Curso de Ciências Biológicas da Faculdade Integrado de Campo Mourão - CIES. E-mail: joaopaulomoreira@hotmail.com

Francielle Baptista

Docente Doutora do Departamento de Ciências Biológicas da Faculdade Integrado de Campo Mourão - CIES. E-mail: francielle.baptista@gmail.com

Ana Carolina Muller Conti

Docente Mestre do Departamento de Medicina Veterinária da Faculdade Integrado de Campo Mourão - CIES. E-mail: carol@grupointegrado.brp

Alessandra Braga Ribeiro

Docente Mestre do Departamento de Farmácia da Faculdade Integrado de Campo Mourão - CIES. E-mail: alessandra.braga@grupointegrado.br

RESUMO: A *Salmonella* spp. é considerada uma das bactérias mais importantes envolvidas em contaminações de alimentos a base de frango no mundo. Métodos microbiológicos tradicionais para detecção desta bactéria são muito trabalhosos e demandam um longo tempo de execução para obtenção de resultados. Vários métodos rápidos de detecção vêm sendo desenvolvidos nos últimos anos, porém, ainda são necessários adaptações para que estes métodos sejam utilizados com eficiência. O presente estudo teve como objetivo avaliar a detecção de *Salmonella* spp. utilizando-se a água de lavagem constituída de salina peptonada tamponada 1%, sem incubação e após incubação de 24 e 48 horas, por meio do método de PCR em carcaças de frango de quatro marcas diferentes comercializadas no município de Campo Mourão, Paraná. A análise foi capaz de detectar *Salmonella* spp. em carcaças de frango após incubação de 24 horas em apenas uma amostra das 30 pesquisadas. Após 48 horas de incubação, este resultado aumentou para positividade de 5 amostras. Os resultados alcançados demonstram que a detecção de *Salmonella* spp. em carcaças de frango por PCR foi mais eficiente quando a amostra foi submetida há uma etapa de pré-enriquecimento com incubação de 48 horas.

PALAVRAS-CHAVE: Carne de Frango; *Salmonella* spp.; Reação em Cadeia da Polimerase.

Salmonella spp. IN CHICKEN CARCASS WASHING WATER DETECTED BY POLYMERASE CHAIN REACTION

ABSTRACT: *Salmonella* spp. is one of the most important bacteria worldwide involved in the contamination of chicken-based food. Traditional microbiological methods for its detection are very laborious and time-consuming for obtaining results. Although several rapid detection methods have been developed recently, adjustments are still necessary for the efficient use of these methods. Current analysis evaluated the detection of *Salmonella* spp. using washing water, buffered saline peptone 1%, without incubation, and after a 24- and 48-hour incubation, by the PCR method in chicken carcasses from four different brands marketed in Campo Mourão PR Brazil. *Salmonella* spp. was detected in chicken carcasses after the 24-hour incubation in one out of 30 samples. After 48-hour incubation, 5 positive samples were detected. Results show that the detection of *Salmonella* spp. in chicken carcasses by PCR is more efficient when the sample underwent a pre-enrichment stage with 48-hour incubation.

KEYWORDS: Poultry; *Salmonella* spp.; Polymerase Chain Reaction.

INTRODUÇÃO

Nos últimos anos a avicultura brasileira se desenvolveu muito e constitui-se atualmente em uma atividade econômica de grande importância para o país. O cenário atual indica um crescimento dos produtos do complexo

avícola, tanto no consumo *per capita* brasileiro com aproximadamente 38 kg, como nas vendas para exportação com aproximadamente 3,6 milhões de toneladas por ano (BRASIL, 2009; ASSOCIAÇÃO DOS EXPORTADORES DE FRANGO, 2009). O Brasil ocupa atualmente a terceira posição em produção e primeira em exportação de carne de frango, sendo o estado do Paraná o maior produtor do país, com uma produção de 2,5 milhões de toneladas (BRASIL, 2009).

