

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

OCORRÊNCIA DE *Salmonella* spp. EM CARÇAÇAS E
VÍSCERAS DE RÃS (*Rana catesbeiana* – Rã Touro): AVALIAÇÃO
DO PROCESSO DE ABATE

RODRIGO ALFANI

BOTUCATU – SP

Dezembro 2007

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

OCORRÊNCIA DE *Salmonella* spp. EM CARÇAÇAS E
VÍSCERAS DE RÃS (*Rana catesbeiana* – Rã Touro): AVALIAÇÃO
DO PROCESSO DE ABATE

RODRIGO ALFANI

Dissertação apresentada junto ao Programa de
Pós-Graduação em Medicina Veterinária para
obtenção do título de mestre.

Orientador: Prof. Ass. Dr. José Paes de Almeida Nogueira Pinto

BOTUCATU – SP

Dezembro 2007

COMPOSIÇÃO DA BANCA EXAMINADORA

Autor: Rodrigo Alfani

Título: Ocorrência de *Salmonella* spp. em carcaças e vísceras de rãs (*Rana catesbeiana*- Rã Touro): avaliação do processo de abate.

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Ass. Dr. José Paes de A. N. Pinto.
Instituição: FMVZ – UNESP – Botucatu.

Prof^a. Ass. Dr^a. Vera Lúcia Mores Rall.
Instituição: IB – UNESP – Botucatu.

Prof. Ass. Dr. Luciano dos Santos Bersot.
Instituição: UFPR - Palotina

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Curral de espera.....	12
Figura 2 – Imobilização.....	13
Figura 3 – Pendura.....	13
Figura 4 – Sangria.....	14
Figura 5 – Retirada da pele.....	14
Figura 6 – Eventração seguida da retirada das patas.....	15
Figura 7 – Evisceração.....	15
Figura 8 – Limpeza e separação do fígado.....	16
Figura 9 – Toalete.....	16
Figura 10 – Toalete.....	16
Figura 11 – Lavagem e resfriamento.....	17
Figura 12 – Corte e embalagem.....	17
Figura 13 – Metodologia utilizada para recuperação e isolamento de <i>Salmonella</i> spp.....	22

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Número (Nº) e porcentagem (%) de amostras negativas e positivas para *Salmonella* spp. independentemente do ponto de colheita dentro do fluxograma de abate de rãs.....23

Tabela 2 – Número (Nº) e porcentagem (%) de amostras positivas para *Salmonella* spp. em cada um dos pontos do fluxograma de abate de rãs para um total de 15 amostras por ponto.....24

SUMÁRIO

	Páginas
LISTA DE FIGURAS.....	iii
LISTA DE TABELAS.....	iv
RESUMO.....	vi
ABSTRACT.....	vii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DA LITERATURA	3
2.1 Salmonella spp. e sua veiculação pela carne de rã.....	3
2.2 Rã Touro (Rana catesbeiana).....	6
2.3 Características da Ranicultura.....	7
2.4 Aspectos Econômicos da Ranicultura Brasileira.....	8
2.5 Processo de Abate de Rãs	11
2.5.1 Fluxograma de Abate.....	11
3. OBJETIVO.....	19
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	20
4.1 Colheita de amostras	20
4.2 Pesquisa de Salmonella spp.....	21
4.2.1. Análise das amostras	21
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	23
6. CONCLUSÕES	28
7. BIBLIOGRAFIA	29
8. ARTIGO CIENTÍFICO	37

ALFANI, R. Ocorrência de *Salmonella* spp. em carcaças e vísceras de rãs (*Rana catesbeiana* – Rã Touro): avaliação do processo de abate.

Botucatu, 2007. 51p. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista - Botucatu.

RESUMO

O trabalho teve como objetivo avaliar a ocorrência de *Salmonella* spp. nos vários pontos do fluxograma do abate de rãs (*Rana catesbeiana* – Rã Touro), desde os currais de espera até o produto final, bem como nas vísceras não comestíveis e no fígado. Das 120 amostras analisadas ao longo do abate (15 amostras por ponto / 8 pontos de colheita), 39 (32,5%) mostraram-se positivas, independentemente do ponto de colheita. Em relação a estes, obtiveram-se os seguintes resultados: 26,7% de positividade na água dos currais de espera, 13,3% após a insensibilização e após a sangria, 26,7% após a retirada da pele, 46,7% após a evisceração, 40% no produto final não embalado e nas vísceras, e 53,3% para o fígado. Conclui-se que a carne de rã, produto final, obtida nas condições estudadas, pode representar um sério risco à saúde pública, como veículo de *Salmonella* spp. A contaminação detectada nos vários pontos de colheita se dá de forma gradativa e contínua ao decorrer do abate. Das etapas estudadas, a evisceração é a mais crítica em relação à contaminação por *Salmonella* spp. É necessária a implementação de pontos críticos de controle no processo de abate e, conseqüentemente, ações corretivas para minimizar tais contaminações.

Palavras-chave: Abate; Carne de rã; Rã; *Rana catesbeiana*; *Salmonella*

ALFANI, R. Occurrence of *Salmonella* spp. In carcasses and viscera of frogs (*Rana catesbeiana* - Bullfrog): evaluation of the process of slaughter. Botucatu, 2007. 51p. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista - Botucatu.

ABSTRACT

The study aimed to assess the occurrence of *Salmonella* spp. in several parts of the flowchart of the slaughter of frogs (*Rana catesbeiana* - Bullfrog), since the waiting pens until the final product, as well as in viscera not edible and in the liver. Of the 120 samples analyzed over the slaughter (15 samples per point / 8 points of collection), 39 (32,5%) have proved positive, regardless of the point of harvest. For these, obtained the following results: 26,7% of positivity in the water of waiting pens, 13,3% after stunning and after the bleeding, 26,7% after the withdrawal of skin, 46,7% after evisceration, 40% in the final product not packed and for the viscera, and 53,3% for the liver. It follows that the meat of frog, the final product, obtained under the conditions studied, may represent a serious risk to public health, as a vehicle of *Salmonella* spp. The contamination detected in the various points of collection occurs in a gradual and continuous course of the slaughter. In stages studied, the evisceration is the most critical point of the contamination by *Salmonella* spp. It's necessary establish critical points of control in the process of slaughter and, therefore, correct actions to minimize such contamination.

Keywords: Slaughter; Meat's frog; Frog; *Rana catesbeiana*; *Salmonella*

1. INTRODUÇÃO

A qualidade dos produtos alimentícios e a sua influência sobre a nutrição e a saúde humana vêm merecendo lugar de destaque nos meios científicos. Essa preocupação se deve à grande diversidade de alimentos existentes atualmente e a uma tendência cada vez maior de se ingerir produtos naturais e seguros.

A segurança dos alimentos para a saúde pública é muito importante, principalmente quando considerados os dados atuais referentes ao aparecimento e ressurgimento de diversas doenças veiculadas por alimentos (NASCIMENTO, 2002). Este aumento significativo de casos de doenças transmitidas por alimentos foi observado em muitos países nos últimos anos (RADKOWSKI, 2001). Os veículos na maioria dos surtos são alimentos de origem animal, que podem ter entrado em contato com algum patógeno de relevância em relação à Saúde Pública durante sua obtenção ou processamento (MANCHA et al., 1999).

Dentro desse contexto, as infecções provocadas pelas bactérias do gênero *Salmonella* são universalmente consideradas, na atualidade, como uma das mais importantes causas de doenças transmitidas por alimentos (FOODNET, 2005).

A ampla distribuição de gênero *Salmonella* entre os animais e sua permanência no ambiente contribuem para que este microrganismo assuma um papel importante na saúde pública (WEISS et al., 2002). *Salmonella* está amplamente distribuída na natureza, sendo o trato intestinal do homem e de animais, o principal reservatório natural, podendo ser encontrado em aves, suínos, bovinos, eqüinos e animais silvestres (roedores, anfíbios e répteis), sendo que, em inúmeros surtos de origem alimentar causado pelo agente, a carne e seus derivados, entre os mais variados tipos de alimentos, são os mais comumente envolvidos (FRANCO & LANDGRAF, 1996).

Entre os diversos tipos de carnes consumidas pela população humana, figura a de rã. Segundo as estatísticas da Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação (FAO), a produção média mundial de carne de rã no período 1988-2001 foi de aproximadamente 5.500 toneladas anuais. Neste mesmo período, a produção mundial cresceu 13%, enquanto no Brasil o

crescimento superou 2600%, demonstrando o aumento da participação brasileira no mercado mundial.

Por outro lado, por ser uma criação ainda em expansão no Brasil e pouco difundida, estudos devem ser realizados com o objetivo de assegurar a sua qualidade higiênico-sanitária e, em última análise, a segurança do produto oferecido ao consumidor.

O estudo do processo de abate desses animais em nosso país e a sua contaminação por *Salmonella* spp., pode trazer subsídios importantes para o desenvolvimento de estratégias que garantam a segurança desse tipo de alimento.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 *Salmonella* spp. e sua veiculação pela carne de rã

As Enfermidades Transmitidas por Alimentos (ETA) representam um importante problema de saúde pública, tendo merecido atenção pela elevada gravidade, tanto nos países desenvolvidos como nos em desenvolvimento (FUNASA, 2000).

O impacto social e econômico dessas enfermidades é considerável e a salmonelose representa um papel importante neste fenômeno, sendo uma das principais doenças transmitidas por alimentos de origem animal (CASTAGNA et al., 2004).

Segundo Weiss et al. (2002), *Salmonella* é responsável somente nos Estados Unidos por 1,3 milhões de casos anuais (9,7% do total) e 31% das mortes associadas ao consumo de alimentos. Segundo o Center for Diseases Control and Prevention (CDC, 2005), em 2004 nos Estados Unidos, *Salmonella* spp. foi o agente causador de ETA mais freqüentemente isolado.

No Brasil, embora nosso sistema de vigilância epidemiológico ainda seja muito incipiente, dos surtos em que se conseguiu isolar o agente etiológico no período de 1999 a 2004, em 34,7% (581 em um total de 3.737) deles *Salmonella* spp. foi a responsável, ratificando mais uma vez a sua importância como agente de ETA também em nosso país (BRASIL, 2005).

Quanto aos surtos envolvendo *Salmonella* spp., há que se fazer uma diferenciação entre os relacionados à febre tifóide (*Salmonella* Typhi) e paratifóide (*Salmonella* Paratyphi A, B e C), daqueles causados potencialmente por todos os demais sorotipos, sendo a enfermidade caracterizada nesse caso por uma sintomatologia gastrentérica, mais branda, as chamadas salmoneloses clássicas.

Estas são reconhecidas como zoonoses e a grande maioria dos estudos revelam que grande parte dos animais são reservatórios (TURNBULL, 1979; WHO, 1980). Tanto os animais de sangue quente quanto os de sangue frio podem possuir, em sua microbiota intestinal, membros do gênero *Salmonella*, sendo facilmente distribuídos no meio ambiente, sobrevivendo e multiplicando-se (TURNBULL, 1979).

Salmonella está amplamente distribuída na natureza, sendo o trato intestinal do homem e de animais o principal reservatório natural. Entre os animais, *Salmonella* spp. pode ser encontrada em aves, suínos, bovinos, eqüinos e animais silvestres (roedores, anfíbios e répteis), sendo que, em inúmeros surtos de toxinfecção alimentar causados pelo agente, a carne, entre os mais variados tipos de alimentos, é o mais comumente envolvido nos casos (FRANCO & LANDGRAF, 1996). *Salmonella* pode ser encontrada também nas fezes de um grande número de espécies de animais domésticos, especialmente quando estão com diarréia, sendo que, as pessoas podem infectar-se se não lavarem as mãos após contacto com essas fezes (GORMAN & ADLEY, 2004).

A transmissão ao homem se dá principalmente através de alimentos contaminados, especialmente os de origem animal, como carne bovina, suína e de aves, leite e ovos, mas todos os demais tipos, inclusive vegetais, podem ser veículos desse microrganismo.

É importante ressaltar que aqueles que tiveram infecção por *Salmonella* spp., podem eliminar o microrganismo pelas suas fezes mesmo quando não apresentam nenhum sintoma. Esses portadores assintomáticos transformam-se em perigosa fonte de contaminação da água e dos alimentos (MATTICK et al., 2002).

Animais de sangue frio também são considerados como importante reservatório natural para *Salmonella*, o que, epidemiologicamente, tem sido comprovado através de relatos de vários estudos realizados em diferentes áreas geográficas (KOURANY & TELFORD, 1981; GUGNANI et al., 1986). Estes animais de sangue frio, portadores de *Salmonella*, são considerados um sério problema de saúde pública, pois podem resultar em casos de salmonelose em humanos com os quais têm contato (TAUXE et al., 1985), e também, causar perdas econômicas, doenças e mortes (ONDERKA & FINLAYSON, 1985; KALVIG et al., 1991).

