



UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE ARAGUAÍNA
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SANIDADE ANIMAL E SAÚDE
PÚBLICA NOS TRÓPICOS (PPGSaspt)

HELLEN NÚBIA CARLOS MACIEL MIRANDA

**DETECÇÃO DE *Salmonella* spp. EM NÚCLEOS AVÍCOLAS DE AVES CAIPIRAS
DE CORTE E COMPARAÇÃO DA QUALIDADE E SEGURANÇA
MICROBIOLÓGICA DE FRANGOS INSPECIONADOS E CLANDESTINOS**

ARAGUAÍNA – TO

2022

HELLEN NÚBIA CARLOS MACIEL MIRANDA

**DETECÇÃO DE *Salmonella* spp. EM NÚCLEOS AVÍCOLAS DE AVES CAIPIRAS
DE CORTE E COMPARAÇÃO DA QUALIDADE E SEGURANÇA
MICROBIOLÓGICA DE FRANGOS INSPECIONADOS E CLANDESTINOS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Tocantins – UFT, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Sanidade Animal e Saúde Pública nos Trópicos.

Orientador: Prof.^a Dr.^a Katyane de Sousa Almeida

Coorientador: Prof.^o Dr.^o José Carlos Ribeiro Júnior

ARAGUAÍNA – TO

2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Tocantins

- C284d Carlos Maciel Miranda, Hellen Núbia .
Detecção de Salmonella spp. em núcleos avícolas de aves caipiras de corte e comparação da qualidade e segurança microbiológica de frangos inspecionados e clandestinos. / Hellen Núbia Carlos Maciel Miranda. – Araguaína, TO, 2022.
68 f.
Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade Federal do Tocantins – Câmpus Universitário de Araguaína - Curso de Pós-Graduação (Mestrado) em Sanidade Animal e Saúde Pública nos Trópicos, 2022.
Orientadora : Katyane De Spusa Almeida
Coorientador: José Carlos Ribeiro Júnior
1. Manejo sanitário e práticas sanitárias como fator de risco para biossegurança em granjas de galinhas caipiras. 2. Período sazonal como fator de risco para Salmonella spp. na produção de frangos de corte. 3. Presença de E. coli STEC produtora de toxina shiga em carne de frango. 4. Perda de controle sanitário. I. Título

CDD 636.089

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS – A reprodução total ou parcial, de qualquer forma ou por qualquer meio deste documento é autorizado desde que citada a fonte. A violação dos direitos do autor (Lei nº 9.610/98) é crime estabelecido pelo artigo 184 do Código Penal.

Elaborado pelo sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFT com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

HELLEN NÚBIA CARLOS MACIEL MIRANDA


DETECCÃO DE *Salmonella* spp. EM NÚCLEOS AVÍCOLAS DE AVES CAIPIRAS DE CORTE E
COMPARAÇÃO DA QUALIDADE E SEGURANÇA MICROBIOLÓGICA DE FRANGOS
INSPECIONADOS E CLANDESTINOS

FOLHA DE APROVAÇÃO


Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Sanidade Animal e Saúde Pública nos Trópicos (PPGSaspt) como requisito para obtenção do Título de Mestre em Sanidade Animal e Saúde Pública nos Trópicos e aprovada em sua forma final pelo orientador e pela Banca examinadora.

Aprovada em: 15 / JULHO / 2022


Banca Examinadora:

Documento assinado digitalmente
 KATYANE DE SOUSA ALMEIDA
Data: 11/09/2022 18:42:27-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Professora Dra. Katyane de Sousa Almeida UFT - (Orientadora)

Documento assinado digitalmente
 Jose Carlos Ribeiro Junior
Data: 12/09/2022 09:08:02-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Professor Dr. José Carlos Ribeiro Júnior

Documento assinado digitalmente
 CATIA MARIA DE OLIVEIRA LOBO
Data: 13/09/2022 12:19:16-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Professora Dra. Cátia Maria de Oliveira Lobo

Dedico este trabalho à minha família, que me apoiou com palavras e grande ajuda nos momentos em que precisei me ausentar das obrigações familiares, em especial à minha mãezinha Helena Carlos Maciel, meu Esposo João André Mendes de Miranda e meus filhos João e Ana Helena que foram compreensivos e amorosos mesmo nos momentos em que eu não pude dar atenção no período da pós-graduação. Todo o meu amor e gratidão a vocês.

AGRADECIMENTOS

À Prof. Dra. Katyane de Sousa Almeida, pela orientação e ensinamentos que foram pautados durante todo o processo, em sensibilidade, paciência e compreensão, permitindo que eu notasse e usufrísse de toda a luz que habita em seu ser. És além de uma profissional irretocável, um ser humano incomum por todas as qualidades em reúne e por toda a generosidade que entregas.

À Universidade Federal do Tocantins e ao Programa de Pós-graduação em Sanidade Animal e Saúde Pública nos Trópicos, na pessoa do Coordenador do programa de pesquisa e pós-graduação.

Aos professores do PPGSaspt e em especial ao Prof. Dr. José Carlos Ribeiro Júnior que permitiu por meio de sua coorientação a realização da pesquisa no Laboratório de Microbiologia de Alimentos, por todos os ensinamentos e apoio pautados em generosidade e alegria.

A todas as pessoas que participaram direta e indiretamente na elaboração deste trabalho, em especial à Cristiane Alves Nascimento, Ezio Machado, Claudio Roberto, Bianca Pereira, Isac Gabriel, Yron, Elifaz, Nara Teles, Jeyce Kelle Mendonça, Fernando Loiola, aos colaboradores auxiliares de serviços gerais da escola de medicina veterinária e zootecnia e, aos colegas de trabalho do Serviço de Inspeção Estadual que me ajudaram, sendo compreensivos e apoiando em todas as fases da pós-graduação, Antonio José Caminha de Sousa, Leandro Pereira da Silva, Marcela Aquino Almeida .

RESUMO

O consumo de carne de frango é associado a importantes Doenças Veiculadas por Alimentos (DVA) e por essa razão toda a cadeia produtiva segue normas que objetivam a produção de proteína avícola com qualidade e segurança microbiológica. A pesquisa objetivou avaliar os métodos de coleta ambiental com suabe de arrasto, propés e coleta direta de excrementos aviários para detecção de *Salmonella* spp. em núcleos avícolas de aves caipiras, em dois períodos sazonais (chuva e estiagem) e; comparar a qualidade e segurança microbiológica de frangos inspecionados e clandestinos. Para a comparação da eficácia entre os métodos de coleta, cinco núcleos aviários de corte foram testados, nas épocas da chuva e estiagem para pesquisar *Salmonella* spp. com confirmação do patógeno por reação em cadeia de polimerase (PCR). Para a comparação da qualidade e segurança microbiológica, foram adquiridas 31 carcaças de frangos inspecionados (serviço de inspeção federal - SIF e estadual - SIE) e sem inspeção, e pesquisados coliformes a 30 °C e a 45 °C, aeróbios mesófilos, psicotróficos, *Staphylococcus* coagulase positiva e os patógenos *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes* utilizando análises microbiológicas e biomoleculares. A estatística foi feita por Análise de Variância com aplicação do Teste F e sequente Teste de Tukey. A presença de *Salmonella* spp. foi detectada em núcleos aviários nos dois períodos sazonais e os métodos de coleta avaliados foram considerados eficazes em qualquer período ($p < 0,005$). Na comparação da qualidade e segurança microbiológica das amostras de frango inspecionados e clandestinos, as amostras tiveram pelo menos um dos indicadores de qualidade microbiológica acima do limite estabelecido (para aeróbios mesófilos 9,9% das 11 amostras e 20% das 10 amostras com SIF e SIE, respectivamente, apresentaram resultados acima do limite microbiológico estabelecido em norma brasileira, enquanto 70% das 10 amostras sem inspeção tiveram resultados acima do parâmetro), bem como foi isolado pelo menos um dos patógenos pesquisados. *Staphylococcus* coagulase positiva em frangos oriundos de abate clandestino se mostrou com contagens mais elevadas quando comparado às amostras inspecionadas ($p < 0,005$) e para *Salmonella* spp. as amostras de frangos SIE ($p < 0,005$) apresentaram positividade superior (100% das amostras) em relação às amostras de SIF e clandestino. Os resultados encontrados nas amostras inspecionadas denotam falhas no processo que são passíveis de ações corretivas o que possibilita a obtenção de carne de aves com segurança microbiológica, sem prejuízos à saúde pública. No entanto, a ausência de fiscalização e inspeção sanitária em locais de abate clandestino, configura potenciais perigos para o consumidor e, conseqüentemente riscos à saúde pública.