A carne de frango é utilizada como matéria-prima para a produção de diversos tipos de alimentos, devido à sua aquisição ser de baixo custo e possuir uma excelente qualidade nutricional. As vantagens do consumo deste produto são inúmeras, pois além de ser uma excelente fonte de proteínas de fácil digestão e alta qualidade biológica, apresenta um baixo teor de gorduras, compostas por ácidos graxos assimiláveis, ser rica em vitaminas, além de ser um produto de fácil aquisição e aceitável por todas as classes sociais (BOTTEZINI; CORSO; VEIT, 2005). Esta intensificação do consumo e da produção de carne de frango contribui para a produtividade e eficiência da indústria avícola. Porém, este fato tem como consequência o aumento do risco de disseminação de doenças causadas por bactérias presentes no produto e consequente necessidade de um maior controle de qualidade. Diante deste panorama, o mercado internacional exige um monitoramento sanitário dos plantéis avícolas, além do controle de qualidade da carne de frango e seus derivados e o mercado interno exige alto padrão de qualidade e segurança nos produtos fornecidos.

A *Salmonella* spp. é considerada por pesquisadores do mundo todo como um dos patógenos mais importantes envolvidos em contaminações de alimentos à base de frango, sendo este produto uma das principais fontes desta bactéria. Este microrganismo é de fundamental importância em saúde pública pelo fato de algumas cepas serem patogênicas ao ser humano e de representar um dos parâmetros de determinação dos padrões microbiológicos de reconhecimento mundial para alimentos (VON RÜCKERT, 2006).

Esta bactéria está amplamente distribuída na natureza, sendo o trato intestinal humano e de animais o principal reservatório natural (GERMANO; GERMANO, 2008). A salmonelose, uma das doenças causadas pela *Salmonella* spp., é considerada uma das zoonoses mais importantes e uma das principais doenças transmitidas por alimentos (DTAs) (POPOFF; LEMINOR, 2005; TAVECHIO, 2006).

No Brasil, dados epidemiológicos da ANVISA sobre surtos ocorridos entre os anos de 1999 a 2008, relataram 6.062 surtos de DTAs, provocando 117.330 doentes com 64 óbitos, sendo que na maior parte dos surtos, a bactéria responsável foi *Salmonella* spp. (BRASIL, 2008).

Entre os anos de 1999 a 2008, dos 399 municípios que compõe o estado do Paraná, 52 (13,0%) notificaram surtos de salmonelose. No ano de 1999 em estudo no norte do Paraná, *Salmonella* spp. foi isolada em 20,0% das carcaças de frango comercializadas em supermercados desta região (GASPARETTO et al., 2001). Em estudo realizado com 60 pequenos abatedouros do município de Mauá, SP foram relatados a ocorrência de 42% das amostras de carcaças de frango contaminadas por *Salmonella* spp. (FUZIHARA; FERNADES;

FRANCO, 2000). Em pesquisa neste mesmo estado com 140 amostras positivas para *Salmonella* spp, dos 12 tipos de alimentos pesquisados, a carne de frango "in natura" obteve maior número de isolados, 77,1% (LÍRIO et al., 1997).

Embora as salmoneloses ocorram com frequência em humanos, sua transmissão direta de pessoa a pessoa é muito rara, sendo a maioria das infecções associadas ao consumo de alimentos contaminados (TÉO; OLIVEIRA, 2005; DE SOUZA, 2008). Esta infecção está relacionada ao manuseio de carne de frango crua com outros produtos crus, juntamente com o consumo de carne de frango mal cozida, ocasionando a contaminação cruzada.

Os domicílios são os principais locais de ocorrência dos surtos (49,1%) seguidos das festas comunitárias (21,5%), refeitórios comerciais (20,9%), escolas (4,6%), refeitórios industriais (2,6%) e de hospitais (1,3%) (KOTTWITZ, 2009). Segundo Camargo (2001), no período de 1978 a 1999, no estado do Paraná, 52,1% dos surtos de DTAs ocorreram em domicílios.