Salmonella é naturalmente encontrada no trato intestinal de répteis (lagartos, serpentes e tartarugas) e anfíbios (rãs) (CALDWELL & RYERSON, 1939; TRUST & BARTLETT, 1979; MERMIN et al., 2004). Mermin et al. (2004) citam que durante o período de 1996-1997 aproximadamente 74.000 infecções

em humanos causadas por *Salmonella* ocorreram nos Estados Unidos e estavam associadas ao contato com répteis e anfíbios.

Em anfíbios, o primeiro relato de isolamento de *Salmonella* ocorreu em 1958, onde 15 de 27 sapos foram positivos para o patógeno (BOOL & KEMPELMACHER, 1958). Apesar destes casos envolvendo o agente com anfíbios, poucos relatos são encontrados sobre sua incidência nesse grupo de animais (CHAMBERS & HULSE, 2006).

Segundo Srikantiah (2004), o contato com anfíbios e seu meio ambiente podem ser um fator de risco para infecções humanas por *Salmonella* Javiana, sendo que órgãos oficiais de saúde pública dos Estados Unidos consideram esses animais como potencial fonte de contaminação para salmonelose. Rãs podem ser consideradas como espécies assintomáticas para *Salmonella* sp (UNIVERSITY OF VIRGINIA, 2007).

Segundo Geue & Loschner (2002) e Mahajan et al. (2003), enquanto a presença de *Salmonella* em répteis e anfíbios é considerada assintomática, condições sintomáticas são evidenciadas em humanos como resultado de transmissão destes animais.

Shaib et al. (1979) são unânimes em afirmar que tanto o sapo quanto a rã são reservatórios para *Salmonella*, desempenhando papel importante na epidemiologia da enfermidade.

Bartlett et al. (1977) relataram a importância de rãs como fonte de infecção de *Salmonella* para humanos, representando um alto risco de saúde pública e de acordo com sua pesquisa, o sorotipo mais comumente isolado foi *S. Typhimurium*. Segundo Chambers & Hulse (2006), os dois sorovares de *Salmonella* mais comumente isolados provenientes de répteis e anfíbios, 36,1% do total, foram *Salmonella* Typhimurium e *Salmonella* Enteritidis. Estes dois sorovares são também os mais comuns nos Estados Unidos, responsáveis aproximadamente por 50% de todas as infecções humanas (MERMIN et al., 2004).

Salmonella Typhimurium é um dos principais sorotipos isolados em casos esporádicos ou surtos no Brasil e está associada a meningites, especialmente em crianças. Representa um risco para a população que consome alimentos contaminados por ela, devido a sua capacidade de invasão. *Salmonella* Typhimurium fagotipo DT 104 é considerada um patógeno

emergente e altamente virulento, resistente a vários antibióticos (DDTHA/CVE, SES-SP, 2005).

Meyrick (1978) analisando coxas de rãs, relacionou este alimento como sendo de alto risco pela contaminação por *Salmonella*. UsdheW (1978) relatou que a “Canadian Food and Drug” e a “Food and Drug Administration” são solicitadas freqüentemente para detectar *Salmonella* em coxas de rãs.

Trichopoulos et al. (1971), Ang (1973) e Nickelson et al. (1975) isolaram *Salmonella* sp. da carne e coxa de rãs.

Geralmente coxas de rãs entram na cozinha do consumidor ainda cruas, e, após o cozimento organismos como a *Salmonella*, se estiverem presentes, são destruídos pela alta temperatura. Entretanto, utensílios e superfícies que entraram em contato com o produto “cru” podem vir a se contaminar com *Salmonella*, representando sério risco quanto a contaminações cruzadas (ANDREWS et al., 1977).

Este alimento tem sido consumido por pessoas idosas e crianças em hospitais, até mesmo, por administração do homogeneizado, através de sonda, para fortalecer enfermos que se encontram mais suscetíveis às infecções. Portanto, se por um lado essa carne tem um elevado valor nutritivo, por outro, deve apresentar uma boa qualidade microbiológica, já que tais consumidores têm também maior suscetibilidade às doenças transmitidas por alimentos. Daí a grande importância de sua análise microbiológica (RODRIGUES et. al., 1994). Bartlett et al. (1977) sugeriram que carne de rã deve ser incluída em lista de produtos que requerem certificados de *Salmonella-free* para sua comercialização para o mercado nacional e internacional.

2.2 Rã Touro (*Rana catesbeiana*)

A rã-touro pertence à Família Ranidae, Gênero *Rana*, Espécie *catesbeiana*, sendo originária da América do Norte, e introduzida no Brasil por empreendedores que viram nesta espécie grandes potencialidades comerciais pelas qualidades nutricionais e sabor delicado de sua carne (VIEIRA, 1993).

As rãs são incluídas entre as espécies que podem ser classificadas como “pescado”, de acordo como Artigo 438, do Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal, Decreto Lei nº 1255 de

junho de 1962, pois o termo pescado compreende peixes, crustáceos, moluscos, anfíbios, quelônios e mamíferos de água doce ou salgada usados na alimentação humana (BRASIL, 1952).

Assim como todos os anfíbios, a rã-touro é um animal ectotérmico, ou seja, seu metabolismo é dependente da temperatura ambiente. Esta característica influi grandemente na produção comercial, pois, quando a alimentação e a nutrição ocorrem numa faixa de temperatura ótima, ocorre maior consumo de alimento por parte dos animais, possibilitando maior ganho de peso em um menor espaço de tempo (BRAGA & LIMA, 2001).

2.3 Características da Ranicultura

A criação de rãs ou ranicultura pode ter finalidade doméstica, comercial, de povoamento ou repovoamento, podendo ser realizada por métodos extensivos, semi-extensivos ou intensivos (LONGO, 1986).

Os ranários podem ser construídos utilizando várias alternativas, ou propostas de instalações e técnicas de manejo, dentre elas o Sistema Anfigranja (LIMA et al., 2003). Anfigranja se caracteriza por sua disposição linear de piscina, abrigos e cochos, permitindo uma distribuição mais uniforme dos animais no interior do tanque. Os tanques (de alvenaria) são construídos no interior de galpões, semelhantes àqueles utilizados nas granjas de engorda de frangos (FZEA – USP, 2003). Possuem formato circular ou retangular, com eficiente sistema de drenagens dos resíduos e circulação da água através de um conjunto hidráulico de alta pressão (LIMA, 1997).

Atualmente, usam-se rações comerciais extrusadas formuladas para peixes carnívoros ou onívoros, em praticamente todos os criatórios. A reduzida utilização deste produto na ranicultura tem afastado o interesse das indústrias em desenvolverem e oferecerem ao mercado rações específicas e adequadas para esse anfíbio. Contudo, é possível encontrar ração rotulada para essa espécie no mercado, porém sem informações de sua eficiência. Nenhuma publicação é encontrada no Brasil avaliando rações comerciais disponíveis, que normalmente, são a alternativa mais usada dos produtores (CASALI et al., 2005).

Na moderna ranicultura brasileira, praticamente estão descartadas situações de perdas de animais decorrentes de erros, falhas e desconhecimento dos princípios básicos de manejos sanitários, nutricional e zootécnico. É reconhecida a importância da qualidade da água, tipo de abrigo, qualidade do alimento, treinamento, responsabilidade da mão de obra, procedimentos gerais de limpeza e higienização do volume de água, retirada de sobras de alimentos, remoção dos dejetos e da pele trocada, além do uso de soluções desinfetantes, para que a criação não sofra intercorrências, obtendo-se animais sadios e com peso adequado para a comercialização (HIPÓLITO, 1999, 2004).

Como a ranicultura é um ramo da aqüicultura (arte de criar e multiplicar animais e plantas aquáticas) todos que pretendem montar o seu ranário são obrigados a fazer seu registro de aqüicultor junto ao Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis – IBAMA, conforme disposto na Portaria n° 95-N, de 30 de agosto de 1993. Para comercialização da produção o ranicultor também terá que obter a inscrição de produtor rural junto ao órgão competente (FZEA-USP, 2003).

Por ser uma atividade em crescimento, pelo seu valor econômico e por sua importância como carne nobre já devidamente reconhecida, normas e procedimentos sanitários recomendados para a carne de rã-touro fazem parte da legislação vigente nacional (BRASIL, 1952) e internacional (CODEX ALIMENTARIUS, 1983).

2.4 Aspectos Econômicos da Ranicultura Brasileira

Longo (1986) esclarece que a carne de rã é apreciada há muito tempo por toda a Europa, sendo um dos pratos favoritos e solicitados pelos alemães, franceses, suíços, italianos, belgas e outros. Nos Estados Unidos, Canadá, México, Argentina, Chile, Uruguai e Brasil, o costume foi introduzido pela imigração européia. Os maiores fornecedores mundiais são países da Ásia, liderados pelo Japão, especialista em processamento de alta qualidade, que recolhe a produção da Malásia, Indonésia, e outros, processando-a e comercializando-a. Turquia, Egito e Áustria também concorrem na comercialização.

A ranicultura se iniciou no Brasil na década de 30, quando um técnico canadense iniciou a criação com alguns casais de Rã Touro Gigante (*Rana catesbeiana shaw*), no Estado do Rio de Janeiro. Desde então muita coisa se modificou, sendo que o Brasil foi o pioneiro na criação racional de rãs (IMA, 2007). A ranicultura em cativeiro iniciou-se em Minas Gerais no ano de 1937 e o sistema de criação utilizado era extensivo em tanques, sendo que insetos e larvas serviam como alimento para os animais. Com as pesquisas desenvolvidas na Universidade Federal de Viçosa sobre um novo sistema de criação de rãs em cativeiro chamado anfigranja, a tecnologia de criação de animais evoluiu, melhorando o desempenho da atividade (LIMA & AGOSTINHO, 1988).

Segundo Mello (2004), a ranicultura estabeleceu-se no Brasil como uma atividade econômica na década de 80. A estrutura do setor rural brasileiro passou por significativas transformações na última década e esta situação dificultou ainda mais a sustentabilidade do pequeno produtor rural em suas atividades tradicionais, revelando a urgente necessidade do desenvolvimento de atividades compatíveis com as características sócio-econômicas vigentes (FEIX et al., 2006). Sistemas alternativos de produção chamaram a atenção e tornaram-se foco de atenção de muitos interessados em expandir negócios e gerar renda (ABDALLAH, 1998).

A carne de rã, oriunda de criações em cativeiro, é um produto com mercado no Brasil e exterior e pode vir a ser um dos produtos capazes de atender à demanda dos produtores rurais por atividades que sejam rentáveis e não exijam elevados investimentos financeiros (LIMA & AGOSTINHO, 1992). A criação de rãs em cativeiro vem cada vez mais se firmando como uma atividade viável e de grande potencial. Isto se deve, entre outros fatores, à qualidade nutricional de sua carne, que possui um adequado balanceamento de aminoácidos e baixo nível de gordura e colesterol, o que se apresenta como uma importante ferramenta de publicidade (CASALI et al., 2005).

O Brasil tem exportado desde o início da década de 80, comercializando rãs vivas para os Estados Unidos. Na década de 90, nosso país iniciou exportações de carne de rã congelada para a Argentina e Chile. No mercado interno, entre os produtos comercializados estão a rã fresca ou congelada, em carcaça inteira ou em partes, principalmente coxas. A carne e o

couro são os principais produtos explorados comercialmente na ranicultura (LIMA & AGOSTINHO, 1988).

Segundo Lima & Agostinho (1992), aproximadamente 55% do peso do animal vivo a ser abatido pode ser aproveitado para fins comerciais. Os demais produtos como dorso inteiro ou desossado e dorso em pedaços são pouco explorados.

Estudos estão sendo feitos por institutos tecnológicos para o aproveitamento da carne do dorso da rã, na formulação de patês, conservas, *frogburger* e emulsionados. O curtimento da pele e o desenvolvimento das mantas de couro viabiliza a exportação do produto para a utilização na indústria de couro em países da Europa (MELLO, 2004). Além de bolsas, roupas, cintos e sapatos de couro de rã, ainda há um potencial para várias outras aplicações de pele ou couro rã, inclusive na medicina humana, por exemplo, utilização da queratina da pele no tratamento de queimados e cremes cicatrizantes. O fígado da rã-touro, que corresponde a 5% de seu peso quando viva, pode ser usado na alimentação humana em forma de patês ou preparados especiais, mas isso é mais comum no exterior (IMA, 2007, RAMOS, 2000). Segundo Silva & Oliveira (1994), o óleo extraído dos corpos adiposos pode ser utilizado na produção de cosméticos.