Palavras chaves: *E. coli*, frango clandestino, indicadores de qualidade, suabe de arrasto, propé

ABSTRACT

The consumption of chicken meat is associated with important Foodborne Diseases (DVA) and for this reason the entire production chain follows standards that aim to produce poultry protein with quality and microbiological safety. The research aimed to evaluate the methods of environmental sampling with drag swab, props and direct collection of avian droppings for the detection of *Salmonella* spp. in poultry nuclei of free-range birds, in two seasonal periods (rain and drought) and; to compare the quality and microbiological safety of inspected and clandestine chickens. In order to compare the effectiveness between the collection methods, five avian broiler nuclei were tested, in the rainy and dry seasons to search for *Salmonella* spp. with confirmation of the pathogen by polymerase chain reaction (PCR). For the comparison of quality and microbiological safety, 31 carcasses of inspected and uninspected chickens were acquired, and coliforms at 30 °C and 45 °C, mesophilic and psychrotrophic aerobes, coagulase-positive *Staphylococcus* and the pathogens *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* using microbiological analysis and PCR confirmation using known and well-established methodologies. Statistics were performed by Analysis of Variance with application of the F Test and subsequent Tukey Test. The presence of *Salmonella* spp. was detected in avian nuclei in both seasonal periods and the collection methods evaluated were considered effective in any period ($p < 0.005$). When comparing the quality and microbiological safety of the inspected and clandestine chicken samples, the samples had at least one of the microbiological quality indicators above the established limit (for mesophilic aerobics 9.9% of the 11 samples and 20% of the 10 samples with SIF and SIE, respectively, presented results above the microbiological limit established in the Brazilian standard, while 70% of the 10 samples without inspection had results above the parameter), as well as at least one of the studied pathogens was isolated. Coagulase positive *Staphylococcus* in chickens from clandestine slaughter showed higher counts when compared to inspected samples ($p < 0.005$) and for *Salmonella* spp. the SIE chicken's samples ($p < 0.005$) showed higher positivity (100% of the samples) compared to the SIF and clandestine samples. The results found in the inspected samples denote failures in the process that are subject to corrective actions, which makes it possible to obtain poultry meat with microbiological safety, without harm to public health. However, the absence of inspection and sanitary inspection in places of clandestine slaughter constitutes a potential dangers to the consumer and consequently risks to public health.

Keywords: drag swab, props, *E. coli*, quality indicators, clandestine chicken.

SUMÁRIO

CAPÍTULO I

1	INTRODUÇÃO	10
2	OBJETIVOS.....	12
2.1	Objetivo geral	12
2.2	Objetivos Específicos.....	12
3	REVISÃO DE LITERATURA	13
3.1	Importância da avicultura no Brasil e no mundo.....	13
3.2	Sistemas de criações de aves caipiras	14
3.3	Microrganismos indicadores da qualidade de produtos de origem animal.....	17
3.3.1	<i>Escherichia coli</i>	18
3.3.2	<i>Salmonella</i> spp.....	22
3.3.3	<i>Staphylococcus aureus</i>	23
3.3.4	<i>Listeria</i> spp.	25
3.4	<i>Salmonella</i> spp. e Saúde única	26
3.4.1	Monitoramento de <i>Salmonella</i> spp. em núcleos avícolas comerciais	27
3.4.2	Monitoramento <i>Salmonella</i> spp. em abatedouros frigoríficos de aves	28
3.4.3	Controle de <i>Salmonella</i> spp. em carne de aves	30
3.5	Importância dos Serviços de Inspeção Oficiais e as medidas de controle para patógenos de importância em saúde pública.....	32
3.6	Controle de microrganismos em frangos caipiras para corte	33
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	37
	CAPÍTULO II.....	43
	ARTIGO Comparação entre os métodos de coleta e o período sazonal na detecção de <i>Salmonella</i> spp. em plantéis de frangos caipiras da Região de Palmeirante – Tocantins, Brasil.....	43
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	52
	CAPÍTULO III	54
	ARTIGO Comparação da Qualidade Microbiológica entre os Produtos Avícolas de Abatedouro Frigorífico sob Inspeção Federal, Inspeção Estadual e sem Inspeção Sanitária	54
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	67

CAPÍTULO IV..... 68
CONSIDERAÇÕES FINAIS..... 68

CAPÍTULO I

1 INTRODUÇÃO

O Brasil consolida-se como um dos grandes produtores mundiais na avicultura comercial de frango de corte, e está entre os primeiros colocados no ranking das exportações disputando com Estados Unidos da América (EUA) e União Europeia (UE), comercializando carne de frango e outros produtos avícolas para mais de 150 países (BRASIL, 2022a). A avicultura brasileira em grande escala é resultado de uma evolução que ocorre desde a década de 1970, com grandes investimentos voltados para melhorias na cadeia produtiva avícola que empregaram eficiência na produção, sanidade animal e uso de tecnologias (PANDOLFI; MOTA, 2020). A Associação Brasileira de Proteína Animal (ABPA) indica que houve crescimento de 4% na produção avícola, com mais de 13,2 milhões de toneladas de carne de frango produzidas em 2019 (ABPA, 2020).

O frango caipira é outro produto que vem ganhando relevância em debates e discussões de entidades ligadas ao agronegócio e de controle e monitoramento sanitário, devido ao crescimento na produção e demanda comercial de consumo. A oferta desse produto é sempre menor que a demanda e, por essa razão, consolida-se como uma atividade promissora.

A criação de aves caipiras, além de gerar alimento para subsistência, complementa a renda da maioria dos agricultores familiares brasileiros. Os números indicam que 80% dos agricultores familiares são também criadores de frango caipira e que eles utilizam até 53% da sua produção para gerar renda complementar no orçamento. Com isto, a criação de frango caipira se transforma em uma atividade que gera sustentabilidade econômica, levando ao mercado um produto considerado gourmet, quando comparado ao frango de granja ou frango branco oriundo da avicultura em grande escala (SEBRAE, 2019).

Um dos grandes entraves do setor avícola é a sanidade, que se não for adequada pode trazer grandes prejuízos à produção e problemas de saúde pública, relacionados ao consumo dos produtos das aves. Os problemas sanitários podem ocorrer principalmente nos sistemas de criação de frango caipira que se baseiam em condições de livre pastoreio e sistemas totalmente abertos ou protegidos apenas por telas (BORGES et al., 2017). O sistema de criação do frango caipira, expõe as aves a um nível baixo de biossegurança que pode resultar em infecções persistentes e promover a disseminação de patógenos, além de colocar em risco a segurança microbiológica dos produtos de origem animal obtidos a partir dessas criações (REIS; SILVEIRA; MALACCO, 2016).

Quanto à normatização da criação de aves caipiras, a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT NBR) especifica os requisitos para a produção primária do frango caipira criado em sistema semiextensivo (ABNT, 2015). Todavia, além desta, não há normas sanitárias específicas para a criação comercial do frango caipira seguindo-se, portanto, e quando aplicável, os critérios das normas compulsórias à avicultura comercial em grande escala (frango branco), podendo-se fazer uso ainda das recomendações básicas de biossegurança para pequena escala de produção avícola expressas em cartilha produzida pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) e pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) (MACHADO; SILVA, 2011).

Não foram verificados, no estado do Tocantins, estudos voltados para a epidemiologia e sanidade dos plantéis comerciais de frangos caipira, e da mesma forma ocorre com dados científicos de contaminações microbiológicas nesses produtos, comercializados para consumo, sobre o impacto na saúde pública. Portanto, é de relevância para a saúde pública e para a sanidade dos plantéis comerciais de aves caipiras abatidos em estabelecimento sob Serviço de Inspeção Oficial, a pesquisa ambiental de patógenos de importância em sanidade avícola e saúde pública, como *Salmonella* spp. e, a pesquisa de microrganismos indicadores da qualidade e segurança microbiológica dos alimentos.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral:

Comparar a eficiência entre os métodos de coleta de amostras ambientais utilizados para o controle e o monitoramento de *Salmonella* spp. nos estabelecimentos avícolas comerciais de frangos de cortes, em diferentes períodos sazonais, e comparar a qualidade e segurança microbiológica entre os produtos cárneos obtidos do abate de frangos inspecionados e frangos abatidos e comercializados de forma clandestina.

2.2 Objetivos Específicos:

- Pesquisar a presença de *Salmonella* spp. em núcleos aviários comerciais de frangos de corte caipiras melhorados no Tocantins, Brasil nos diferentes períodos sazonais;
- Comparar a eficiência entre os três métodos de coleta ambiental de *Salmonella* spp. (suabe de arrasto, propés e coleta direta de excrementos aviários), nos estabelecimentos avícolas comerciais de frangos de corte caipiras melhorados, no Tocantins, Brasil no período das chuvas e no período da estiagem;
- Comparar a qualidade e segurança microbiológica dos três tipos de frangos comercializados sob o regime de inspeção federal (SIF), estadual (SIE) e clandestino em Araguaína, Tocantins, Brasil.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Importância da avicultura no Brasil e no mundo

A década de 70 é o marco inicial para o desenvolvimento da avicultura comercial no Brasil. Grandes empresas e autoridades especialistas contribuíram nesse processo que culminou para o sucesso da atividade e para que a produção de frango crescesse 112%, levando o país a ficar entre os três primeiros no ranking mundial de exportações do produto. A implementação de ferramentas gerenciais modernas, inovações tecnológicas, e investimentos em pesquisa e desenvolvimento, fundamentam os grandes resultados (PANDOLFI; MOTA, 2020).