Para que se possa evitar a ingestão da carne de frango contaminada, a detecção da presença de *Salmonella* spp. em alimentos antes da chegada ao consumidor é de extrema importância. Para o controle das contaminações por *Salmonella* spp. se faz necessário um diagnóstico rápido e preciso. Atualmente o método mais utilizado é o microbiológico convencional, sendo uma técnica demorada e trabalhosa, sendo necessário mais de cinco dias para a emissão de um resultado, dificultando o monitoramento da contaminação bacteriológica na cadeia produtiva do alimento, e ainda desfavorecendo a adoção de medidas emergenciais para conter a liberação de lotes que possam estar contaminados. A necessidade de métodos rápidos e menos laboriosos de detecção tem levado a avanços significativos no desenvolvimento de pesquisa nesta área. Dentre as possíveis metodologias a serem empregadas destaca-se o uso dos métodos moleculares, como a reação em cadeia pela polimerase (polymerase chain reaction - PCR). Este método é baseado na amplificação de uma sequência alvo de DNA específica e análise do produto de amplificação.

A técnica de PCR é considerada promissora para detecção e identificação rápida de bactérias em uma variedade de amostras (HASSAN; VERMA; QAZI, 2004). Estes testes têm obtido sucesso para detectar patógenos bacterianos transmitidos por alimentos, incluindo *Salmonella* (WAN et al., 2000). As principais vantagens são: aumento de sensibilidade e menor tempo requerido para processar as amostras no laboratório quando comparado ao método tradicional de cultivo (WHYTE et al., 2002), além de não depender da utilização de um substrato ou da expressão de antígenos, o que evita variações fenotípicas em padrões bioquímicos e falta de antígenos detectáveis (HOORFAR; BAGGENSEN; PORTING, 1999). Deste modo a PCR é uma técnica alternativa rápida, sensível e específica para detecção de patógenos, podendo ser utilizada como uma ferramenta em laboratórios de diagnóstico de surtos, como também em Controle de Qualidade de alimentos.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a detecção de *Salmonella* spp. utilizando a água de lavagem (solução salina peptonada 1%), sem incubação e após incubação de 24 e

48 horas, por meio do método de PCR em carcaças de frango de quatro marcas diferentes comercializadas no município de Campo Mourão, Paraná.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

As análises moleculares foram realizadas no Laboratório de Biologia Molecular da Faculdade Integrado de Campo Mourão. Foram coletadas 30 amostras de carcaças de frango resfriadas disponíveis em supermercados e açougues da cidade de Campo Mourão de quatro marcas diferentes. As amostras foram transportadas em sua própria embalagem comercial dentro de caixa isotérmica até o laboratório.

A técnica de PCR foi realizada com a água de lavagem das carcaças (solução salina peptonada 1%) sem incubação e com incubação após 24 e 48 horas. Para extração do DNA, foi utilizado 1 mL da água de lavagem. O método de extração utilizado para realização da análise foi o método de fenol-clorofórmio segundo Riffon e colaboradores (2001).

Foi utilizado oligonucleotídeos do gene *Inv A* (primers 141 e 159 - XX IDT® Integrated DNA Technologies, Coralville, Iowa, E.U.A), com volume total de 25 µL para cada reação, os quais continham 125 ng de DNA extraído, 5 µM de cada primer, 2,5 U da Taq DNA polimerase (Invitrogen®, Carlsbad, Califórnia, E.U.A), tampão de PCR 1X - 10 mM Tris-HCl, pH 8 e 50 mM KCl (Invitrogen®, Carlsbad, Califórnia, E.U.A), 1,5 mM de MgCl₂ (Invitrogen®, Carlsbad, Califórnia, E.U.A) e 400 µM de dNTP (Invitrogen®, Carlsbad, Califórnia, E.U.A). Esta reação de amplificação foi executada em termociclador (Biocycler, São Paulo, Brasil), com desnaturação inicial a 94°C por 5 minutos, seguida de 35 ciclos com: desnaturação a 94°C por 1 minuto, pareamento a 54°C por 30 segundos e amplificação a 72°C por 1 minuto; a extensão final foi a 72°C por 7 minutos (FLORES et al., 2001; RIFFON et al., 2001).