Quando comparada aos principais produtores do mundo, as perspectivas para a ranicultura brasileira são promissoras, principalmente ao se considerar as descobertas recentes que apontam para o surgimento de novos subprodutos de alto valor agregado e passíveis de comercialização. O crescimento da produção de carne de rã no Brasil a partir do final da década de 1980 é evidente. Enquanto em 1988, a produção nacional era de apenas 29 toneladas/ano, em 2001, aproximou-se das 800 toneladas e movimentou cerca de US\$ 5,05 milhões. De acordo com as estatísticas da Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação (FAO), a produção média mundial de carne de rã no período 1989-2001 situou-se em torno das 5.500 toneladas anuais. O crescimento da produção mundial do período foi de 13%, enquanto no Brasil o crescimento superou 2600%, demonstrando o aumento da participação brasileira no total da produção mundial do produto. Em 2001 a produção mundial de carne de rã foi de 6.515 toneladas, provenientes em sua maioria do continente asiático - 73% (FEIX et al., 2006).

Na Região Sul do país, de acordo com Poli et al. (2000), foram produzidas aproximadamente 30,5 toneladas de carne de rã, sendo que destas, 8 toneladas provieram do Estado do Rio Grande do Sul. A expansão no consumo da carne de rã ocorreu paralelamente ao crescimento do consumo de outras carnes exóticas. No Brasil, a carne de rã é encontrada nos estabelecimentos comerciais na forma de carcaça ou em coxas, sendo que no mercado internacional há uma forte preferência pelas coxas, sendo praticamente inexistente a demanda por outro produto (LIMA et al., 1999).

Entretanto, a participação da carne de rã no consumo total de carnes no Brasil ainda é insignificante, representando um consumo anual per capita de apenas 5 gramas. Já o consumo anual per capita das carnes bovina, suína, frango e de pescado em 2000 foi de 36,5Kg, 10,5Kg, 29,9Kg e 7Kg, respectivamente (FAVIER et al., 1999; ANUALPEC, 2000). O baixo consumo da carne de rã está associado com fatores culturais brasileiros, além dos altos preços praticados em sua venda, sendo que a irregularidade da oferta do produto nos pontos de venda e ainda a sua reduzida divulgação junto ao mercado consumidor, contribuem para o baixo consumo quando comparado a carnes de outras espécies.

Em virtude da criação de rã ainda estar em expansão no Brasil, muitos estudos e pesquisas devem ser realizados com o intuito da sua viabilidade econômica, bem como, aspectos sanitários, tecnológicos e de manejo.

2.5 Processo de Abate de Rãs

O abatedouro de rãs é constituído essencialmente pelas áreas de: recepção (área suja), evisceração (área limpa), embalagem, congelamento, estocagem e expedição. Quando ocorre elaboração de produtos, além da carne *in natura*, deve possuir também uma sala de processamento (MOURA & RAMOS, 2007).

2.5.1 Fluxograma de Abate

Compreende as seguintes etapas, descritas a seguir:

Seleção dos animais: os animais são separados para o abate de acordo com o seu peso, que normalmente pode variar entre 160 a 200 gramas.

Curral de espera (Figura 1): localizados ao lado do abatedouro. Dispõe de uma área coberta em ambas laterais (área sombreada) e uma outra central em formato de tanque com fluxo contínuo de água. Os animais selecionados para o abate permanecem neste curral por 24 horas e sem fornecimento de ração, com a finalidade de evitar a repleção intestinal e risco de contaminação cruzada durante o abate.



FIGURA 1: Curral de Espera

Pesagem: os animais são retirados do curral de espera por um colaborador do abatedouro momentos antes do abate através de uma rede (puçá), colocados em um “saco” de nylon, fechado por um cordão e pesados em balança momentos antes de serem levados à insensibilização. Em uma planilha de controle os dados são anotados, a fim de se estabelecer o peso vivo total dos animais abatidos no dia.

Área Suja

Imobilização (Figura 2): as rãs são insensibilizadas através de choque térmico, com conseqüente paralisação dos animais (FZEA-USP, 2003). Colocam-se aproximadamente 300 rãs em uma caixa de PVC “vazada”, e estas são mergulhadas em uma caixa de isopor, contendo água clorada, sal grosso e gelo. A caixa de isopor possui capacidade para duas caixas de PVC, sendo então retiradas em modo alternado. Após aproximadamente 10 minutos as rãs estarão imóveis.



FIGURA 2: Imobilização

Pendura (Figura 3): após insensibilização os animais são pendurados em gancho de aço inoxidável pela porção distal do membro posterior em nória mecanizada.



FIGURA 3: Pendura

Sangria (Figura 4): com a utilização de tesoura o colaborador realiza corte superficial transversal na região do pescoço das rãs com posterior secção dos grandes vasos sanguíneos. O animal permanece na área de sangria por aproximadamente 10 minutos.



FIGURA 4: Sangria

Área Limpa

Retirada da Pele - “Pijama” (Figura 5): através da passagem pelo “óculo” os animais entram na área limpa. É trocada a posição das rãs na nória, prendendo-se agora pela mandíbula no sentido ventro-dorsal, em direção da porção central da cabeça. A pele é retirada com a utilização apenas das mãos soltando-a da região do pescoço e a puxando em direção da cloaca. A pele sai inteira em forma de “pijama”.



FIGURA 5: Retirada da Pele

Eventração (Figura 6): a carcaça novamente é colocada na nória através do membro posterior e com auxílio de tesoura é realizada a abertura do abdômen no sentido cabeça-cloaca. Logo em seguida as patas são retiradas na altura de suas articulações utilizando-se tesoura cirúrgica.



FIGURA 6: Eventração seguida da retirada das patas

Evisceração (Figura 7): nesta etapa, utilizando-se somente as mãos, o colaborador retira todos os órgãos no sentido cloaca-cabeça, sendo que a cabeça da rã é retirada juntamente com as vísceras.



FIGURA 7: Evisceração

Limpeza e Separação do Fígado (Figura 8): após evisceração o fígado é separado e colocado em um cesto de PVC perfurado. Manualmente são retirados os resíduos do abate e outras vísceras que ficaram aderidas no fígado. Depois de sua limpeza o fígado é armazenado em bandeja de PVC para posterior pesagem e embalagem.



FIGURA 8: Limpeza e separação do fígado

Toalete (Figuras 9 e10): são retirados resíduos de sangue coagulado, gordura visceral e órgãos. As carcaças são retiradas da nória e colocadas em bandeja de PVC com água.



FIGURA 9: Toalete



FIGURA 10: Toalete

Lavagem e Resfriamento (Figura 11): as carcaças são colocadas em um cesto de aço inox com formato redondo e mergulhadas em dois tanques. Os tanques possuem água gelada e o cesto permanece em média 10 minutos em cada tanque.



FIGURA 11: Lavagem e Resfriamento

Corte e Embalagem (Figura 12): quando retiradas do resfriamento as carcaças são colocadas em caixa de PVC sobre uma mesa de aço inox, e com auxílio de tesoura são realizados os cortes comerciais. São embalados tanto os cortes como também as carcaças inteiras em sacos plásticos com a logomarca da empresa.



FIGURA 12: Corte e Embalagem

Pesagem : em mesa de aço inox o peso do produto é conferido com o auxílio de balança. Após pesagem o produto final é lacrado em sua embalagem comercial.

Congelamento: os produtos são levados imediatamente para câmara de congelamento a -18°C .

Expedição: área do abatedouro de onde os produtos congelados são expedidos por passagem exclusiva.

Em todas as fases do abate (pendura ao toalete) utiliza-se água tratada que circula e é pulverizada através de encanamentos e chuveiros paralelos à nória mecanizada.

3. OBJETIVO

O presente trabalho teve como objetivo:

- a) avaliar a ocorrência de *Salmonella* spp. no processo de abate de rãs;
- b) determinar as etapas críticas de contaminação por este patógeno.

4. MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado em um matadouro-frigorífico de rãs, com registro no Serviço de Inspeção Federal do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) e estabelecido no Distrito Federal (DF).

4.1 Colheita de amostras

Estabeleceu-se como unidade amostral enxágües de carcaças de rãs em diferentes pontos de seu processo de abate, além da coleta e análise de água do curral de espera, vísceras e fígado dos animais, colhidos no período de janeiro a setembro de 2007.

As coletas foram divididas em 8 visitas ao local de abate, com uma média de 2 coletas por ponto/dia. Foram colhidas aleatoriamente 120 amostras, sendo 15 para cada ponto do processo descrito a seguir:

- Enxágüe de carcaças de rãs pós-insensibilização;
- Enxágüe de carcaças de rãs pós-sangria;
- Enxágüe de carcaças de rãs após retirada da pele;
- Enxágüe de carcaças de rãs pós-evisceração;
- Enxágüe de carcaças de rãs - produto final não embalado;
- Água do Curral de Espera;
- Vísceras;
- Fígado.

Os enxágües das carcaças foram realizados com 300 mL de Água Peptonada Tamponada a 1% (APT 1% - Oxoid) por aproximadamente 3 minutos, utilizando um saco plástico estéril. A cada ponto do processo analisado, as rãs foram colocadas dentro dos sacos estéreis juntamente com a APT 1% e então massageadas durante o período pré-estipulado. Para a colheita da água do curral de espera, vísceras e fígados, foram coletados respectivamente $\pm 100\text{mL}$, $\pm 50\text{g}$ e $\pm 50\text{g}$ de amostra, empregando o mesmo tipo de saco plástico.

Após a colheita, as amostras foram dispostas e armazenadas em caixas isotérmicas contendo gelo reciclável, e transportadas e analisadas no mesmo dia. As análises foram realizadas no Laboratório de Análises de

Alimentos e Água Sabinbiotec Biotecnologia LTDA, situado na cidade de Taguatinga (DF).

4.2 Pesquisa de *Salmonella* spp.

A metodologia utilizada foi a preconizada pela International Organization for Standardization – International Standard ISO 6579:2002 – Microbiology of food and animal feeding stuffs (Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp.), com modificações (ISO, 2002).

4.2.1 Análise das amostras

Para as amostras de água dos currais de espera foram pipetados $25 \pm 0,2$ mL, sendo que para as vísceras e fígados foram pesados $25 \pm 0,2$ g da amostra em sacos plásticos estéreis. Em ambos foram adicionados 225 mL de Água Peptonada Tamponada 1%, e homogeneizados por 60 segundos. Para todas as amostras, inclusive os enxágües, a temperatura de incubação utilizada na etapa de pré-enriquecimento foi de $37 \pm 1^\circ\text{C}$ por 18 horas ± 2 horas.

A partir da mistura pré-enriquecida, foram transferidas alíquotas de 0,1 mL para tubos contendo 10 mL de Caldo Rappaport Vassiliadis com Soja (RVS - Oxoid) e 1 mL para tubos contendo 10 mL de Caldo Tetrionato Muller-Kauffmann (MKTTn - Oxoid) suplementado com iodo (Sigma-Aldrich) e novobiocina (Sigma-Aldrich). Os tubos do Caldo RVS foram incubados a $41,5 \pm 1^\circ\text{C}$ em banho-maria com agitação por 24 horas (± 3 horas) enquanto que o Caldo MKTTn foi incubado por 24 horas (± 3 horas) a $37 \pm 1^\circ\text{C}$ em banho-maria com agitação.

Os caldos seletivos de enriquecimento (RVS e MKTTn) com o auxílio de alças de 3mm de diâmetro, foram estriados sobre a superfície previamente seca dos ágars Xilose Lisina Desoxicolato (XLD – Difco, Becton Dickinson) e Verde Brilhante Violeta Cristal Lisina Manitol (MLCB - Oxoid), de forma a se obter colônias isoladas. As placas foram incubadas invertidas, a $37 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 horas (± 3 horas).

Após incubação, as placas foram examinadas quanto à presença de colônias típicas de *Salmonella*, sendo estas repicadas para tubos contendo Ágar Tríplice Açúcar Ferro (TSI – Difco, Becton Dickinson) e Ágar Lisina Ferro

(LIA – Difco, Becton Dickinson), ambos a seguir incubados a $37 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 horas (± 3 horas).

Após incubação, as colônias que desenvolveram características bioquímicas típicas para o gênero pesquisado foram submetidas a uma série bioquímica complementar, descrita a seguir: produção de urease, detecção de beta-galactosidase, reação de Voges-Proskauer e prova do indol.

Para as culturas que apresentaram comportamento bioquímico compatível com *Salmonella* spp. foram realizados testes sorológicos frente ao anti-soro polivalente “O” (Probac, Brasil), para confirmação do resultado. Os resultados foram expressos como Presença ou Ausência de *Salmonella* spp. A metodologia encontra-se esquematizada na Figura 13.