Tecnologias voltadas para redução de 63% no tempo de abate com ganho de peso de 53% por animal abatido, aliado a genética e nutrição, além de implementações no manejo sanitário, entre outros, impulsionaram a avicultura brasileira, colocando o país entre os mais produtivos no ramo. A avicultura industrial brasileira evolui constantemente e as tecnologias empregadas são responsáveis por sequentes recordes no desempenho da atividade (EMBRAPA 2019).

A globalização, urbanização de regiões em desenvolvimento e o aumento no número da população mundial, cria a demanda crescente por alimentos, entre eles os produtos de origem avícola. O consumo de carne e outros produtos avícolas é proporcional ao desenvolvimento de áreas urbanas e semiurbanas e o poder de compra das populações (OYE; JEMINAH, 2020). A cadeia produtiva do frango no país, exporta 32% dos seus produtos para outros 150 países e 68% são comercializados internamente. Das proteínas de origem animal que vão para a mesa dos brasileiros, a carne de frango é a mais consumida per capita (ABPA, 2020), assumindo a preferência nacional devido à robusta oferta do produto no varejo brasileiro e aos preços acessíveis (SEBRAE, 2019).

Existe um nicho de consumidores interessados em produtos produzidos localmente, caracterizados pelo aspecto de bem-estar das aves que tem acesso a alimentação natural (pasto), ao ar livre e sem a presença de gaiolas (MARCHEWKA et al., 2020). Os produtos orgânicos e de frango caipira, também conhecido como aves de capoeira ou free-range, tem ganhado e aumentado sua popularidade com o público de consumidores norte-americanos (HWANG, 2020). No Brasil, somada à avicultura em grande escala, a avicultura de frango caipira já é bastante expressiva no mercado interno, com o frango criado em sistemas abertos, extensivos ou semiextensivos, com traços da cultura do meio rural (BORGES et al., 2017).

No estado do Tocantins, os registros apontam alta no crescimento em 43% no número

de aves comerciais em 2020. São 113 granjas, registradas na Agência de Defesa Agropecuária do Tocantins (ADAPEC), dentre as quais, 108 são de frango de corte, três granjas de postura de ovos e duas de reprodução (TOCANTINS, 2021). O estado possui mais de 7 milhões de aves, sendo a maior concentração da produção localizada na região centro-sul do estado.

Há no estado uma agroindústria avícola que abate apenas aves caipiras melhoradas, cuja produção, no ano de 2020, foi de mais de 18.000 kg de carne de frango, consumida no mercado interno do estado, e o abatedouro frigorífico atua sob registro do Serviço de Inspeção Estadual (SIE) (GESSULI, 2021). Essa agroindústria, que tem capacidade de abate de 500 aves/dia, abate em torno de 15.000 aves anualmente, que são criadas pela Associação dos Agricultores Familiares e Extrativistas de Palmeirante (Aprante). A Aprante possui 20 associados que seguem as diretrizes de criação do frango caipira estabelecidas para o abate no frigorífico com registro no SIE-TO. A comercialização do frango caipira abatido nesse estabelecimento movimenta por ano, cerca de 1,2 milhões de reais (TOCANTINS, 2021).

3.2 Sistemas de criações de aves caipiras

A *American Pastured Poultry Producers Association* (APPPA) sugere que há dois requisitos para considerar as criações como naturais e estas equivalem à criação do frango caipira ou “*free-range*” no Brasil, classificadas pela Associação Brasileira de Proteína Animal, que são criações totalmente naturais e ao ar livre com acesso contínuo a pastagem e, criações com rotação de grupos de aves ao acesso à pastagem natural (APPPA, 2022).

Em sistemas semiabertos de criações de aves caipiras, os lotes de mesma finalidade e idade, aves para corte com origem em estabelecimentos de reprodução certificados sanitariamente, são alojados em um ou mais galpões do núcleo aviário (propriedade rural) e todas as aves são criadas sob uma mesma forma de manejo sanitário e de biossegurança. Em um sistema semiaberto deve haver uma área de piquete telado, onde as aves têm acesso ao pastejo em determinado período do dia, manhã ou tarde, e após isso são recolhidas para o galpão coberto e protegido onde recebem ração e água de beber (Figura 1). As dimensões de lotação dentro do galpão coberto é de 35kg/m² e na área externa do piquete telado é de 0,5 m². Os pintinhos de 1 dia oriundos de granjas de reprodução certificada pelo MAPA, permanecem os primeiros 30 dias alojadas no galpão do núcleo aviário, sem acesso à área de pastejo e, após esse período são em média mais 40 dias em sistema semiaberto até o abate (ABNT, 2015).

Figura 1- Instalações de sistema semiaberto para frango caipira.



Fonte: Varella (2020).

Nas criações totalmente naturais e ao ar livre, o lote de aves caipiras, como sugere a APPPA, deve ter livre acesso à área de pastejo com dimensões de lotação do piquete com amplitude maior do que no sistema semiaberto e a instalação protegida contra intempéries é localizada dentro do piquete telado e pode ser móvel ou não (Figura 2). Nesse sistema os alimentos são à base de pasto natural e outros alimentos orgânicos incluindo grãos. O modelo totalmente livre é voltado para uma produção avícola ambiental sustentável que inclui sistemas alimentares descentralizados, ou seja, a suplementação com rações e grãos é disposta em toda a área do piquete misturado ao pasto. A biossegurança e sanidade avícola também são implementadas (APPPA, 2022).

Figura 2- Sistema de criação natural ao ar livre para frangos caipiras com abrigo móvel.



Fonte: APPPA (2022).

É conhecido o fato de que as condições de livre pastoreio das aves, em locais totalmente abertos ou protegidos por telas, colocam as criações de aves em situações desafiadoras e sujeitas a variáveis que comprometem a biossegurança, tanto no contexto sanitário das aves, quanto no contexto da saúde pública (HWANG et al., 2020). Estas condições acabam resultando, muitas vezes, em infecções persistentes que propiciam a disseminação ou permanência de patógenos e podem colocar em risco a segurança sanitária dos produtos avícolas (GAN et al., 2014).

No Brasil, a avicultura industrial evoluiu constantemente e as tecnologias empregadas são responsáveis por sequentes recordes no desempenho da atividade. Organismos como o MAPA, o Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas (SEBRAE) e a EMBRAPA, são responsáveis por normatizar sanitariamente, prestar apoio consultivo e dar suporte científico e tecnológico, respectivamente, inclusive para a avicultura caipira. As criações de frangos caipiras para corte, nos moldes das normas e modelos propostos, utilizam modernos conceitos e tecnologias que tendem a promover controle sanitário e qualidade, sem que a atividade perca as características da criação caipira que envolvem sustentabilidade, bem-estar e conservação da natureza, agregando a essas características, regimentos rigorosos (SEBRAE, 2019).

O Programa Nacional de Sanidade Avícola (PNSA) faz orientações sobre os modelos de criação em pequena escala de produção de aves domésticas em áreas ao ar livre em piquetes sem cobertura, porém telados, com alimento e água de bebida disponíveis em instalações protegidas contra intempéries, de modo a impedir o acesso de pássaros de vida livre e animais

domésticos e silvestres, com o intuito de mitigar os riscos relacionados à biossegurança (BRASIL, 2020a).

A NBR ABNT 16389:2015 especifica os requisitos para produção primária do frango caipira criado no sistema semiextensivo e, dá parâmetros como de manejo geral, alimentação, controle sanitário, critérios de abate e processamento. Esta norma tem como referencial teórico as legislações do MAPA (ABNT, 2015). Tais regulamentos buscam atender as recomendações dos organismos internacionais como a Organização Mundial de Saúde (OMS), a Organização Mundial de Saúde Animal (WOAH), a Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO) e o Codex Alimentarius (PANDOLFI; MOTA, 2020).

3.3 Microrganismos indicadores da qualidade de produtos de origem animal

Microrganismos que compõem a microbiota entérica comensal, a evisceração das carcaças feita de forma incorreta, ou a contaminação de origem ambiental, podem comprometer a qualidade e segurança microbiológica dos produtos de origem animal (SILVA, 2012).

Desde a década de 90, com importantes eventos sanitários relacionados a surtos de doenças veiculadas por alimentos (DVA), além de focos de problemas sanitários em alimentos relacionados a aditivos alimentares, o público consumidor tem despertado consciência e voltado as atenções para os patógenos de origem alimentar e as toxinfecções causadas por alimentos contaminados (FORSYTHE, 2013).

Alimentos são meios de propagação potenciais de infecção humana por contaminação dos mesmos e da água, tendo como principais patógenos de origem alimentar, as bactérias dos gêneros *Campylobacter* spp., *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* e patótipos *Escherichia coli* como a produtora da toxina Shiga (STEC). Tendo em vista que alguns desses patógenos estão presentes no trato intestinal das aves, fica estabelecida a relação entre o consumo de produtos avícolas contaminados e as infecções em humanos (ESTEBAN et al., 2008). As DVAs podem ser classificadas como intoxicações e infecções e levam em consideração a ingestão de alimentos contendo toxinas microbianas pré-formadas no alimento antes da ingestão do mesmo e no caso das infecções, se dá pela ingestão de alimentos contendo o microrganismo patogênico viável. Alguns patógenos podem ainda invadir e colonizar a mucosa intestinal e produzir toxinas, tendo entre os principais patógenos toxigênicos diagnosticados em surtos de DVAs, *Vibrio cholerae* e *E. coli* enterotoxigênica (MEDEIROS, 2011).