Após o processo de amplificação por PCR, foi submetido 8 µL de cada amplico à eletroforese em gel de agarose 3% (Invitrogen®, Carlsbad, Califórnia, E.U.A) em TBE 0.5X (25) o qual foi corado com 10 mg/mL de brometo de etídio (Invitrogen®, Carlsbad, Califórnia, E.U.A). Os fragmentos amplificados foram visualizados em transluminador (VILBER LOURMAT, TORCY, PARIS, FRANÇA), sendo considerado como *Salmonella* spp. os fragmentos com 284pb.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na pesquisa de *Salmonella* spp. em carcaças de frango resfriadas pela técnica de PCR, das 30 amostras analisadas 5 (16,7%) foram positivas para esta bactéria.

Em trabalho realizado por Von Rückert (2006), utilizando a técnica de PCR para detecção de *Salmonella* spp. em frangos durante o abate, o autor detectou 30,0% (27/90) de amostras contaminadas por esta bactéria. Em outro estudo publicado por Nierop e colaboradores (2005) analisando 99 amostras de carcaças de frango frescas e congeladas amostradas em açougues da África do Sul, obtiveram 19,2% de amostras positivas para *Salmonella* spp., sendo estes resultados superiores aos relatados nesta pesquisa. Em experimento realizado por

Gouveia (2008) analisando carne de frango naturalmente contaminada pelo método de PCR, não foi detectado nenhuma amostra positiva para *Salmonella* spp. das 31 analisadas.

Em relação à contaminação das quatro marcas pesquisadas (Tabela 1), a marca A apresentou uma amostra positiva para *Salmonella* spp. de sete amostras pesquisadas. As marcas B e D apresentaram duas amostras positivas nas amostras analisadas. Já na marca C, não foi detectado nenhuma amostra contaminada de oito amostras analisadas.

Tabela 1 Resultados da detecção de *Salmonella* spp. em relação às diferentes marcas

Marca	Número total de amostras	Amostras Positivas	
		n°	%
Marca A	7	1	3,33
Marca B	8	2	6,66
Marca C	8	0	0
Marca D	7	2	6,66
Total	30	5	16,66

Os resultados obtidos na pesquisa de *Salmonella* spp. de acordo com os diferentes tempos de incubação são mostrados na Tabela 2, onde observou-se que a sensibilidade da técnica de PCR utilizando a água de lavagem (água salina peptonada 1%) sem incubação foi de 0%. Após pré-enriquecimento, ou seja, incubação de 24 horas da água salina peptonada 1%, a sensibilidade foi de 3,3% (1/30). Quando realizada a análise após 48 horas de incubação da água de lavagem a sensibilidade aumentou para 16,7% (5/30).

Tabela 2 Resultados da detecção de *Salmonella* spp. em relação aos diferentes tempos de pré-enriquecimento em água salina peptonada 1%.

Amostras	Tempos de Incubação		
	Zero	24 horas	48 horas
N° de amostras positivas	0	1	5
N° de amostras negativas	30	29	25
Total	30	30	30

Em estudo conduzido por Myint e colaboradores (2006) observou-se que quando realizada a técnica de PCR sem pré-enriquecimento (sem incubação da água de lavagem), nenhuma amostra positiva foi detectada para *Salmonella* spp. em carne de frango naturalmente contaminada. Todavia, quando foi adotada a etapa de pré-enriquecimento com água peptonada 1% a 37°C, a sensibilidade da técnica aumentou para 79%. Em trabalho realizado por Croci e colaboradores (2004) os autores relataram melhor sensibilidade da PCR em amostras contaminadas artificialmente, após pré-enriquecimento em água peptonada tamponada de no mínimo 5 horas.

Em outra pesquisa realizada por Santos e colaboradores (2001), os autores observaram que resultados negativos foram obtidos quando as amostras de carne foram analisadas ime-

diatamente após a homogeneização da água peptonada 1% e após incubação de 6 e 8 horas a 37°C. Após 24 horas de incubação em água peptonada a 37°C, os autores obtiveram resultados positivos. Os resultados expostos pelos autores citados acima corroboram com os resultados obtidos por este estudo.