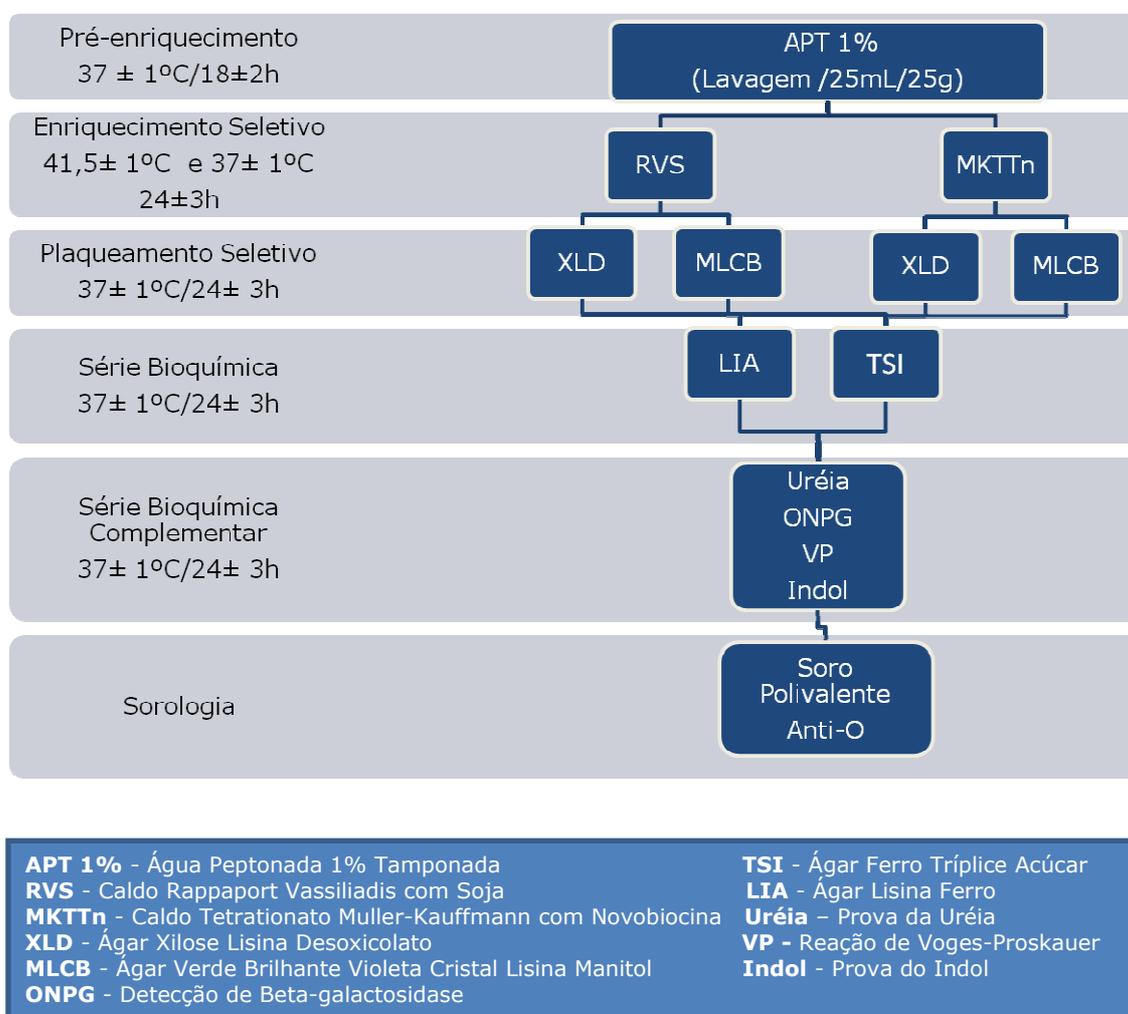


FIGURA 13: Metodologia utilizada para recuperação e isolamento de *Salmonella* spp.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados referentes às 120 amostras analisadas no tocante à presença ou ausência de *Salmonella* spp., independentemente do ponto de coleta, encontram-se na Tabela 1.

TABELA 1 – Número (Nº) e porcentagem (%) de amostras negativas e positivas para *Salmonella* spp., independentemente do ponto de colheita dentro do fluxograma de abate de rãs.

Amostras	Nº (%)
Negativas	81 (67,5)
Positivas	39 (32,5)
TOTAL	120 (100)

Do total de amostras analisadas 120 (100%), 39 (32,5%) mostraram-se positivas.

Em todos os pontos de colheita analisados (água – curral de espera, carcaça pós-insensibilização, carcaça pós-sangria, carcaça após retirada de pele, carcaça pós-evisceração, vísceras, produto final e fígado), foram detectadas amostras positivas para o patógeno, sendo que a porcentagem destas variou de 13,3% a 53,3% (Tabela 2).

TABELA 2 – Número (Nº) e porcentagem (%) de amostras positivas para *Salmonella* spp. em cada um dos pontos do fluxograma de abate de rãs para um total de 15 amostras por ponto.

Pontos	Nº amostras	Nº (%) de amostras positivas
Água – Curral de Espera	15	4 (26,7)
Pós-insensibilização (carcaça)	15	2 (13,3)
Pós-sangria (carcaça)	15	2 (13,3)
Após Retirada de Pele (carcaça)	15	4 (26,7)
Pós-evisceração (carcaça)	15	7 (46,7)
Produto Final (carcaça)	15	6 (40)
Vísceras	15	6 (40)
Fígado	15	8 (53,3)

A contaminação já observada na água do curral de espera (1º ponto de colheita dentro do fluxograma), sendo que das 15 amostras pesquisadas, 4 (26,7%) mostraram-se positivas. Durante as colheitas nos tanques, foi observado com freqüência que a água encontrava-se com acúmulo de resíduos orgânicos e volume reduzido da reposição de água, situações que podem ter favorecido a sobrevivência e a manutenção do patógeno neste ambiente (Fig. 1).

A ocorrência de amostras positivas neste ponto de colheita indica que há possibilidade destes animais serem portadores de *Salmonella* excretando-a via fezes, o que confirmaria o relato de outros pesquisadores que mostram ser a rã um reservatório deste patógeno. Sharma et al. na Itália (1974) isolaram *Salmonella* spp. em 18 amostras (14%) do trato gastrointestinal de um total de 129 animais analisados. Os sorotipos mais frequentemente encontrados foram os que, segundo os autores, possuíam grande importância epidemiológica, já que existia uma associação dos mesmos à doenças em várias espécies animais e em humanos. Nickelson et al. (1975) também isolaram *Salmonella* spp. em órgãos internos de 10 (22,2%) rãs, em um total de 45 (100%) analisadas. Esse mesmo percentual de contaminação também foi obtido por

Andrews et al. (1977). Ambos os grupos de pesquisadores reforçaram o papel das rãs como reservatório de *Salmonella*. Bartlett et al. (1977) isolaram o patógeno em 21% das amostras de carne de rãs analisadas e em 25% das amostras de água dos aquários onde as mesmas encontravam-se. Moreno et al. (1995), encontraram positividade de 60% para *Salmonella* spp em rãs da espécie *Rana perezi*. Dados mais recentes publicados por Chambers & Hulse (2006) reforçaram mais uma vez o papel dos anfíbios como reservatórios de *Salmonella* spp, já que 36 das 92 amostras de “swab” cloacal desse grupo de animais mostraram-se positivos para o patógeno, correspondendo a 39,1% do total analisado.

Esta contaminação inicial constitui-se em um problema que já vem sendo discutido há vários anos. Em 197, Shrivastava sugeriu que as rãs deveriam ser mergulhadas por 24 horas em um tanque com água corrente e anti-séptico, permitindo assim uma maior remoção dos microrganismos da pele e trato gastrointestinal.

A contaminação inicial detectada no curral de espera pode ter se refletido no número de amostras positivas detectadas nos dois próximos pontos de colheita do fluxograma de abate: após a insensibilização a após a sangria dos animais. Em ambos, a porcentagem de amostras positivas foi de 13,3% (2 amostras positivas). Esta positividade pode ser originária do ambiente em que os animais encontravam-se na fase pré-abate por adesão do patógeno à pele do animal. Investigações quanto à quantidade ideal de cloro a ser utilizado durante à insensibilização poderiam contribuir para a redução das porcentagens de contaminação por *Salmonella* spp. nesta fase do processo.

Os resultados obtidos nas etapas de retirada de pele e evisceração deixam patente que as contaminações aumentam com porcentagens de positividade de 26,6% e 46,6% respectivamente.

Uma maior contaminação também é observada no produto final (40%), nas vísceras (40%) e nos fígados (53,3%).

Pode-se afirmar, que a partir do momento em que a manipulação aumenta durante o processo de abate, evidencia-se também um aumento no número de amostras positivas para *Salmonella* spp.

A etapa crítica parece ser a evisceração, já que a partir daí, observou-se um aumento de, aproximadamente, 75% na ocorrência do patógeno (de

26,7% para 46,7%). A partir daí, os resultados permanecem praticamente constantes, embora ainda em um patamar elevado (vísceras e produto final = 40%)

No abate de outras espécies de animais de açougue (bovinos, suínos e aves), a evisceração também é considerada uma etapa de fundamental importância na contaminação das carcaças (JAY, 2000). Falhas durante a sua execução podem levar ao extravasamento do conteúdo intestinal e conseqüente contaminação das carcaças e/ou vísceras, seja ela direta ou indireta (cruzada), através dos manipuladores, utensílios e equipamentos.

De todas as amostras avaliadas, os fígados foram as que apresentaram o maior índice de positividade para *Salmonella* spp. (53,3%). Além da contaminação fecal que pode ter ocorrido durante a evisceração, estas vísceras também são submetidas a uma intensa manipulação (Fig.12), fator que pode explicar estes elevados valores para o patógeno.

A contaminação do produto final, embora menor (40%) é preocupante do ponto de vista de saúde pública, sendo um reflexo de todas as etapas anteriores, desde o pré-abate, até a sua colocação nas embalagens primárias. Colocado no comércio varejista nestas condições, nestas condições, pode servir de veículo para a ocorrência de casos e/ou surtos de salmonelose humana.

Outros resultados relativos à contaminação do produto final, embora esparsos, podem ser encontrados na literatura e são bastante variáveis, embora, na maioria das vezes, revelem um número alto de amostras positivas para *Salmonella* spp.

Yde et al., na Bélgica (1985), analisaram 75 amostras de carne de rã congelada e encontraram 71% de positividade para o patógeno.

Uma alta positividade para o patógeno (97% das amostras pesquisadas) também foi encontrada por Rodrigues et al. (1994), ao analisarem amostras de carne de rã comercializada em Niterói, RJ.

Resultados diversos foram observados por Silva & Oliveira (1994) ao trabalharem com amostras de carne de rã procedentes de dois diferentes abatedouros. No primeiro abatedouro fiscalizado pelo Serviço de Inspeção Federal (SIF) do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA),

todas as amostras (80) mostraram-se negativas para *Salmonella* spp, sendo que nos “abatedouros domésticos”, 21,2% eram positivas.

Todos os dados da literatura nacional e internacional confirmam que a carne de rã pode ser um importante veículo de *Salmonella* spp. ao homem. Assim, todos os cuidados devem ser tomados, desde a fase de produção primária, nos ranários, até a colocação do produto final no comércio varejista, para que essa ocorrência diminua.

No Brasil, a realização de estudos que permitam o desenvolvimento de técnicas e procedimentos para diminuir a contaminação dos animais, de suas carcaças e do produto final, é de extrema importância, haja vista os elevados índices de contaminação para *Salmonella* spp. detectados nos vários pontos do processo de abate no presente estudo.

6. CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos, conclui-se que:

- a carne de rã, produto final, obtida nas condições estudadas, pode representar um sério risco à saúde pública, como veículo de *Salmonella* spp.
- a contaminação detectada nos vários pontos de colheita se dá de forma gradativa e contínua ao decorrer do abate.
- das etapas estudadas, a evisceração é a mais crítica em relação à contaminação por *Salmonella* spp.
- é necessária a implementação de pontos críticos de controle no processo de abate e, conseqüentemente, ações corretivas para minimizar tais contaminações.

7. BIBLIOGRAFIA

ABDALLAH, P. R. **Atividade pesqueira no Brasil: política e evolução**. 1998. 137 f. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

ANDREWS, W. H. et al. Comparison of methods for the isolation of *Salmonella* from imported frog legs. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 33, n. 1, p. 65-68, 1977.