3.3.1 *Escherichia coli*

Coliformes totais ou a 30 °C e coliformes termotolerantes ou 45°C compõem um grupo de microrganismos que possibilita a avaliação da qualidade e segurança microbiológica dos alimentos, permitindo determinar em que condições de higiene esses produtos foram obtidos/fabricados. A determinação do número de coliformes a 30°C e a 45°C podem determinar o grau de contaminação ambiental resultante de falha na higiene e limpeza, falhas no tratamento térmico durante o processamento e a presença do patógeno *E. coli* (ASSI et al., 2018; OLIVEIRA, 2020). *E. coli* prevalece como a mais relevante do grupo de coliformes termotolerantes, caracterizado por ser um microrganismo que indica contaminação de origem fecal e também a segurança dos alimentos para o consumo (OLIVEIRA, 2020).

E. coli pode ser considerado o melhor microrganismo indicador de qualidade microbiológica, em razão de estabelecer o grau de higiene no processamento de carnes, inclusive em indústrias avícolas e, ainda enumerar a quantidade de células de determinada cepa patogênica objetivando estabelecer o risco do perigo e o limite crítico de controle (CERUTTI, 2018). Presente em humanos e animais, *E. coli* é uma enterobactéria comensal que, apesar do alto número de tipos antigênicos, poucos patótipos causam doença ao ser humano. Autoridades em saúde tem destacado a importância de *E. coli* na indústria de alimentos devido à gravidade dos quadros de colite hemorrágica, disenteria, cistite, nefrite, infecção de feridas cirúrgicas, septicemia e, especialmente, de síndrome urêmica-hemolítica (SHU), atribuídos a este patógeno (GERMANO; GERMANO, 2015).

Da família *Enterobacteriaceae*, o gênero *Escherichia*, espécie *E. coli* é uma bactéria Gram-negativa que se apresenta sob a forma de bastonetes ou cocobacilos que podem diferenciar-se de acordo com os antígenos somáticos (O), flagelares (H) e capsulares (K). Estruturas como fímbrias conferem importantes fatores de virulência para o patógeno (ASAE, 2021). Este agente se multiplica em temperatura ótima de 37°C e as variações de temperatura entre 7 e 46°C, resiste a longos períodos em temperatura de refrigeração, mas não é termorresistente, sendo inativada a 60°C (GERMANO; GERMANO, 2015). É capaz de fermentar lactose e como resultado dessa reação ocorre a produção de gás (Figura 3). Cresce em ágar eosin methylene blue (EMB) apresentando colônias de cor preta azulada e refletindo a cor verde metalizada em decorrência da rápida fermentação da lactose (Figura 4), ainda apresentam produção de indol, citrato como única fonte de carbono, positividade para

motilidade e negatividade para a produção de sulfeto de hidrogênio (H₂S) (CAVALIN et al., 2018).

Figura 3- Tubos com caldo *Escherichia coli* (EC) com formação de gás no tubo de Durham indicando a positividade para coliformes.



Fonte: arquivo pessoal.

Figura 4 - Colônias de *Escherichia coli* apresentando cor preta azulada e refletindo a cor verde metalizada em decorrência da rápida fermentação da lactose.



Fonte: arquivo pessoal.

E. coli se caracteriza por possuir diversos patótipos diarreicogênicos (Quadro 1), que diferem entre si em relação aos locais de colonização no hospedeiro, mecanismos de virulência e aos sintomas e agravos à saúde. São classificadas como *E. coli* enteropatogênicas típicas (EPECT), *E. coli* enteropatogênicas atípicas (EPECa), *E. coli* enterotoxigênicas (ETEC), *E. coli* enteroinvasivas (EIEC), *E. coli* enteroagregativa (EAEC), *E. coli* difusamente aderente (DAEC), *E. coli* invasora aderente (AIEC) e *E. coli* enterohemorrágica produtora de toxina shiga (EHEC/STEC) (GOMES et al., 2016), que inclui *E. coli* O157:H7 que pode causar colite hemorrágica (HC) (BIRD, 2019). *E. coli* O157:H7 é o patotipo de maior risco para a saúde pública, assim, é alvo de divulgação e informações ao público para conscientização a respeito do consumo de alimentos de qualidade (FORSYTHE, 2013).

Quadro 1 – Patótipos de *Escherichia coli* diarreicogênicas com característica genética.

Nome	Caracterização genética	Sigla
<i>E. coli</i> enteropatogênica típica/atípica	Gene <i>eaeA</i> + <i>bfpA</i> / <i>-bfpA</i>	EPECT/ EPECa
<i>E. coli</i> enterotoxigênica	Genes de enterotoxinas LT (toxina lábil) e ST (toxina estável) e fatores de colonização	ETEC
<i>E. coli</i> enteroinvasiva	Gene <i>ipaH</i>	EIEC
<i>E. coli</i> enteroagregativa	Gene <i>aggR</i> , <i>aap</i> , e <i>AA probe</i>	EAEC
<i>E. coli</i> difusamente aderente	Ainda sem caracterização do gene	DAEC
<i>E. coli</i> aderente invasivo	Sem consenso entre cientistas sobre o gene	AIEC
<i>E. coli</i> enterohemorrágica produtora de Shiga-toxina	Genes <i>stx1</i> e/ou <i>stx2</i>	EHEC/ STEC

Fonte: Gomes et al. (2016) e Oliveira (2020)

O consumo de alimentos de origem animal abatidos em locais e em condições higiênicas sanitárias inadequadas é considerado o principal meio de transmissão de EHEC O157:H7 para o humano (FORSYTHE, 2013). Todas as cepas de EHEC possuem toxina Shiga (Stx), entretanto, apenas STEC que causam colite hemorrágica são consideradas do subgrupo EHEC

(BIRD, 2019). Esse patotipo tem ocorrido com maior frequência nos Estados Unidos, Canadá, Reino Unido e Japão, sendo o que mais preocupa as autoridades de saúde no Brasil (GERMANO; GERMANO, 2015). Embora o principal reservatório para *E. coli* produtora de toxina Shiga (STEC) sejam os bovinos, animais de produção em geral abrigam a bactéria e, o isolamento de STEC no intestino de aves tem sido comum e constante, o que leva à excreção do microrganismo levando à contaminação ambiental e prontamente podendo incidir na contaminação de carcaças de aves, sendo um risco potencial à saúde humana (ESTEBAN et al., 2008).

Na avicultura industrial, com a produção de carne e outros produtos avícolas, estão inseridos fatores de risco à saúde relacionados à presença de patógenos alimentares, nesse contexto STEC tem sido descrito com relevância (CERUTTI, 2018). Nos EUA, este patógeno é reportado como causa de 265.00 casos/ano com hospitalizações e quadros sintomáticos que envolvem desde diarreia até síndrome urêmica hemolítica (SHU) (CDC, 2018). A Autoridade Europeia de Segurança de Alimentos (EFSA) classificou STEC como uma das zoonoses mais reportadas, sendo a 4ª causa entre as 12 de maior ocorrência relacionadas a internações, considerando o período entre 2010 e 2014 (ECDPC, 2016). A infecção por STEC caracteriza-se pelo curto período de duração e inclui sintomas como diarreias, cólicas abdominais, febre e é comumente uma infecção localizada, podendo evoluir para septicemia se as toxinas Stx forem absorvidas nas células intestinais (CERUTTI, 2018).

Na última década *E. coli* tem sido descrita em diversas pesquisas realizadas nos EUA, América do Sul e Europa, com resultados que demonstram a ocorrência do patógeno em carne de frango Pin natura e processada (CERUTTI, 2018). Chinen et. al (2009) isolaram STEC O157:H7 de carcaças de frangos cruas e outros produtos cárneos em Buenos Ayres, na Argentina, concluindo nesta pesquisa que a situação endêmica e a alta prevalência do patotipo é razão de preocupação para a saúde pública.

No Brasil, entre os anos de 2012 a 2021, *E. coli* ocupou o 1º lugar na lista dos 12 microrganismos apontados como causadores de 6.347 surtos de DTA registrados no Sistema de Informações de Agravos de Notificação (SINAN), dos quais foi apontada como responsável por 29,6% do total de surtos nesse período (BRASIL, 2022b). Um estudo realizado por Gabaron et al. (2020) avaliou as condições do processo de abate de frango colonial em abatedouro frigorífico de Curitiba-PR por meio da pesquisa de *E. coli* e outros patógenos indicadores de qualidade, chegando ao resultado positivo para presença de *E. coli* nas carcaças de frango coletadas de diversos pontos da linha de abate, mas concluiu que no estabelecimento, o resultado encontrado para o patógeno, encontrava-se dentro do limite estabelecido na norma brasileira.