Stone e colaboradores (1995) indicaram que a inclusão da etapa de pré-enriquecimento apresenta vantagens para extração direta do DNA, pois os caldos de enriquecimento são baratos, em comparação aos demais reagentes utilizados, requerem pouca manipulação, diluem substâncias que podem inibir a PCR e aumentam o número de células bacterianas viáveis.

Os protocolos utilizados para detecção de *Salmonella* spp. em carne de frango pela técnica de PCR são muitos numerosos e vastos, porém, existe um ponto em comum entre eles: todos os métodos falham na detecção de bactérias em diferentes amostras, se estas não forem submetidas, no mínimo à etapa de pré-enriquecimento em meios de cultura (MYINT et al., 2006; MANDRELL; WACHTEL, 1999).

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados alcançados demonstram que a detecção de *Salmonella* spp. em carcaças de frango por PCR é efetiva quando a amostra é submetida há uma etapa de pré-enriquecimento com incubação de, no mínimo, 24 horas. Desta forma, recomenda-se a utilização desta técnica para detecção de *Salmonella* spp em amostras de carcaças de frango.

AGRADECIMENTOS: Gostaríamos de agradecer à empresa Biosystems Ltda. pela doação dos reagentes utilizados na técnica de PCR.

REFERÊNCIAS

ASSOCIAÇÃO DOS EXPORTADORES DE FRANGO - ABEF. 2009. Disponível em:<<http://www.abef.com.br>>. Acesso em: 29 Ago. 2009.

BOTTEZINI, I. M. P.; CORSO, M. P.; VEIT, V. M. O uso de antibióticos na produção de frangos. Disponível em:<http://www.dipemar.com.br/carne/309/materia_artec_carne.htm>. Acesso em: 12 Jan. 2010.

BRASIL. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE. **Estatística da Produção Pecuária. Indicadores.** 2009. Disponível em:<www.ibge.gov.br>. Acesso 12 Jul. 2009.

BRASIL. Secretaria de Vigilância em Saúde. Coordenação de Vigilância das Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar. **Análise Epidemiológica de Surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos no Brasil.** 2008. Disponível em:<<http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/DTA.pdf>>. Acesso em: 30 Ago. 2009.

CAMARGO, N. J. Avaliação dos surtos de toxinfecção alimentar - Paraná - 1978 a 1999. In: SILVA JR, E. A. **Manual**

de controle higiênico-sanitário em alimentos. 4. ed. São Paulo, SP: Livraria Varela, 2001. p. 357-365.

CROCI, L. et al. Comparison of PCR, Electrochemical Enzyme-linked Immunosorbent Assays, and the standard culture method for detecting *Salmonella* in meat products. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 70, n. 3, p. 1393-1396, 2004.

DE SOUZA, R. B. **Perfil de Suscetibilidade Antimicrobiana e Avaliação Molecular da Resistência à Quinolonas de cepas de *Salmonella* epidêmicas e de origem avícola isoladas entre 1999 e 2006 no Estado do Paraná.** Brasil. 2008. 86p. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Universidade Estadual de Londrina, 2003.

FLORES, M. L. et al. Métodos de extração de DNA para a detecção de *Salmonella* em ovos de galinhas, com e sem casca, através da reação em cadeia pela polimerase. **Ciência Rural**, v. 31, n. 2, p. 315-318, 2001.

FUZHARA, T. O.; FERNANDES, A. F.; FRANCO, B. D. G. M. Prevalence and dissemination of *Salmonella* serotypes along the slaughtering process in Brazilian small poultry slaughterhouses. **Journal of Food Protection**, v. 63, p. 1749-1753, 2000.

GASPARETTO, K. M. P. O. et al. Sorotipos de *Salmonella* isolados de carcaças de frango e avaliação da suscetibilidade a antimicrobianos. **Revista de Ciências Farmacêuticas**, v. 22, n. 2, p. 185-199, 2001.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO M. I. S. **Higiene e Vigilância Sanitária de Alimentos.** 3. ed. rev. e ampl. São Paulo, SP: Manole, 2008.