ANG, O. et al. *Salmonella* serotypes isolated from tortoises and frogs in Istanbul. **Journal Hygiene**, v. 91, n. 1, p. 85-88, 1973.

ANUALPEC - ANUÁRIO DA PECUÁRIA BRASILEIRA, 2000, São Paulo: FNP Consultoria e Comércio, 2000. 392p.

BARTLETT, K.H.; TRUST, T.J.; LIOR, H. Small pet aquarium frogs as a source of *Salmonella*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 33, n. 5, p. 1026-1029, 1977.

BOOL, P. H.; KEMPELMACHER, E. H. Some data on the occurrence of *Salmonella* in animals in Surinam. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 24, p. 76-80, 1958.

BRAGA, L. G. T.; LIMA, S.L. Influência da temperatura ambiente no desempenho da rã-touro, *Rana catesbeiana* (Shaw, 1802) na Fase de Recria **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n. 6, p. 1659-1663, 2001.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto n° 30691 de 29.03.52, alterado pelo decreto n°1255 de 25.06.62. **Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal**. Rio de Janeiro, 1952.174p.

BRASIL. Secretaria de Vigilância em Saúde. Boletim Eletrônico Epidemiológico, 2005. Disponível em: http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/bol_epi_6_2005_corrigido.pdf. Acesso em 20 fevereiro 2007.

CALDWELL, M.E.; RYERSON, D.L. Salmonelose em certos répteis. **Journal of Infectious Diseases**, v. 65, p. 242-245, 1939.

CASALI, A.P.; MOURA, O.M.; LIMA, S.L. Rações comerciais e o rendimento de carcaça e subprodutos de rã-touro. **Ciência Rural**, v. 35, n. 5, p. 1172-1178, 2005.

CASTAGNA, S. M. F. et al. Presença de *Salmonella* sp no trato intestinal e em tonsilas/linfonodos submandibulares de suínos ao abate. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 56, n. 3, p. 300-3006, 2004.

CDC - FOODNET data on the incidence of infection with pathogens transmitted commonly through food – 10 sites, United States, 2004. **Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR)**, v. 52, n. 14, p. 352-356, 2005

CHAMBERS, D. L.; HULSE, A. C. *Salmonella* serovars in the herpetofauna of Indiana county, Pennsylvania. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 72, n. 5, p. 3771-3773, 2006.

CODEX ALIMENTARIUS. Comision Mixta FAO – OMS. **Código Internacional Recomendado de Práticas de Higiene para La Elaboración de Ancas de Rana**. Roma, 1983.

DDTHA/CVE, SES-SP - Divisão de Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar do Centro de Vigilância Epidemiológica. Toxinfecção alimentar por *Salmonella* em um evento científico, São Paulo, 2004. **Revista Saúde Pública**, vol. 39, n. 3, p. 515-518, 2005.

FAVIER, J. C. et al. **Répertoire général des aliments: table de composition**. Paris: Lavoisier, 1999. 897 p.

FEIX, R. D.; ABDALLAH, P. R.; FIGUEIREDO, M. R. C. Resultado econômico da criação de rã em regiões de clima temperado, Brasil. **Informações Econômicas**, v. 36, n. 3, 2006.

FoodNet. Preliminary FoodNet data on the incidence of infection with pathogens Transmitted Commonly Through Food - 10 States, 2005. **Morbidity and Mortality Weekly Report**, 56, 336-339.

FRANCO, B. D. G. M. ; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Editora Atheneu, 1996. 182 p.

FUNASA – Fundação Nacional de Saúde. **Manual Integrado de Prevenção e Controle de Doenças Transmitidas por Alimentos**. Brasil, Ministério da Saúde, 2000.

FZEA-USP. Rã, 2003. Disponível em <http://www.criareplantar.com.br/aquicultura/ra/zootecnia>. Acesso em 10 de setembro de 2007.

GEUE, L. LOSCHNER, U. *Salmonella* enterica in reptiles of German and Austrian origin. **Veterinary Microbiology**, v. 84, p. 79-91, 2002.

GORMAN R.; ADLEY C. Characterization of *Salmonella* enterica Serotype Typhimurium isolates from human, food and animal sources in the Republic of Ireland. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 42, p. 2314-2316, 2004.

GUGNANI, H.C.; OGUIRE, J.U.; SAKAZAKI, R. *Salmonellae* and other enteropathogenic bacteria in the intestines of wall geckos in Nigeria. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 52, p. 117-120, 1986.

HIPOLITO, M. et al. Exames anatomo-histopatológico e microscopia eletrônica de nódulos presentes na musculatura de rã-touro. In: ENCONTRO NACIONAL DE RANICULTURA, 1999, Paraná. Anais...São Miguel do Iguazu: 1999. p. 7.

HIPOLITO, M. et al. Observações de Lesões *post-mortem* em rãs-touro (*Rana catesbeiana* SHAW, 1802) abatidas comercialmente no Estado de São Paulo, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 71, n. 2, p. 237-241, 2004.

IMA – Instituto Mineiro de Agropecuária. Rã: Puro preconceito. Disponível em <http://imanet.ima.mg.gov.br/noticias/agosto06/0708ranicultura.htm>. Acesso em 11 de agosto de 2007.

ISO. International Organization for Standardization. **International Standard ISO 6579:2002**. Microbiology of food and animal feeding stuffs (Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp, 2002.

JAY, J.M. **Modern food microbiology**. 6. ed. Maryland: Aspen, 2000. 679p.

KALVIG, B. A. et al. Salmonellosis in laboratory-house iguanid lizards (*Sceloporus* spp.). **Journal of Wildlife Diseases**, v. 27, p. 551-556, 1991.

KOURANY, M.; TELFORD, S. R. Lizards in the ecology of salmonellosis in Panama. **Applied Environmental Microbiology**, v. 41, p. 1248-1253, 1981.

LIMA, S. L. **A criação de rãs (Sistema Anfigranja)**. Viçosa, MG, 1997, 48p.

LIMA, S.L.; AGOSTINHO, C.A. “Anfigranja”: Sistema de criação intensiva de rãs. In: ENCONTRO NACIONAL DE RANICULTURA, 1988, Rio de Janeiro. Anais...Rio de Janeiro: Associação dos Ranicultores do Estado do Rio de Janeiro, 1988, p.15-17.

LIMA, S.L.; AGOSTINHO, C.A. **A tecnologia de criação de rãs**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1992. 168p.

LIMA, S. L.; CASALLI, A. P.; AGOSTINHO, C. A. Desempenho zootécnico e percentual de consumo de alimento de Rã-Touro (*Rana catesbeiana*) na fase de recria (pós-metamorfose) do Sistema Anfigranja. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 32, n. 3, p. 505-511, 2003.

LIMA, S.L.; CRUZ, T.A.; MOURA, M.O. **Ranicultura: análise da cadeia produtiva**. Viçosa: Editora Folha de Viçosa, 1999. 172p.

LONGO, A. D. **Manual de ranicultura: uma nova opção da pecuária**. 3. ed. São Paulo, SP, 1986. 221p.

MAHAJAN, R. K. et al. Fatal case of *Salmonella enterica* subsp. *arizonae* gastroenteritis in an infant with microcephaly. **Journal of clinical Microbiology**, v. 41, p. 5830-5832, 2003.

MANCHA, J.S. et al. *Salmonella* sp en tres tipos de chorizos como peligro dentro de un sistema de análisis de riesgo e identificación de puntos críticos de control (HACCP), em uma empacador de la ciudad de México. **Revista Veterinária México**, v. 30, n. 2, p. 157-165, 1999.

MATTICK, K. L. et al. The prevalence and number of *Salmonella* in sausages and their destruction by fryind, grilling or barbecuing. **Journal of Applied Microbiology**, v. 93, p. 541-547, 2002.

MELLO, S. C. R. P. Criação de rãs na América Latina, 2004. Disponível em https://www.was.org/lac-as/boletins/boletim04/03_reportagem/02port_3.htm. Acesso em 25 de setembro de 2007.

MERMIN, J. et al. Reptiles, amphibians, and human *Salmonella* infection: A population-based, case-control study. **Clinical Infectious Diseases**, v. 38, p. 253-261, 2004.

MEYRICK, E. A. Microbiological surveillance of amported. **Food Tecnology Australia**, v. 30, n. 11, p. 424, 1978.

MORENO, C.M. et al. Occurrence of *Salmonella* in cold-blooded animals in Gran Canária, Canary Islands, Spain. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 68, p. 191-194, 1995.

MOURA, O. M.; RAMOS, E.M. O processo de abate. Disponível em <<http://www.ufv.br/dta/ran/indust.htm>> . Acesso em 25 de setembro de 2007.

NASCIMENTO, S. P. Rastreabilidade assegura a qualidade da carne bovina. **Revista Higiene Alimentar**, v. 16, n. 94, p. 20-25, 2002.

NICKELSON, R; WYATT, L.E.; VANDERZANT, C. Reduction of Salmonella contamination in commercially processed frog legs. **Journal of Food Science**, vol. 40, n. 6, p. 1239-1240, 1975.

ONDERKA, D.K.; FINLAYSON, M. Salmonellae and salmonellosis in captive reptiles. **Canadian Journal of Comparative Medicine**, v. 49, p. 268-270, 1985.

POLI, C. R.; GRUMANN, A.; BORGHETTI, J. R. Situação Atual da Aqüicultura na Região Sul. In: COTRONI, W. (ed.) Aqüicultura no Brasil: bases para um desenvolvimento sustentável. São Paulo: CNPQ/MCT, 2000, 399p.

RAMOS, E.M. **Características Alométricas e químicas de rã tótu (Rana catesbeiana Shaw, 1802)**. 2000. 103f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

RADKOWSKI, M. Occurrence of *Salmonella spp.* in consumption eggs in Poland. **International Journal of Food Microbiology**, v. 64, p. 189-191, 2001.

RODRIGUES, R. L. et al. Avaliação bacteriológica de carne de rã (*Leptodactylus sp*) congelada, comercializada em Niterói, RJ. **Higiene Alimentar**, v. 8, n. 31, p. 19-24, 1994.

SHAIB, S. et al. Toads as reservoirs of Salmonella prevalence antibiogram. **Institute Journal Zoology**, v. 6, p. 82-84, 1979.

SHARMA, V.K.; KAURA, Y.K.; SINGH, I.P. Frogs as carriers of *Salmonella* and *Edwardsiella*. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 40, p. 171-175, 1974.

SHRIVASTAVA, K. P. Practicable suggestions for the prevention of the occurrence of Salmonella and Arizona group of organisms in frozen frog legs. **Seafood Export Journal**, v. 6, p. 41-46, 1974.

SILVA, N. R.; OLIVEIRA, L. A. T. Ocorrência de salmonela na carne de rã (*Rana catesbeiana*, shaw – 1803). **Higiene Alimentar**, v. 8, n. 31, p. 36-40, 1994.

SRIKANTIAH, P. et al. Salmonella enterica serotype Javiana infections associated with amphibian contact, Mississippi, 2001. **Epidemiology and Infection**, v. 132, p. 273-281, 2004.

TAUXE, R.V. et al. Turtle-associated salmonellosis in Puerto Rico. **Journal of the American Medical Association**, v. 254, p. 237-239, 1985.

TRICHOPOULOS, F. et al. Evaluation of methods for isolation *Salmonella* and *Arizona* organism from legs frogs. **Applied Microbiology**, v. 27, p. 8-10, 1971.

TRUST, T.J.; BARTLETT, K.H. Aquarium pets as a source of antibiotic-resistant salmonellae. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 25, p. 535-541, 1979.

TURNBULL, P.C.B. Food poisoning with special reference to Salmonella – its epidemiology, pathogenesis and control. **Journal of Clinical Gastroenterology**, v. 8, p. 663-713, 1979.

UNIVERSITY OF VIRGÍNIA. Zoonotic considerations for frog handlers. Disponível em <<http://www.virginia.edu/vprgs/iacuc/docs/Frog.pdf>>. Acesso em 02 de setembro de 2007.

USDHEW, R. Effects of gama irradiation on *Salmonella*. **Journal Food Protection Microbiology**, v. 1, n. 17, p. 67-70, 1978.

VIEIRA, M. I. **Rã touro gigante: características e reprodução**. 4ª ed. São Paulo: Prata Editora, 1993. 80p.

WEISS, L. H. N. et al. Ocorrência de *Salmonella* sp em suínos de terminação no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 22, n. 3, 2002.

WHO-WORLD HEALTH ORGANIZATION SCIENTIFIC WORKING GROUP. Enteric infections due to *Campylobacter*, *Yersinia*, *Salmonella* and *Shigella*. **World Health Organization**, v. 58, p. 519-537, 1980.