3.3.2 *Salmonella* spp.

Apresentando-se em forma de bastonetes Gram-negativos, *Salmonella* spp. são encontradas no meio ambiente, mas tem como reservatórios principais os seres humanos e os animais e, são epidemiologicamente divididas em três grupos: as que causam doença apenas em humanos, as que são adaptadas a hospedeiros específicos e, as que causam doença em humanos e animais (JAY, 2005).

O gênero *Salmonella* possui duas espécies, *Salmonella enterica* e *Salmonella bongori*, que possuem ainda diversas subespécies e sorovares. *Salmonella enterica* possui cinco subespécies dentre as quais a subespécie *enterica* é a mais relevante em saúde pública pelo fato de seus sorovares serem relacionados à causa de doença em humanos (BROOKS et al., 2014).

A *S. enterica* subsp. *enterica* possui o maior número de sorovares e reúne 99% dos isolados de animais de sangue quente (BRASIL, 2011). O PNSA considera quatro sorovares da espécie *Salmonella enterica* subsp. *enterica* relevantes na cadeia produtiva de aves: *Salmonella* Enteritidis e *Salmonella* Typhimurium, de importância em saúde pública e, os sorovares *Salmonella* Gallinarum e *Salmonella* Pullorum, importantes em saúde animal considerando os plantéis comerciais de aves de corte (BRASIL, 2020a)

Salmonella spp. são responsáveis por grande parte das zoonoses originadas pela ingestão de alimentos, sendo o consumo de carnes o principal meio de transmissão para os seres humanos, incluindo a carne de frango contaminada. De grande relevância em saúde pública, a salmonelose reflete uma grande preocupação mundial e, o aumento de sua incidência, nas últimas décadas, está relacionado ao aumento no consumo de carne de frango em razão do crescimento do comércio de produtos oriundos da avicultura comercial (ANTUNES et al., 2016).

A carne e outros alimentos de origem animal como leite e pescados, são considerados alimentos pouco ácidos, com $\text{pH} > 4,5$ favorecendo a predominância de bactérias patogênicas aeróbias como *Salmonella* spp. que, ocasionalmente podem ser os causadores de óbitos em crianças, idosos e pessoas debilitadas, quando acometidos em surtos alimentares (BRASIL, 2010). O pH da carne de frango entre 5,7 a 5,9 que somado a atividade de água elevada, favorecem a rápida degradação e a multiplicação de microrganismos originários da própria ave ou da contaminação durante o processo de industrialização (GANECO, 2016).

Nos EUA, o Centers for Disease Control and Prevention (CDC) apresenta números de 1,35 milhões de pessoas com *Salmonella* spp., 26.500 hospitalizações e 420 mortes por ano (CDC, 2022). Em 2018, ocorreu um surto de *Salmonella* spp. ligados ao consumo de frango

com uma morte e 17 pessoas doentes nos EUA. Outro surto no mesmo ano envolvendo 90 pessoas doentes também foi relatado e ligado ao consumo de carne de peru (AVICULTURA INDUSTRIAL, 2018).

Entre os anos de 2012 a 2021 *Salmonella* spp. foi responsável por 11,2% dos 6.347 surtos decorrentes de Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar (BRASIL, 2022b). Calcula-se que 17,9% da gama de DVA estão relacionadas às aves e 19% das DVA ligadas a produtos avícolas são causadas por *S. Enteritidis* (O'BRYAN; RICKE; MARCY, 2022). O perfil epidemiológico apresentado pelo SINAN da Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde, em seus dados de 2012 a 2021, revelou que *Salmonella* spp. em está 3º lugar entre os patógenos que causaram surtos de doenças de transmissão hídrica e alimentar (DTHA) (BRASIL, 2022b).

A infecção por *Salmonella* spp. em aves é comum, entretanto, existe uma variação na patogênese de acordo com o sorovar de *Salmonella* spp., o que torna difícil avaliar o risco do consumo de frango para a saúde pública (ESMERINO; PENTEADO, 2011). O quadro clínico humano pode variar desde sintomas leves como diarreia regressiva e de curta duração (2 -3 dias), até aortite, colecistite, colite, endocardite, orquite, meningite, miocardite, osteomielite, pancreatite, síndrome de Reiter, síndromes reumatóides, septicemia, abscesso esplênico, tireoidite e síndrome do intestino irritável (FORSYTHE, 2013).

Considera-se *Salmonella* spp. o microrganismo de maior relevância na pesquisa da segurança microbiológica dos alimentos e causador de infecções alimentares, por suas propriedades endêmicas, alta morbidade e difícil controle. Há necessidade da completa identificação de sorovares do patógeno e da utilização de novas tecnologias de detecção e identificação, além de medidas voltadas para segurança alimentar, somadas às informações ao consumidor que contribuam para a mitigação de risco de DVA relacionada ao consumo de frango (ESMERINO; PENTEADO, 2011).

3.3.3 *Staphylococcus aureus*

A espécie *S. aureus* pertence à família *Staphylococcaceae*, gênero *Staphylococcus* (LPSN, 2022b), é anaeróbio facultativo, Gram-positivo e multiplica-se numa ampla faixa de temperatura (entre 7 a 45° C) e pH entre 4,2 e 9,3. É considerado um dos mais comuns agentes causais de DVA (BRASIL, 2010), sendo um patógeno bastante resistente, sobrevivendo às condições adversas de dessecação, teor de sódio e acondicionamento abaixo de 10°C. O controle

da temperatura de refrigeração entre 6-7°C inibe a multiplicação de *S. aureus* e a produção de toxinas (LODEÁ, 2017). O microrganismo tem potencial para produzir proteínas de choque, tóxicas, que são responsáveis pela síndrome do choque tóxico (TSST-1) e pode ser produtor de enterotoxinas termoestáveis a exemplo das toxinas estafilocócicas A e E comumente associadas a DVA (SILVA et al., 2018).

Fatores como temperatura, pH, atividade de água, presença de oxigênio, concentração de sal e potencial redox, podem interferir na síntese dessas toxinas, entretanto, carne e outros produtos de origem animal favorecem as condições para crescimento microbiano e produção de toxinas por *S. Aureus* caso não sejam corretamente produzidos e armazenados (BENCARDINO; AMAGLIANI; BRANDI, 2021).

S. aureus é responsável por grande parte de surtos de intoxicações alimentares, causadas pelas toxinas estafilocócicas, e pode estar presente em diversos tipos de alimentos como queijos, carnes e produtos de panificação (BRITO; COELHO, 2021). O patógeno ocupa a segunda posição numa classificação dos 12 microrganismos apontados como causa de mais de 6.000 surtos de DTHA registrados no SINAN, dos quais *S. aureus* está registrado como responsável por 12,9% dos surtos alimentares no período de 2012 a 2021 (BRASIL, 2022b).

Intoxicações gastrointestinais ocorrem pela ingestão das enterotoxinas presentes em alimentos contaminados por *S. aureus* produtores de enterotoxinas (BENCARDINO; AMAGLIANI; BRANDI, 2021). Os sintomas apresentados pelos seres humanos envolvem episódios de vômito, após um curto período da ingestão do alimento contaminado, que varia entre 2-6h e que evoluem para sintomatologia gastroentérica. O choque tóxico provocado pela toxina da síndrome do choque tóxico (TSST-1) pode ocorrer e os sintomas relacionados são febre, eritema, hipotensão e distúrbios de múltiplos órgãos (CASTRO; SILVA; TEIXEIRA, 2018).

A presença de *S. aureus* em alimentos, além de indicar contaminação por falhas nos procedimentos sanitários das operações e/ou falhas no procedimento de higiene operacional dos manipuladores dentro de indústrias de alimentos, também aponta para o perigo de presença de enterotoxinas estafilocócicas, mesmo que a matéria-prima ou o produto acabado tenha passado por algum processo térmico, pois há resistência das enterotoxinas ao tratamento térmico (ESMERINO; PENTEADO, 2011). Na carne de frango, a contaminação por *S. aureus* pode ser oriunda de manipuladores portadores do microrganismo e de contaminação cruzada (MARMION et al., 2021).

3.3.4 *Listeria* spp.

Da família *Listeriaceae*, o gênero *Listeria* possui 28 espécies, entre elas *L. monocytogenes* (LPSN, 2022a), uma bactéria, classificada como zoonótica de origem alimentar, responsável por infecções invasivas nos seres humanos, com 23.000 casos anuais registrados em todo o mundo pela ingestão de alimentos contaminados (MARTÍNEZ et al., 2021). Essa larga ocorrência de listeriose pode estar associada à globalização e transformação, aumento da produção e distribuição de alimentos (ZHANG et al., 2021).

De natureza ubiqüitária, é amplamente distribuída no ambiente e causador de DVA devido à contaminação de alimentos, nas diversas fases da cadeia produtiva, especialmente na fase de manipulação permanecendo viável após o acondicionamento a frio, seja no transporte ou armazenamento (GERMANO; GERMANO, 2015; DELGADO et al., 2016).