GOUVEIA, R. **Comparação entre isolamento bacteriológico convencional e PCR na detecção de *Salmonella* spp. em amostras de carne de frango artificialmente contaminadas e de campo.** 2008. 54f. Tese (Mestrado em Higiene Veterinária e Processamento tecnológico de Produtos de Origem Animal) - Universidade Federal Fluminense, Niterói, Rio de Janeiro, 2008.

HASSAN, S. R. U.; VERMA, V.; QAZI, G. N. Rapid detection of *Salmonella* by polymerase chain reaction. **Molecular and Cellular Probes**, v. 18, p. 333-339, 2004.

HOORFAR, J.; BAGGENSEN, D. L.; PORTING, P. H. A PCR-based strategy for simple and rapid identification of rough presumptive *Salmonella* isolates. **Journal of Microbiological Methods**, v. 35, p. 7-84, 1999.

KOTTWITZ, L. B. M. ***Salmonella* spp.: Avaliação epidemiológica de surtos notificados no Paraná e caracterização de isolados epidêmicos e de origem avícola.** 2009. 124f. Tese (Doutorado em Ciências de Alimentos) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2009.

- LÍRIO, V. S. et al. Frequência de 17 sorotipos de *Salmonella* isolados de alimentos. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 12, n. 55, p. 36-42, 1997.
- MANDRELL, R. E.; WACHTEL, M. R. Novel detection techniques for human pathogens that contaminate poultry. **Current Opinion on Biotechnology**, n. 10, p. 273-278, 1999.
- MYINT, M. S. et al. The effect of pre-enrichment protocol on the sensitivity and specificity of PCR for detection of naturally contaminated *Salmonella* in raw poultry compared to conventional culture. **Food Microbiology**, v. 23, p. 599-604, 2006.
- NIEROP, W. et al. Contamination of chicken carcass in Gauteng, South Africa, by *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* and *Campylobacter*. **Int. Journal Food Microbiology**, v. 99, n. 1-6, 2005.
- POPOFF, M. Y.; LE MINOR, L. E.. The genus *Salmonella*. In: BRENNER, D. J.; KRIEG, N. R.; STALEY, J. T. (Eds). **Bergey's manual of systematic bacteriology**. 2. ed. New York: Springer, 2005. p. 764-799.
- RIFFON, R. et al. Development of a Rapid and Sensitive Test for Identification of Major Pathogens in Bovine Mastitis by PCR. **Journal Clinical of Microbiology**, v. 39, p. 2584-2589, 2001.
- SANTOS, L. R. et al. Polymerase chain reaction (PCR) for the detection of *Salmonella* in artificially inoculated chicken meat. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 43, n. 5, p. 247-250, 2001.
- STONE, G. G. et al. Detection of *Salmonella typhimurium* from rectal swabs of experimentally infected beagles by short cultivation and PCR-hybridization. **Journal clinical of Microbiology**, v. 33, p. 1292-1295, 1995.
- TAVECHIO, A. T. **Comparação fenotípica e genotípica entre cepas de *Salmonella enterica* subsp. *enterica* sorotipo 1,4,[5],12:i:- e de *Salmonella* Typhimurium**. 2006. 114f. Tese (Doutorado em Ciências) - Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo, São Paulo, 2006.
- TÉO, C. R. P. A., OLIVEIRA, T. C. R. M., *Salmonella* spp.: The egg as vehicle of transmission and the implications of resistance for public health. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 26, n. 2, p. 195-210, 2005.
- VON RÜCKERT, D. A. S. **Comparação dos métodos microbiológico convencional, imunoanálise e reação da polimerase em cadeia (PCR) no monitoramento de *Salmonella* sp. em frangos durante o abate**. 2006. 62f. Doutorado (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, 2006.
- WAN, J. et al. Probable PCR system for rapid detection of *Salmonella* in milk powder and ricotta cheese. **Letters in Applied Microbiology**, v. 30, p. 267-271, 2000.
- WHYTE, P. et al. The prevalence and PCR detection of *Salmonella* contamination in raw poultry. **Veterinary Microbiology**, v. 89, p. 53-60, 2002.

Recebido em: 27 Agosto 2010

Aceito em: 16 Fevereiro 2011