YDE, M.; MAEYER-CLEEMPOEL, S.; GHYLELS, G. The microbiological quality of retail frozen frog legs in Belgium. **Belgium Journal of Food Chemistry and Biotechnology**, v. 40, n. 1, p. 3-8, 1985.

8. ARTIGO CIENTÍFICO

Trabalho a ser enviado para a revista Journal Food Protection.

Journal of Food Protection[®] Instructions for Authors

SCOPE OF THE JOURNAL

The *Journal of Food Protection*[®] (*JFP*) is an international monthly scientific journal in the English language published by the International Association for Food Protection (IAFP). *JFP* is intended for publication of research and review articles on all aspects of food protection and safety. Major emphases of *JFP* are placed on studies dealing with (i) causes (microorganisms, chemicals, natural toxicants) and control of all forms of food-borne illness; (ii) hazards (microorganisms, allergens, chemicals), contamination (feces, insects, rodents) and their control in raw foods and in foods during processing, distribution, preparation, and service to consumers; (iii) causes of food spoilage and its control through processing (low or high temperatures, preservatives, drying, fermentation, irradiation, pressure, and other innovative technologies); (iv) microbiological food quality and methods to assay microbiological food quality; and (v) wastes from the food industry and means to use or treat the wastes.

Manuscripts of a sensitive nature. Bioterrorism and food security are of major concern to all involved in food production, processing, evaluation and distribution including members of IAFP. Manuscripts dealing with sensitive issues are expected to approach the subject from a preventative stance and not provide a how to guide. A review policy is used in the evaluation of manuscripts submitted for publication in journals printed by IAFP to minimize the possibility that their contents may be used to pose a food security threat.

Suitability of publication. Prospective authors with questions about the suitability of their research are invited to request an opinion from the Scientific Editors.

HOW TO SUBMIT MANUSCRIPTS

Submit manuscripts online at <http://foodprotection.allentrack.net>. Instructions for online submission are available at that site. Within 24 hours after receiving a confirmation E-mail from the Editorial Assistant containing links to the Mandatory Copyright form, a copy of the form must be E-mailed, faxed or mailed to the Editorial Assistant (address at the end of these instructions). All material dealing with affairs of the Association, book reviews, or news and events of interest to Members is published in *Food Protection Trends (FPT)*. Such material should be sent directly to Donna Bahun, *FPT* Production Editor at the Administrative Editor's address (address at the end of these instructions).

TYPES OF PAPERS

Research papers. Research papers report the results of original research which have not been published elsewhere. If the research has in part been previously reported, such as on a Web site, in a thesis or dissertation, or in another journal, this must be disclosed in the author's letter of submission. The journal will consider for publication research reports, which due to government regulations, have previously appeared on Web sites. A research paper usually consists of 10-12 double-spaced typewritten pages of text, the reference list, tables and figures. Research papers deal with its subject in some depth.

Research notes. A research note is a short paper that describes observations made in a limited area of investigation. Negative results are sometimes best reported in the form of a research note. However, the research note should not be used

as a vehicle for reporting results of inferior research. A research note usually consists of nine or fewer double-spaced typewritten pages of text and appropriate figures and tables. The author must specify that a manuscript is submitted as a research note so it can be properly evaluated during the review process.

Letter to the Editor. *JFP* invites Letters to the Editor. Letters commenting on articles printed in this publication are subject to review from the Scientific Editors before acceptance. Letters to the Editor are limited to no more than 5 double-spaced pages. The author of the article that is the focus of the letter is provided the opportunity to respond to the comments. This response is sent back to the author of the letter who is then given the option to continue with the publication process or to withdraw the Letter to the Editor. If withdrawn, neither the Letter to the Editor nor the author's response will be published. If not withdrawn, both the Letter to the Editor and the author's response will be published in their entirety. Please send all Letters to the Editor to the Administrative Editor at the address below.

PREPARATION OF MANUSCRIPTS

All parts of manuscripts must be typed fully double-spaced, at least 10-pt. type including references, tables, table captions, footnotes, and figure legends. Manuscripts must be in Word, WordPerfect or text formats. Page margins on all sides must be at least 1 in. (2.5 cm) wide. Lines on each page must be numbered to facilitate review of papers; but final revised manuscripts must NOT have line numbers. Number all pages, including tables and figures. *JFP* uses American conventions of spelling and punctuation.

Manuscripts are divided into sections, which must be arranged in the following order: Title page, Abstract, Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion, Acknowledgments, References, Figure legends, Tables, and Figures. Except for the introduction, all of these sections have separate headings, which should appear in the manuscript worded exactly as above. Subheadings take the form of paragraph lead-ins. Paragraph lead-ins should be boldface, indented, and run in with the text, separated by a period. Third-order subheadings will not be accepted. *JFP* follows many of the recommendations for manuscript preparation in the *ASM Style Manual*, 2nd ed., 1991, published by the American Society for Microbiology. Authors will find useful guidance concerning scientific nomenclature, abbreviations, numbers and measurement, English, references, tables, and figures, as well as a helpful bibliography. For further reference, see *Scientific Style and Format: The CBE Manual*, 6th ed., Cambridge University Press, 1994; and *The Chicago Manual of Style*, 15th ed., University of Chicago Press, 2003; and the bibliographies in these guides.

ORGANIZATION OF RESEARCH PAPERS AND RESEARCH NOTES

Title page. Type double-spaced on a separate page. At the top provide a running head indicating the topic of the paper. Then list the full title of the paper; the names of all authors; and name and address of the institution(s) or organization(s) where the work was done. When authors are affiliated with more than one department or unit within an institution or

with more than one institution, superscript numbers are used to indicate each author's address. Above the footnotes, supply a short title or running head and three to five key words, indicating the principal topics of the paper, to be used for indexing. Footnotes are used to give the present addresses of authors who are no longer at the institution(s) where the work was done. A footnote asterisk (*) must be placed after the name of the author to whom correspondence about the paper and proofs are to be sent. The telephone, fax, and E-mail numbers of this author are placed in the footnote of the author for correspondence. No manuscript text appears on the title page.

Abstract. An abstract of no more than 250 words must be placed on the second page of the paper to summarize the principal points of the study. The abstract does not contain references, figures, or tables. Abstracts are reprinted separately by abstracting services and therefore must be meaningful without reference to the body of the paper.

Introduction. The introductory section has no title and begins on the page following the abstract. It provides the reader with sufficient background information to evaluate the results of the research. An extensive review of the literature is not needed. The introduction also gives the rationale for and objectives of the study that is being reported.

Materials and Methods. Sufficient information must be provided so that another researcher can repeat the experiments that are described in the paper. If reference is made to a method published elsewhere in a journal or document that may not be readily available to most readers, then details of the method are to be included. If a published method is modified, such modification(s) must be described. Sources (company, city, state, or country) of unusual chemicals, bacterial strains, reagents, and equipment must be identified. Delete registered and trademarks when given with trade names.

Results. The Results section provides information by means of text, tables, and figures. Results and Discussion may be combined, or there may be a separate Discussion section. If a Discussion section is to be included, place extensive interpretations of results in the Discussion section. Tables and figures must be numbered in the order in which they are mentioned in the text. All tables and figures must be cited in the text. Tables and figures reporting results should not be cited in the Materials and Methods section.

Discussion. Do not extensively repeat the introduction or Results sections. Provide an interpretation of the results in relation to known information. Conclusions should be included in this section.

Acknowledgments. Acknowledge financial and personal assistance (sources other than your institution or any potential conflict of interest).

References. Number and order the references alphabetically by the last names of the authors between and within each reference. Order references chronologically only when all authors' names are the same. Only the first author's name and initials are inverted. All references **must** be cited in the text by italicized numbers in parentheses, with a space between the numbers of the references: (3, 7, 22). Journal names are italicized and abbreviated according to the style of *BIOSIS*. References may be made to papers that are in press, i.e., that have been accepted for publication. References for papers that have not been accepted for publication should be listed by the authors' names, as submitted for publication. Tables and figures follow the references (see preparation of figures section). Examples of different types of references are given below.

Paper in a journal

Cabedo, L., J. N. Sofos, and G. C. Smith. 1996. Removal of bacteria from beef tissue by spray washing after different times of exposure to fecal material. *J. Food Prot.* 12:1284-1287.

Paper or chapter in a book

West, D. I., and L. B. Bullerman. 1992. Physical and chemical separation of mycotoxins from agricultural products, p. 52-57. In J. E. Smith (ed.), *Mycotoxins and animal feeding stuffs*, vol. 4. CRC Press, Boca Raton, FL.

Book by author(s)

Pitt, J. I., and A. D. Hocking. 1997. *Fungi and food spoilage*. Blackie Academic and Professional, London.

Book by editor(s)

Doyle, M. P., L. R. Beuchat, and T. J. Montville (ed.). 1997. *Food microbiology: fundamentals and frontiers*. ASM Press, Washington, D.C.

Patent

Hussong, R. V., E. H. Marth, and D. G. Vakaleris. January 1964. Manufacture of cottage cheese. U.S. patent 3,117,870.

Publication with no identifiable author or editor

Anonymous. 1998. Guide to minimize microbial food safety hazards for fresh fruits and vegetables. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Food Safety and Applied Nutrition, Washington, D.C.

Electronic mail

E-mail messages should include the name of the person who sent the message, the date, the subject, the sender's E-mail address, and availability (if appropriate). Notaro, J. 13 June 1994. Banned in the USA [E-mail:jnotaro@ukans.edu]. Available from: the author at Smith@odo.msos.edu. If the subject is not available, the message should be listed as a Personal Communication. Sofos, J. N. 3 January 2001. Personal communication [E-mail: jsosofos@ceres.agsci.colostate.edu].

Web pages

Include author, date, title, availability information, and accession date, if needed. Anonymous. 19 February 2000. Avis du Centre national de reference des *Listeria* de l'Institut Pasteur [press release]. Available at: <http://www.agriculture.gouv.fr/actu/doss/com190200.htm>. U.S. Food and Drug Administration. 1999. Guidance for industry: reducing microbial food safety hazards for sprouted seeds. Docket no. 99D-4488. Available at: <http://vm.cfsan.gov/~dms/sprougd1.html>. Accessed 17 July 1999. Wang, S. L., and G. C. L. Chu. 2001. Evaluation of modified atmosphere packaging systems for retaining freshness of Ontario's fruit and vegetables. Available at: <http://gov.on.ca/OMAFREA.../archives/researchfund/ofpdocs/fp4041.html>. Accessed 9 November 2001.

Full-text articles obtained from an online source

For journals without volume and page information, a document number may be used:

Harrison, C. L., P. Q. Schmidt, and J. D. Jones. 2 January 1992. Aspirin compared with acetoaminophen for relief of headache. *Online J. Therap.* [serial online]. Doc. no. 1.

For journals with volume and page information, include same information as print journals as well as availability information and accession date:

Friedman, S. A. January 1988. Preeclampsia: a review of the role of prostaglandins. *Obstet. Gynecol.* [serial online] 71:22-37. Available from: BRS Information Technologies, McLean VA. Accessed 15 December 1990.

ORGANIZATION OF REVIEW OR GENERAL INTEREST PAPERS

Review or general interest papers must have a title page and an abstract as described in the section on research papers. The remainder of the text begins with an introductory statement and then is divided into appropriate sections with headings and subheadings. An acknowledgment section may come at the end of the text, followed by the references, as described for a research paper. Authors are encouraged to cite appropriate recent review papers in lieu of discussing numerous older papers.

PREPARATION OF TABLES

If submitting tables, the format must be XLS or DOC. Each table, comprising the title, body, and footnotes, must be typed double-spaced on a sheet of paper separate from the text. Number tables consecutively as cited in the text. The title is brief but fully descriptive of the information in the table. Headings and subheadings must be concise; abbreviations are used. Use no vertical rules and only three full horizontal rules: under the title, under the box heads, and at the bottom of the table. Use italic superscript letters for footnotes. Like data in columns reads down, not across. A well-organized table should be understandable without extensive reference to the text.

PREPARATION OF FIGURES

Type figure legends double-spaced in a list on a page separate from the figures. Number each consecutively as cited in the text. All illustrations, both line drawings and halftones (e.g., photographs), must be scanned prior to submission. Original figures should not be less than 85 mm wide and should not be framed with a box. Figures containing multiple components (e.g., 1A, 1B, 1C, etc.) should be mounted together on the same page with appropriate labels. Place the figure number on the upper-right hand corner of the page. Data presented in figures must not be repeated in tables.

Photographs can be printed in color, but there is an additional cost to the author. Authors who wish to publish color photographs must contact the Administrative Editor for cost estimates immediately upon acceptance of the manuscript.