Granjas avícolas não são testadas para *L. monocytogenes*, entretanto há uma prevalência consideravelmente alta nos produtos avícolas crus, cuja fonte originária de contaminação pode ser nas granjas, culminando na contaminação durante o processamento nos abatedouros frigoríficos (ESTEBAN et al., 2008). Em indústrias de alimentos, a contaminação dos produtos por esse microrganismo pode ser de origem ambiental e estender-se para os equipamentos e instalações, somada à capacidade de crescer mesmo a baixas temperaturas, possibilita a ocorrência de *L. monocytogenes* em câmaras-frias e refrigeradores (GERMANO; GERMANO, 2015). O consumo de produtos avícolas cujo processo de cozimento não tenha sido realizado adequadamente ou, a contaminação cruzada oriunda do preparo do frango com outros alimentos, oferece risco relacionado à presença de *L. monocytogenes* (MARTÍNEZ et al., 2021).

A listeriose é uma infecção potencialmente fatal principalmente em gestantes, crianças recém-nascidas e pessoas com imunidade comprometida, entretanto pessoas saudáveis, também podem ser acometidas (ESTEBAN et al., 2008) com manifestações clínicas relacionadas ao sistema nervoso; tudo isso faz de *L. monocytogenes* um importante patógeno em saúde pública (GERMANO; GERMANO, 2015). Em 2019, o CDC reportou alerta de surto alimentar por *L. monocytogenes* ligado a produtos cárneos prontos para o consumo que envolveu quatro casos com internação (CDC, 2019). Não há registros no Brasil que atribuam a ocorrência de listeriose ao consumo de alimentos, nos raros casos relatados, a investigação sobre a relação do patógeno com alimentos não foi estabelecida (FSB, 2013).

A legislação brasileira atual que normatiza as listas de padrões microbiológicos para alimentos, estabelece a pesquisa regular de *L. monocytogenes* apenas para alimentos prontos

para o consumo, portanto, para carne de aves e seus derivados cárneos, não há padrão microbiológico estabelecido em norma (BRASIL, 2019b). Embora não haja exigência da pesquisa de *L. monocytogenes* em carne de aves e outros produtos de origem animal crus, manipulados em frigoríficos, o monitoramento higiênico-sanitário na cadeia produtiva de alimentos, sobretudo na introdução do agente em indústrias de produtos cárneos, é fundamental para o controle do patógeno (DEMAÎTRE et al., 2021). Falhas na limpeza e desinfecção nas diversas fases da produção de alimentos resultam em fracasso da eliminação da *L. monocytogenes* (ZHANG et al., 2021).

3.4 *Salmonella* spp. e Saúde Única

A cadeia produtiva de alimentos abrange elementos sociais (humanos), naturais (ambientais) e suas interações. Em toda a cadeia de produção de alimentos, desde as propriedades rurais até a comercialização para os consumidores, são necessários esforços dos setores público e privado abordando amplamente a Saúde Única, que engloba saúde animal, meio ambiente e saúde humana, para a produção de alimentos seguros. Todo o empenho na Saúde Única no âmbito da cadeia produtiva de alimentos, deve promover a manutenção de produtos de origem animal seguros ao consumo humano no intuito de minimizar o risco de transmissão de patógenos biológicos zoonóticos, perigos físicos e químicos (EMBRAPA, 2022).

A Organização Mundial do Comércio recomenda aos países que promovam políticas, normas e estratégias que garantam a inocuidade de alimentos produzidos e comercializados, tanto localmente como globalmente (WTO, 2021). A FAO e a OMS também norteiam países sobre normas, diretrizes, padrões e recomendações a respeito da inocuidade na produção de alimentos (VIEIRA, 2019). A abordagem proposta pela FAO, promove esforços e recomenda que o gerenciamento na produção de alimentos seguros deve ser capaz de prevenir riscos em todas as etapas de produção, ao longo da cadeia alimentar, ao invés de aferir a inocuidade dos alimentos baseada apenas nas análises do produto final (FAO, 2005).

O Brasil possui normas que seguem as recomendações do Codex Alimentarius da FAO/OMS. O MAPA, e por meio do PNSA, normatiza ações de controle e monitoramento de salmonelas em granjas avícolas comerciais de corte e de reprodução, e nos abatedouros frigoríficos de aves sob registro no Serviço de Inspeção Federal (SIF) (BRASIL, 2016). As normas do PNSA versam sobre esse controle e monitoramento com o objetivo de reduzir a prevalência de *Salmonella* spp., estabelecendo por meio do cumprimento desta norma, a sanidade animal nos plantéis comerciais de aves e a proteção ao consumidor dos produtos avícolas (BRASIL, 2020a).

3.4.1 Monitoramento de *Salmonella* spp. em núcleos avícolas comerciais

Conforme a Instrução Normativa nº 20 de 2016 do MAPA, para o controle de *Salmonella* spp. nos estabelecimentos avícolas comerciais de frangos e perus, todos os lotes de aves destinadas ao abate terão o núcleo aviário submetido à avaliação ambiental, por meio de coletas de amostras ambientais dos galpões aviários numa data próxima ao envio das aves para estabelecimentos de abate com o objetivo de pesquisar, por meio de ensaios laboratoriais, a presença de *Salmonella* spp. (BRASIL, 2016).

Segundo a mesma normativa, as amostras ambientais serão compostas de trezentas amostras de excrementos cecais, de aproximadamente um grama cada amostra, coletadas de forma direta contemplando toda a área do galpão/núcleo aviário a ser testado, formando um único pool, ou poderão ser utilizados dois suabes de arrasto ou propés (Figura 5), agrupados em um pool (dois pares de suabe formando um pool ou dois pares de propés formando outro pool), que devem ser coletados de maneira que cada par de suabe ou propé, perfaça 50% da área do núcleo/galpão a ser testado perfazendo por pares de suabe de arrasto ou propés 100% da área do galpão/núcleo aviário a ser testado.

Os resultados possíveis a partir das amostras ambientais podem ser negativo para *Salmonella* spp.; positivo para *Salmonella* Enteritidis; positivo para *Salmonella* Typhimurium; positivo para *Salmonella* Gallinarum; positivo para *Salmonella* Pullorum; positivo para salmonela monofásica - *Salmonella* (1,4[5],12:-:1,2); positivo para salmonela monofásica - *Salmonella* (1,4[5],12:i:-); ou positivo para *Salmonella* spp., quando da detecção de outros sorovares que não estes descritos (BRASIL, 2016).

Quando houver resultados positivos para *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *S. Gallinarum* e *S. Pullorum* para os núcleos dos estabelecimentos avícolas de frangos e perus de corte, as medidas previstas são o tratamento e remoção de toda a cama de aviário do núcleo avícola com descarte apropriado, a limpeza e desinfecção das instalações dos galpões alojadores com posterior vazio sanitário mínimo de 15 dias e, a investigação para identificação da fonte de infecção das aves e adoção de medidas para prevenir novas ocorrências e infecções por *Salmonella* spp. em lotes futuros (BRASIL, 2016).

Ainda fica estabelecido pela normativa supramencionada que o Serviço Veterinário Oficial (SVO), atua em núcleos de aves comerciais para corte realizando coletas para execução dos ensaios laboratoriais para detecção de *Salmonella* spp. a qualquer tempo, adotando qualquer tipo de material amostral relacionado aos núcleos avícolas (material ambiental e/ou aves) tomando por base avaliações pautadas na biosseguridade adota pelos núcleos avícolas, se há

divergência entre o monitoramento previsto na Instrução Normativa nº 20 de 2016 do MAPA e outras análises laboratoriais executados pela empresa/núcleo aviário e, outras condições epidemiológicas que devem ser avaliadas e levadas em consideração para a atuação do SVO.

As informações do boletim sanitário do lote de aves a ser abatido deve ter os resultados dos ensaios laboratoriais, as informações de origem das aves e os dados da propriedade registrada no Serviço Veterinário Oficial e, é baseado neste documento que permitirá a definição do tipo de abate e a destinação dos produtos do abate do respectivo lote, conforme Artigos 53 e 54 da Instrução Normativa nº 20 de 2016 do MAPA (BRASIL, 2016).

Figura 5 - Coleta de excrementos aviários em núcleo de frango caipira de corte. Uso do suabe de arrasto e propés



Fonte: arquivo pessoal

3.4.2 Monitoramento *Salmonella* spp. em abatedouros frigoríficos de aves

Em estabelecimentos de abate de frangos, galinhas e perus de corte sob registro do serviço de inspeção oficial, o controle e monitoramento de *Salmonella* spp. ocorre desde o recebimento dos lotes de aves destinadas ao abate, até a expedição dos produtos acabados, nos quais o controle e monitoramento é feito por meio da avaliação dos documentos que acompanham os lotes de aves (ficha de acompanhamento do lote, boletim sanitário, guia de trânsito animal) e as medidas implementadas dentro do abatedouro frigoríficos nas etapas e processos do abate por

meio de programas de autocontrole. O objetivo das ações nas indústrias frigoríficas é reduzir a prevalência do patógeno e assegurar produtos adequados ao consumo humano (BRASIL, 2016).