Embed fonts when using Photoshop, CorelDraw, Illustrator and other graphics programs. If you do not embed your fonts, and we do not have them in our library, your figure will not convert to PDF.

If submitting electronic figures, the preferred formats are TIF, EPS, JPG, PDF or PS. The following native application file formats are also acceptable for final figures: Adobe Photoshop, Adobe Acrobat, Illustrator, Macromedia FreeHand, Corel Draw, Canvas, PowerPoint, Word and Excel. If you have other software, you should scan your figures and submit as TIF files. The resolution required for halftone and color images is 300 dots per inch (dpi); line is usually good at 300 dpi, but if there are fine lines and screens, figures should be scanned at 600 dpi. Please note that images that are in JPG or GIF format are normally 72 dpi and not acceptable for printing. Digital color files must be submitted in CMYK mode.

All images that have been placed or imported into your figure file must accompany the figure file at the final submission. Rationally name each figure or photo. For example, save a photograph as photo.tif.

COMMON ABBREVIATIONS

Frequently used acceptable abbreviations are given below. For further details on abbreviations, see the current edition of the *ASM Style Manual*. Note that a period is used with some but not all abbreviations. Abbreviations of non-SI units (e.g., atm) must be followed by the corresponding converted quantity and SI unit in parentheses: 1 atm = 101.29 kPa. (Exception: lb/in².)

ångström, Å	lux, lx
atmosphere, atm	meter, m
base pairs, bp	microequivalent, μeq
British thermal unit, BTU	microgram, μg
calorie, cal	microliter, μl
centimeter, cm	micrometer, μm
CFU (never spelled out: colony-forming units)	micromole, μmol
cubic centimeter, cm ³	milliequivalent, meq
day (no abbreviation)	milligram, mg
degree Celsius, °C	milliliter, ml
degree Fahrenheit, °F	millimeter, mm
diameter, diam	millimolar, mM
enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA	minute(s), min
equivalent weight, equiv wt	molar, M
fluid ounce, fl oz	mole, mol
foot (feet), ft	most probable number, MPN
gallon, gal	nanometer, nm
gram, g	normal, N
gravity, g	number, no.
hour(s), h	parts per billion, ppb
inch, in.	parts per million, ppm
international unit, IU	percent, %
intramuscular, i.m.	PCR (never spelled out: polymerase chain reaction)
intraperitoneal, i.p.	pound, lb
intravenous, i.v.	pounds per square inch, lb in ²
kilocalorie, kcal	revolutions per minute, rpm
kilogram, kg	second, s
kilometer, km	species (singular), sp.
lethal dose, median, LD ₅₀	species (plural), spp.
liter (no abbreviation)	specific activity, sp act
logarithm (base 10), log	UV (never spelled out: ultraviolet)
logarithm (base e), ln	volume, vol
lumen, lm	weight, wt

POLICY ON COMMERCIALISM

Manuscripts submitted for consideration for publication in *JFP* are not to be used as a platform for commercialism or the promotion of branded products or services. References to branded products or services except as may be warranted by scientific merit and research data or as are necessary for the understanding evaluation and replication of the work described are to be avoided. However, scientific merit should not be diluted by proprietary secrecy. The excessive use of brand names, product names, logos or trade names, failure to substantiate performance claims, and the failure to objectively discuss alternative methods, processes, products and equipment may be considered indicators of commercialism. Disclosure and acknowledgment of both funding sources and any conflicts of interest by the authors is encouraged. Restricting commercialism benefits the authors and the audience of *JFP*.

The Scientific Editor shall in his or her sole discretion, determine whether a submitted manuscript violates this policy on commercialism.

REVIEW PROCEDURE

Authors of manuscripts submitted for consideration to be published in *JFP* are notified by E-mail when the manuscripts are received. Authors can monitor the status of their papers by logging on to <http://foodprotection.allentrack.net>. Authors are responsible for their login ID and password throughout the review process. The manuscript number assigned must be included in all future correspondence and on the revised manuscript for identification. Manuscripts are accepted for publication only after they have been reviewed by two or more members of the Editorial Board or by others with the requisite expertise. After review, the manuscript is returned to the author for revision in accord with suggestions made by the reviewers and the Editor. Authors can hasten publication of their papers by submitting well-written manuscripts conforming to *JFP* style and by revising and returning manuscripts promptly. If, after review of a manuscript is completed, the author chooses to withdraw rather than to revise the paper, the Scientific Editor must be notified promptly. If the author does not respond within two months after a reviewed paper is returned, the paper will be considered withdrawn. Authors are notified by E-mail when a manuscript has or has not been accepted for publication. Page proofs of accepted manuscripts are sent to the author for correction. They should be proofread carefully according to the instructions attached and returned within four days. Authors will be charged for major revisions to their manuscripts.

Membership in the Association is not a prerequisite for acceptance of a manuscript for publication. Non-member scientists are invited to submit papers for consideration for publication.

The Scientific Editors assume that the corresponding author has received proper clearance from his or her organization and from co-authors for review and publication of the paper. It is also assumed that the paper is not being considered for publication in any other journal or publication.

Authors are responsible for the scientific accuracy of their papers. *JFP* assumes no responsibility for errors made, including those that may be made in the copy-editing process, or conclusions reached by authors.

Papers accepted for publication become the copyrighted property of *JFP* and IAFP. No part of the publication may be reproduced or transmitted in any form, or by any means, electronic or mechanical, including photocopy, recording, or any information storage and retrieval system, except in limited quantities for the non-commercial purposes of scientific or educational advancement, without permission in writing from the Administrative Editor.

MANUSCRIPT SERVICE CHARGE

A page charge of US\$90 per printed page for Members of IAFP, or US\$120 per printed page for nonmembers for publication of all research papers and notes, and US\$45 per printed page of all submitted review and general interest papers will be assessed. Review papers invited by one of the Scientific Editors are exempt from the manuscript service charge.

Organizations and institutions commonly accept the manuscript service charge as a necessary cost of conducting research and communicating the results. An exemption from payment of the page charge will be made only under extenuating circumstances that must be described by the author(s) when it is first submitted.

Authors will be informed of the actual cost of the manuscript service charge upon receipt of proofs of the paper. Arrangements for payment of the manuscript service charge must be made at that time.

REPRINTS

Reprints of a paper may be ordered by the author when the page proofs are returned. Reprint orders must be received prior to the printing of the journal. An appropriate form for this purpose is attached to the proofs. Paper or electronic reprints are available. The cost varies according to the number of pages in a paper and whether or not covers are ordered. No free reprints are provided.

The Association office can supply photocopies of any papers published in *JFP* or its predecessors, the *Journal of Milk and Food Technology* and the *Journal of Milk Technology*. Arrangements to obtain such reprints are made with the Order Processing Department.

INDEXES

The *Journal of Food Protection* is indexed in *Index Medicus*, *Current Contents*, *Biological Abstracts*, *Chemical Abstracts*, *Food Science and Technology Abstracts*, *Microbiological Abstracts (CAS)*, *BIOSIS*, *Dairy Science Abstracts*, *Zeitschrift für Lebensmittel untersuchung und Forschung*, *Milchwissenschaft*, and *Barbour Index*.

CORRESPONDING ADDRESS

Journal of Food Protection
Attn: Tamara P. Ford, Administrative Editor
Didi Loynachan, Editorial Assistant
6200 Aurora Avenue, Suite 200W
Des Moines, IA 50322-2864, USA
Phone: 515.276.3344
Fax: 515.276.8655
E-mail: tford@foodprotection.org
dloynachan@foodprotection.org

Occurrence of *Salmonella* spp. in carcasses and viscera of frogs (*Rana cateisbeiana* – Bullfrog): evaluation of the process of slaughter

¹Rodrigo Alfani ²Ana Cláudia Faria Borges ³José Paes de Almeida Nogueira Pinto

¹School of Veterinary Medicine and Animal Science – São Paulo State University - Botucatu/SP/Brazil; ²School of Veterinary Medicine and Animal Science – Social Integration Pioner Union – Brasília/DF/Brazil; ³School of Veterinary Medicine and Animal Science – São Paulo State University - Botucatu/SP/Brazil

Author for correspondence. Tel: 55211438116273; Fax: 55211438156024; Email:

josepaes@fmvz.unesp.br

ABSTRACT

The study aimed to assess the occurrence of *Salmonella* spp. in several parts of the flowchart of the slaughter of frogs (*Rana catesbeiana* - Bullfrog), since the waiting pens until the final product, as well as in viscera not edible and in the liver. Of the 120 samples analyzed over the slaughter (15 samples per point / 8 points of collection), 39 (32,5%) have proved positive, regardless of the point of harvest. For these, obtained the following results: 26,7% of positivity in the water of waiting pens, 13,3% after stunning and after the bleeding, 26,7% after the withdrawal of skin, 46,7% after evisceration, 40% in the final product not packed and for the viscera, and 53,3% for the liver. It follows that the meat of frog, the final product, obtained under the conditions studied, may represent a serious risk to public health, as a vehicle of *Salmonella* spp. The contamination detected in the various points of collection occurs in a gradual and continuous course of the slaughter. In stages studied, the evisceration is the most critical point of the contamination by *Salmonella* spp. It's necessary establish critical control points in the process of slaughter and, therefore, correct actions to minimize such contamination.

INTRODUCTION

Food safety to public health is very important, especially when considered the current data concerning the emergence and resurgence of various foodborne diseases (10). This significant increase in cases of foodborne diseases have been observed in many countries in recent years (12). Vehicles in most outbreaks are foods from animal origin, that may have come into contact with a pathogen of relevance in relation to the Public Health during his obtaining or processing (8).

The infections caused by bacteria of the genus *Salmonella* are universally regarded, at the present time, as one of the most important causes of foodborne diseases (13).

Salmonella spp. is widely distributed in nature, and the intestinal tract of humans and animals, the main natural reservoir. It can be found in birds, pigs, cattle, equines and wild animals (rodents, amphibians and reptiles), and in many outbreaks of foodborne infection caused by *Salmonella*, the meat, among varied types of foods, is the most commonly involved (6).

In amphibians, the first report of isolation of *Salmonella* was in 1958, where 15 of 27 frogs were positive for the pathogen (3). Despite these findings *Salmonella* in amphibians, few reports are found about their incidence in these animals (4). Official organs of public health shows that amphibians in general may harbor *Salmonella* (17, 2) and frogs can be considered reservoirs for *Salmonella* spp. (18).

It's important that the consumption of frog's meat has shown significant increase in Brazil (5), even being consumed by the elderly and children in hospitals, people who are more susceptible to infections. So if on the one hand this meat has a high nutritional value, on the other hand, should give a good microbiological quality, as these consumers also have greater susceptibility to diseases transmitted by food. Hence the great importance of their safety from a microbiological point of view (14).

OBJECTIVES

This work aimed to:

- c) evaluate the occurrence of *Salmonella* spp. in the process of the slaughter of frogs;
- d) determine the critical stages of contamination by this pathogen during the process.

MATERIALS AND METHODS

The work was conducted in a frog slaughterhouse, with registration at the Federal Inspection Service of the Ministry of Agriculture, Livestock and Supply (MAPA) and established in Federal District, Brazil.

The frog carcasses were analysed in different points of the slaughter process, beyond the collection and analysis the water of waiting pens, liver and viscera of animals, harvested in the period from January to September of 2007.

Randomly 120 samples were collected, being 15 for each point of the process as described below: rinse the carcasses of frogs after stunning, after the bleeding, after the withdrawal of skin, after evisceration and the final product not packed, and yet, collection and analysis of water from the waiting pens, viscera and liver.

The methodology used was recommended by the International Organization for Standardization, International Standard ISO 6579:2002 - Microbiology of food and animal feeding stuffs (Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp.), with modifications (7).

In every point of the process the carcasses rinses were performed in sterile plastic bags, with 300 ml of buffered peptone water (BPW; Oxoid) for about 3 minutes, and those carcasses were discarded, preserving only the rinses liquid to search the pathogen.

For the water samples of waiting pens, 25 ± 0.2 ml were pipetted and for the viscera and livers were weigh 25 ± 0.2 g of sample in sterile plastic bags. In both were added 225 ml of buffered peptone water, and homogenized for 60 seconds. For all samples, including the rinses, the temperature of incubation used in this step of pre-enrichment was from $37 \pm 1^\circ\text{C}$ for 18 hours \pm 2 hours.

From the pre-enriched mixture, were transferred aliquots of 0.1 ml to tubes containing 10 ml of Rappaport-Vassiliadis Soya Peptone broth (RVS; Oxoid) and 1 ml to tubes containing 10 ml of Muller-Kauffmann Tetrathionate broth base (MKTTn; Oxoid) supplemented with iodine (Sigma-Aldrich) and novobiocin (Sigma-Aldrich). The tubes of RVS were incubated at $41,5 \pm 1^\circ\text{C}$ in water-bath with agitation for 24 hours (± 3 hours) while the broth MKTTn was incubated for 24 hours (± 3 hours) at $37 \pm 1^\circ\text{C}$ in water-bath with agitation.

The selective enrichment broths (RVS and MKTTn) with the aid of handles with 3mm of diameter, were streaked onto the surface previously dry of Xilose Lysine Desoxycholate agar (XLD; Difco, Becton Dickinson) and Mannitol Lysine Crystal Violet Brilliant Green agar (MLCB; Oxoid), to get isolated colonies. The plates were incubated at $37 \pm 1^\circ\text{C}$ for 24 hours (± 3 hours).

After incubation, the plates were examined for the presence of typical colonies of *Salmonella*, and than picked to tubes containing Triple Sugar-Iron agar (TSI; Difco, Becton Dickinson) and Lysine Iron agar (LIA; Difco, Becton Dickinson), both incubated at $37 \pm 1^\circ\text{C}$ for 24 hours (± 3 hours).

After incubation, the colonies that developed morfological characteristics typical for the genus searched were subjected to other biochemical tests described below: production of urease, detection of beta-galactosidase, Voges-Proskauer and indol reactions.

For those cultures that had biochemical behavior consistent with *Salmonella* spp., serologic tests were performed with the polyvalent "O" antiserum (Probac, Brazil), to confirmation the result. The results were expressed as Presence or Absence of *Salmonella* spp.

RESULTS AND DISCUSSION

The results for the 120 samples analyzed in relation to the presence or absence of *Salmonella* spp., regardless of the point of collection, are in Table 1.

Table 1 – Number (N^o) and percentage (%) of negative and positive samples for *Salmonella* spp. regardless of the point of harvest within the flow of slaughter of frogs.

Samples	Nº (%)
Negative	81 (67,5)
Positive	39 (32,5)
TOTAL	120 (100)

At all points of collection tested, samples were found positive for the pathogen, and the percentage of these ranged from 13,3% to 53,3% (Table 2).

Table 2 – Number (Nº) and percentage (%) of positive samples for *Salmonella* spp. in each of the points in the flow of slaughter of frogs (15 samples per point).

Points	Nº of samples analysed	Nº (%) of positive samples
Water – Waiting pens	15	4 (26,7)
After Stunning (carcass)	15	2 (13,3)
After the Bleeding (carcass)	15	2 (13,3)
After the Withdrawal of Skin (carcass)	15	4 (26,7)
After Evisceration (carcass)	15	7 (46,7)
Final Product (carcass)	15	6 (40)
Víscera	15	6 (40)
Liver	15	8 (53,3)

The contamination has been observed in the water of waiting pens (1st point of harvest in the flowchart), from those 15 samples researched, 4 (26,7%) were positive. During the harvests, it was observed with frequency that the water were with accumulation of organic residues, being small the flow of its replacement in tanks.

The occurrence of positive samples in this point of harvest indicates that some of animals were harboring the agent, when it reaches the waiting pens, this would confirm the account of other researchers that shows be the frog a reservoir of this pathogen. Sharma et al. (15) in Italy isolated *Salmonella* spp. in 18 samples (14%) of the gastrointestinal tract in a total of 129 animals examined. The most frequently serotypes found were those, according to the

authors, have major epidemiologic importance, as there was an association of the same serotypes with diseases in several animal species and humans. Nickelson et al. (11) also isolated *Salmonella* spp. in internal organs from 10 frogs (22,2%), in a total of 45 analyzed. The same percentage of contamination was also obtained by Andrews (1). Both groups of researchers strengthened the role of frogs as a reservoir of *Salmonella*. Bartlett et al. (2) isolated the pathogen in 25% of water samples from aquariums where they were. Moreno (9), found positivity of 60% for *Salmonella* spp. in frogs of the species *Rana perezi*. More recent data published by Chambers & Hulse (4) reinforced once again the role of amphibians as reservoirs of *Salmonella* spp., since 36 of 92 samples of cloacal swabs in that group of animals proved positive for the pathogen, corresponding to 39,1% of the total analyzed.

The initial contamination detected in waiting pens may have been reflected in the number of positive samples found in the next two points of collection in flowchart of slaughter: after stunning and after the bleeding of animals. In both, the percentage of positive samples was 13,3% (2 positive samples).

The results obtained in steps of the withdrawal of the skin and after evisceration make it clear that the contamination increases with percentages of positivity of 26,7% and 46,7% respectively.

One greatest contamination was also observed in final product (40%), in viscera (40%) and in liver (53,3%).

The evisceration seems to be the critical stage, because there was an increase of, approximately, 75% in the occurrence of the pathogen (from 26,7% to 46,7%). In subsequent points the results remain practically constant, although still in a high level (viscera and final product = 40%).

Of all the samples evaluated, the livers were those that had the highest rate of positivity for *Salmonella* spp. (53,3%). Besides the fecal contamination that may have occurred during evisceration, these viscera are also subjected to intense manipulation, factor that can explain these high values for the pathogen.

The contamination of the final product, although lower (40%), is worrying from the point of view of public health, being a reflection of all previous steps, from the pre-slaughter,

until his release in primary packaging. Placed in retail trade in these conditions can serve as a vehicle for the occurrence of cases and/or outbreaks of salmonellosis in human.

Other results relating the contamination of the final product, although sparse, can be found in the literature and these results are quite variable, although, in most cases, reveal a high number of positive samples for *Salmonella* spp. Yde et al. (19) in Belgium analyzed 75 samples of frogs frozen meat and found 71% of positivity for the pathogen. In Brazil, different results were observed by Silva & Oliveira (16) working with samples of frogs meat from two different slaughterhouses (A and B). In the first (slaughterhouse A), monitored by the Federal Inspection Service (SIF) of the Ministry of Agriculture, Livestock and Supply (MAPA), all samples (80) were negative for *Salmonella* spp., and in B ("domestic slaughterhouses"), 21,2% were positive.

6. CONCLUSIONS

Based on the results obtained, it's concluded that:

- the meat of frog, final product, obtained under the conditions studied, may represent a serious risk to public health, as a vehicle for *Salmonella* spp.
- the contamination detected in the various points of collection occurs in a gradual and continuous in the elapse of slaughters course.
- from steps studied, the evisceration is the most critical of the contamination by *Salmonella* spp.
- it's necessary implantation critical control points in the process of slaughter and, therefore, corrective actions to minimize such contamination.

7. REFERENCES

1. Andrews, W. H. 1977. Comparison of methods for the isolation of *Salmonella* from imported frog legs. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 33, n. 1, p. 65-68.
2. Bartlett, K.H., Trust, T.J. , and Lior, H. 1977. Small pet aquarium frogs as a source of *Salmonella*. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 33, n. 5, p. 1026-1029.
3. Bool, P. H., and Kempelmacher, E. H. 1958. Some data on the occurrence of *Salmonella* in animals in Surinam. *Antonie van Leeuwenhoek*, v. 24, p. 76-80.

4. Chambers, D. L., and Hulse, A. C. 2006. *Salmonella* serovars in the herpetofauna of Indiana county, Pennsylvania. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 72, n. 5, p. 3771-3773.
5. Feix, R. D., Abdallah, P. R., and Figueiredo, M. R. C. 2006. Resultado econômico da criação de rã em regiões de clima temperado, Brasil. *Informações Econômicas*, v. 36, n. 3.
6. Franco, B. D. G. M. , and Landgraf, M. 1996. *Microbiologia dos alimentos*. Editora Atheneu, São Paulo.
7. ISO. International Organization for Standardization. International Standard ISO 6579:2002. Microbiology of food and animal feeding stuffs (Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp).
8. Mancha, J.S. 1999. *Salmonella* sp en tres tipos de chorizos como peligro dentro de un sistema de análisis de riesgo e identificación de puntos críticos de control (HACCP), em uma empacador de la ciudad de México. *Revista Veterinária México*, v. 30, n. 2, p. 157-165.
9. Moreno, C.M. 1995. Occurrence of *Salmonella* in cold-blooded animals in Gran Canária, Canary Islands, Spain. *Antonie van Leeuwenhoek*, v. 68, p. 191-194.
10. Nascimento, S. P. 2002. Rastreabilidade assegura a qualidade da carne bovina. *Revista Higiene Alimentar*, v. 16, n. 94, p. 20-25.
11. Nickelson, R, Wyatt, L.E., and Vanderzant, C. 1975. Reduction of *Salmonella* contamination in commercially processed frog legs. *Journal of Food Science*, vol. 40, n. 6, p. 1239-1240.
12. Radkowski, M. 2001. Occurrence of *Salmonella* spp.. in consumption eggs in Poland. *International Journal of Food Microbiology*, v. 64, p. 189-191.
13. Reu, K.. 2005. The use of total aerobic and Gram-negative flora for quality assurance in the production chain of consumption eggs. *Food Control*, v. 16, p. 147-155.
14. Rodrigues, R. L.. 1994. Avaliação bacteriológica de carne de rã (*Leptodactylus* sp) congelada, comercializada em Niterói, RJ. *Higiene Alimentar*, v. 8, n. 31, p. 19-24.
15. Sharma, V.K., Kaura, Y.K., and Singh, I.P. 1974. Frogs as carriers of *Salmonella* and *Edwardsiella*. *Antonie van Leeuwenhoek*, v. 40, p. 171-175.

16. Silva, N. R., and Oliveira, L. A. T. 1994. Ocorrência de salmonela na carne de rã (*Rana catesbeiana*, shaw – 1803). Higiene Alimentar, v. 8, n. 31, p. 36-40.
17. Trichopoulos, F. 1971. Evaluation of methods for isolation *Salmonella* and *Arizona* organism from legs frogs. Applied Microbiology, v. 27, p. 8-10.
18. University of Virginia. Zoonotic considerations for frog handlers. 2007. Available at: <http://www.virginia.edu/vprgs/iacuc/docs/Frog.pdf>. Accessed 02 september 2007.
19. Yde, M., Maeyer-Cleempoel, S. and Ghylels, G. 1985. The microbiological quality of retail frozen frog legs in Belgium. Belgium Journal of Food Chemistry and Biotechnology, v. 40, n. 1, p. 3-8.

[HOME](http://www.foodprotection.org/publications/jfp.asp): <http://www.foodprotection.org/publications/jfp.asp>

Detailed Status Information

Manuscript #	JFP-07-678
Current Revision #	0
Submission Date	2007-12-27 16:50:02
Current Stage	Initial QC Started
Title	Occurrence of Salmonella spp. in carcasses and viscera of frogs (Rana cateisbeiana - Bullfrog): evaluation of the process of slaughter
Running Title	Evaluation of the process of slaughter
Manuscript Type	Research Paper
Corresponding Author	Rodrigo Alfani (UNESP - BOTUCATU - SP)
Contributing Authors	Rodrigo Alfani , Ana Borges , José Pinto
Abstract	<p>The study aimed to assess the occurrence of Salmonella spp. in several parts of the flowchart of the slaughter of frogs (Rana catesbeiana - Bullfrog), since the waiting pens until the final product, as well as in viscera not edible and in the liver. Of the 120 samples analyzed over the slaughter (15 samples per point / 8 points of collection), 39 (32,5%) have proved positive, regardless of the point of harvest. For these, obtained the following results: 26,7% of positivity in the water of waiting pens, 13,3% after stunning and after the bleeding, 26,7% after the withdrawal of skin, 46,7% after evisceration, 40% in the final product not packed and for the viscera, and 53,3% for the liver. It follows that the meat of frog, the final product, obtained under the conditions studied, may represent a serious risk to public health, as a vehicle of Salmonella spp. The contamination detected in the various points of collection occurs in a gradual and continuous course of the slaughter. In stages studied, the evisceration is the most critical point of the contamination by Salmonella spp. It's necessary establish critical control points in the process of slaughter and, therefore, correct actions to minimize such contamination.</p>
Keywords	Slaughter, Frog's meat, Frog, Rana cateisbeiana, Salmonella

Initial QC Started	2007-12-27 20:23:57
Author Approved Converted Files	2007-12-27 20:23:57
Waiting for Author Approval of Converted Files	2007-12-27 20:21:20
File Conversion Complete	2007-12-27 20:21:19
Waiting for File Conversion	2007-12-27 20:20:35
Waiting for Files to be Sorted	2007-12-27 20:14:38
Manuscript Submitted	2007-12-27 20:14:38
Manuscript Files Submitted	2007-12-27 20:14:38

For assistance, please contact the editorial office. E-mail:
dloynachan@foodprotection.org

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)