Os programas de autocontrole executados nos abatedouros frigoríficos de aves com registro no serviço de inspeção oficial contemplam medidas de controle higiênico-sanitárias previstas também no Regulamento Técnico da Inspeção Tecnológica e Higiênico-Sanitária de Carne de Aves contidos na Portaria n° 2010 de 1998 do MAPA (BRASIL, 1998), com obediência ainda aos critérios previstos em normas do MAPA e do Ministério da Saúde quanto à qualidade e segurança microbiológica dos produtos do abate das aves (BRASIL, 2016; BRASIL, 2019).

Lotes de aves positivas para *Salmonella* spp., exceto *S. Enteritidis* e *S. Typhimurium*, são abatidas em separado, com posterior higienização e desinfecção das instalações e equipamentos da indústria. Os lotes positivos para *S. Enteritidis* e *S. Typhimurium*, *Salmonella* monofásica (1,4[5],12:-:1,2 ou 1,4[5],12:i:-), também são abatidos em separado com realização de higienização e desinfecção das instalações e equipamentos, porém, os produtos desse tipo de abate são sequestrados e destinados a tratamento térmico que garanta a eliminação do patógeno. A Instrução Normativa n° 20 de 2016 do MAPA, estabelece ciclos de amostragem de monitoramento que devem ser executados pela indústria, e ciclos de amostragem oficiais sendo o número de ciclos amostrais anuais determinados de acordo com a capacidade de abate da indústria (BRASIL, 2016).

A Instrução Normativa n° 20 considera que o ciclo amostral foi violado quando o número de amostras positivas for maior que o número aceitável, sendo este determinado de acordo com a classificação do estabelecimento, definido de acordo com o tamanho e capacidade de abate da indústria. De acordo com o número de ciclos violados, algumas ações corretivas devem ser tomadas pela indústria. Quando da violação de ciclos amostrais de monitoramento a indústria deve revisar os programas de autocontrole, corrigir e adotar medidas preventivas para restabelecer a conformidade em relação ao patógeno. Quando da violação de ciclos amostrais oficiais, as ações fiscais, que também preveem punição com autos de infração, serão determinadas pelo Serviço de Inspeção Oficial e devem ser executadas pelo estabelecimento de abate. A violação de ciclos amostrais prevê ações corretivas de investigação para identificar a causa do problema; revisão dos programas de autocontrole executados no abatedouro frigorífico; comprovação, ao serviço de inspeção oficial, das medidas adotadas para corrigir as falhas e; a solicitação dos fornecedores de aves de corte que intensifiquem as medidas de biossegurança nos núcleos aviários comerciais (BRASIL, 2016).

Ainda conforme a mesma normativa, a violação do 3º ciclo consecutivo implica em

expedição do produto acabado apenas após a realização de ensaio laboratorial em laboratórios oficiais da rede do Sistema Unificado de Atenção à Sanidade Agropecuária (SUASA), com a tipificação do patógeno quando detectada *Salmonella* sp.. Havendo a detecção do microrganismo, o lote de produtos é sequestrado e destinado a tratamento térmico para eliminação do mesmo. Todas essas medidas devem permanecer sendo adotadas no intuito de corrigir as falhas detectadas até que se obtenha um ciclo amostral em conformidade com o preconizado para amostragem de análises oficiais.

3.4.3 Controle de *Salmonella* spp. em carne de aves

Para carne de aves crua, resfriada ou congelada, a legislação brasileira que estabelece os padrões microbiológicos dos alimentos, determina para *Salmonella* spp. análises qualitativas que deverão ser expressas nos resultados dos ensaios laboratoriais como presentes ou ausentes e com a tipificação *Salmonella* spp., *Salmonella* Tiphymurium e *Salmonella* Enteritidis (BRASIL, 2019b).

Os ensaios laboratoriais são realizados em amostras de frango composta por uma carcaça inteira, coletada de forma aleatória, imediatamente após o gotejamento (pós-*chiller*) e antes da embalagem primária conforme disposto na IN 20/16, ou de acordo com o tipo de produto avícola estabelecido no cronograma oficial que podem incluir frango inteiro com miúdos, cortes congelados com osso e outros (BRASIL, 2016). No Tocantins, a frequência de análise é estabelecida pelo cronograma oficial de análises de produtos do SIE – TO que leva em consideração o tamanho do estabelecimento e a capacidade de abate. Quanto às análises de autocontrole dos abatedouros frigoríficos de aves, o SIE-TO exige que sejam cumpridas conforme prevê o Programa de Autocontrole de Análises Laboratoriais do estabelecimento que deve ser implantado, executado, monitorado e verificado, pautado em legislações pertinentes à qualidade microbiológica dos produtos de origem animal (TOCANTINS, 2021).

O Manual de Métodos Oficiais para Análise de Alimentos de Origem Animal do MAPA (BRASIL, 2018) padroniza os métodos que devem ser realizados para os ensaios em amostras de produtos de origem animal que são exigidos pelos programas e controles oficiais do MAPA e, a adoção desse manual é obrigatória para a rede de laboratórios oficiais e credenciados pelo Ministério da Agricultura. Na ausência de métodos oficiais e normalizados para ensaios laboratoriais de alimentos, métodos validados deverão ser seguidos (BRASIL, 2020c). As metodologias validadas para coleta, acondicionamento, transporte e análise de amostras dos alimentos estão estabelecidas em referenciais como o Código Alimentar (Codex Alimentarius

- FAO/OMS), a Organização Internacional de Normalização (International Organization for Standardization - ISO) e o Compêndio de Métodos para Análise Microbiológica de Alimentos (Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods - APHA). Nessas referências, deve-se levar em consideração as últimas edições ou revisões (BRASIL, 2019a).

A recuperação de microrganismos patógenos de interesse em saúde é realizada na microbiologia convencional, a partir de amostras ambientais e de alimentos, por meio de caldos seletivos de enriquecimento e ágaros (ANDRADE et al., 2010). Para detecção de *Salmonella* spp. em alimentos, em atendimento às normativas sanitárias impostas para regulamentação de alimentos seguros para o consumo humano, além de técnicas tradicionais de microbiologia, outras tecnologias são utilizadas para constatar e identificar microrganismos (OLIVEIRA et al., 2018).

Análises laboratoriais realizadas em curto espaço de tempo tem sido demandadas para detecção de *Salmonella* spp. no ambiente e nos alimentos, entretanto, apesar de existirem procedimentos analíticos mais rápidos (testes bioquímicos miniaturizados, métodos baseados em anticorpos, hibridização de DNA e variações do método da reação em cadeia da polimerase (PCR), o cultivo para recuperar células e sua ampliação em número de *Salmonella* spp., por meio de procedimentos de pré- enriquecimento e enriquecimento seletivo, são empregados somados aos métodos considerados mais rápidos (BRASIL, 2011).

Os métodos moleculares, ao longo do tempo, vêm sendo utilizados em contribuição ou alternativa aos métodos convencionais de microbiologia, oferecendo dessa forma, resultados mais práticos e precisos, sendo considerados métodos sem vulnerabilidade a reações atípicas e independentes de reações fenotípicas, descartando assim, resultados falso-positivos, como pode ocorrer nas análises com método microbiológico tradicional. A PCR é capaz de detectar nos patótipos, proteínas específicas que conferem patogenicidade e que não são homólogas a outros microrganismos, a exemplo da *Salmonella* spp. com o iniciador específico “invA” pertencente às espécies *S. enterica* e *S. bongori*. Outros exemplos de métodos moleculares são a técnica de PCR Multiplex, que a exemplo de outro patógenos alimentar, utiliza o gene “iap” para distinguir *Listeria* spp. de outras espécies patogênicas; e a q-PCR que detecta e quantifica *L. monocytogenes* presente em alimentos (ANDRADE et al., 2010).

Entretanto, o método microbiológico tradicional deve preceder a análise da PCR pois, a etapa de enriquecimento com o objetivo de multiplicação de células do microrganismo alvo, deve ser feito para permitir o alcance do limite de células necessárias por reação de PCR, preconizado em 10^3 - 10^4 por mL de amostra pré-enriquecida (FREITAS; LEMOS; MARIN, 2006). Nos alimentos, a variedade de microrganismos presentes na matéria, confere um fator

limitante para a realização de métodos moleculares, por essa razão algumas etapas devem ser executadas anteriormente à análise genômica, como a extração de DNA de amostras, sobretudo para identificação de microrganismos Gram-positivos (RIBEIRO et al., 2016).

3.5 Importância dos Serviços de Inspeção Oficiais e as medidas de controle para patógenos de importância em saúde pública

A segurança dos alimentos não pode ser segregada da segurança alimentar pois, tem fundamental importância na redução de doenças transmitidas por alimentos sobretudo nos grupos mais vulneráveis (OPAS, 2021). O cumprimento de normas de higiene e a atuação de autoridades sanitárias em estabelecimentos de manipulação de alimentos, reflete na qualidade dos produtos e na redução de surtos de doenças de origem alimentar, enquanto o contrário também é notório, quando alimentos são produzidos fora das normas de higiene, impactando na saúde pública (FLEETWOOD et al., 2019).

A carne de aves é um dos principais veiculadores de *Salmonella* spp., um dos patógenos de maior importância em saúde pública. O risco de contaminação dos produtos de abates clandestinos de aves aumenta nesses locais sem instalações apropriadas e que apresentam condições precárias ou inexistentes de higiene, e onde a fiscalização e inspeção sanitária não atuam. A ausência de um serviço de inspeção nesses locais, compromete a garantia da qualidade e a segurança dos alimentos desde o início da cadeia produtiva até a sua comercialização (ASSI et al., 2018).

Além dos perigos de agravos à saúde pública que o consumo dos produtos de origem animal clandestinos provoca, todo o processo de manipulação desses produtos impacta sobre o meio ambiente, tendo em vista que o abate e processamento, sem regulamentação, resultam em resíduos sólidos e águas residuais em grande quantidade descartados de maneira inadequada (ASSI et al., 2018). A prática clandestina no processamento de alimentos oriundos do abate, reúne prejuízos à segurança dos alimentos e ao meio ambiente, ambos impactando na saúde humana (LI; SUBBIAH; DVORAK, 2019).

Estima-se que nas américas, a cada ano, 77 milhões de pessoas são acometidas por doenças veiculadas por alimentos resultando em mais de 9.000 mortes. Além das DTAs, a ingestão de alimentos contaminados por patógenos e outros perigos químicos e físicos, podem provocar outras doenças e agravos à saúde (OPAS, 2021). Os prejuízos financeiros consequentes das DTAs, além da sobrecarga aos sistemas de saúde e as perdas em produtividade, custam à sociedade cerca de US\$ 7,4 milhões por ano e, acabam por atingir

também a produção de alimentos e sua comercialização em razão da perda de confiança, por parte dos consumidores, em relação à segurança dos alimentos (OPAS, 2021).

O serviço de inspeção, em produtos de origem animal, desempenha fundamental importância para a produção de carne e produtos cárneos seguros do ponto de vista sanitário. A inspeção sanitária, promovida pelo serviço veterinário oficial, também é de grande relevância para prevenção de doenças de rebanho e aplicação de normas inerentes ao bem-estar animal. Independente do tamanho do estabelecimento abatedouro ou da quantidade de animais abatidos para produção de carne, seus produtos devem ser produzidos pautados na segurança dos alimentos e na comercialização de alimentos inócuos (KOTISALO et al., 2015).

O Brasil tem como princípio a inspeção obrigatória em estabelecimentos de produção, processamento e distribuição de carne de aves. A Lei 7.889 de 1989 (BRASIL, 1989), regulamenta a prévia inspeção sanitária e industrial de produtos de origem animal e determina que a União, estados e municípios são os entes responsáveis pela inspeção de produtos de origem animal. Estes estabelecimentos industriais devem estar vinculados a um dos Serviços de Inspeção Oficial geridos pelo MAPA, Secretarias de Agricultura dos Estados e Secretarias ou Departamentos de Agricultura dos Municípios. Sendo assim, nenhum estabelecimento industrial ou entreposto de produtos de origem animal poderá funcionar em território nacional sem o registro no órgão competente para fiscalização das atividades realizadas. O que deve direcionar ao órgão onde o estabelecimento deve ser registrado é a expansão de comércio de seus produtos, ou seja, para comércio interestadual ou internacional o registro do estabelecimento deve ser no MAPA, para comércio intraestadual o registro deve ser nas Secretaria de Agricultura Estadual e, para comércio intramunicipal o registro deve ser em Secretaria ou Departamento de Agricultura Municipal (BRASIL, 1989).

Para estabelecimentos com registro no SIE ou SIM, que demandam o selo Sistema Brasileiro de Inspeção de Produtos de Origem Animal SISBI-POA, tanto o serviço de inspeção (o serviço oficial) como a empresa são auditados para a avaliação de ambos em relação à equivalência com o Serviço de Inspeção Federal, ou seja, o solicitante deve deter o mesmo modo de fiscalização e inspeção, baseada em programas de autocontroles, estrutura de equipamentos, o modo como é fiscalizado no que diz respeito à exigência de análises laboratoriais para garantir a qualidade dos produtos, se existem servidores concursados do serviço oficial e estrutura para tal em relação a bens e serviços como veículos e capacitações. A empresa ou serviço de inspeção que atende aos requisitos auditados, não perde o selo que já possui, ele apenas recebe o selo acessório do SISBI-POA, o que possibilita o escoamento da produção para todo o território nacional (BRASIL, 2020b).

A ausência de equivalência da atuação do serviço oficial e desempenho das agroindústrias entre os três níveis de fiscalização e inspeção nos estabelecimentos de produtos de origem animal e o fluxo de dados e informações é dificultado nessa estrutura, sendo estes, fatores que constituem riscos à saúde pública (CARNEIRO; KANEENE, 2017).

O Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA) (BRASIL, 2017), seguido pelo SIF e estabelecimentos sob essa esfera de inspeção e fiscalização, dispõe no Artigo 6º que a inspeção e fiscalização deve ser realizada em toda a cadeia produtiva que origina os produtos de origem animal, iniciando nas propriedades rurais que fornecem a matéria-prima até as agroindústrias e estabelecimentos que recebem, manipulam, armazenam, conservam, beneficiam, industrializam, acondicionam, ou realizam a expedição de matérias-primas e produtos de origem animal. Tais estabelecimentos devem dispor de programas de autocontrole que evidenciem o atendimento aos requisitos higiênico-sanitários pautados em boas práticas de fabricação incluindo a Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) e o bem-estar animal, conforme disposto no Artigo 74 do RIISPOA (BRASIL, 2017).

Aliada a capacitações e cursos de reciclagem, voltados para higiene, hábitos higiênicos e saúde das equipes de colaboradores de estabelecimentos de abate de aves, outros elementos de controle devem ser implementados e executados como estratégias de prevenção de riscos à segurança dos alimentos. A seleção e rastreabilidade da matéria-prima, a utilização e manutenção da potabilidade da água utilizada nos processos de transformação dos alimentos de origem animal, o controle de águas residuais e resíduos sólidos, a limpeza e sanitização de equipamentos e utensílios, todos esses elementos devem fazer parte do controle aplicado nos estabelecimentos de produtos de origem animal, direcionados e pautados nas normas exigidas e estabelecidas por autoridades sanitárias para o controle da *Salmonella* spp. (SHINOHARA et al., 2008). Carne e produtos cárneos de aves, seguros para o consumo, devem ser obtidas por meio de etapas de processos controlados do ponto de vista higiênico e, contar com uma etapa de pré-resfriamento capaz de baixar a temperatura das carcaças das aves, reduzindo a taxa de multiplicação de microrganismos de origem fecal (BRITO; COELHO, 2021).

O SIE no estado do Tocantins, aderiu ao SISBI-POA e tem equivalência reconhecida pelo MAPA (BRASIL, 2018a). Os abatedouros frigoríficos de aves com registro no SIF, seguem as legislações federais que estabelecem medidas de controle em toda a cadeia produtiva do frango (BRASIL, 2012). O Tocantins possui dois abatedouros frigoríficos de aves sob SIE, um com selo SISBI-POA e outro que comercializa seus produtos no âmbito intraestadual que abate frangos caipiras. Todos os estabelecimentos de produtos de origem animal com registro no SIE, seguem o Decreto Nº 5751, de 07 de dezembro de 2017, que dispõe sobre o regulamento

de inspeção e fiscalização industrial e sanitária de produtos de origem animal no estado do Tocantins, entretanto, não há legislação estadual que regulamente a inspeção tecnológica e higiênico-sanitária de carne de aves, portanto, o SIE segue a legislação federal, levando em consideração que possui equivalência com o SIF e que está aderido ao SISBI-POA (TOCANTINS, 2022). As normas para o atendimento aos requisitos higiênico-sanitários que devem ser seguidas pelos estabelecimentos de abate de aves, estão dispostas na Instrução Normativa nº 210 de 1998 do MAPA que apresenta o Regulamento Técnico da Inspeção Tecnológica e Higiênico-Sanitária de Carne de Aves (BRASIL, 1998).

O SIE no Tocantins (SIE-TO) exige o controle e o monitoramento de *Salmonella* spp. nos estabelecimentos avícolas comerciais de frangos. Nos estabelecimentos de abate de aves, sob SIE-TO, o controle e o monitoramento de *Salmonella* spp. é realizado seguindo o escopo de análises para detecção do patógeno, da Agência de defesa Agropecuária do Tocantins, aprovado pelo MAPA. O escopo de análises oficiais do SIE – TO contempla também outros patógenos de importância em saúde pública como *E. coli* e aeróbios mesófilos que seguem o padrão microbiológico estabelecido pela Instrução Normativa nº 60 de 2019 do MS (BRASIL, 2019).

O estado também conta com uma equipe do SIE-TO, que realiza combate à produção e comércio clandestino de produtos de origem animal. Além dos estabelecimentos sob registro no SIE que são submetidas à inspeção dos produtos de origem animal fabricados, a segurança dos alimentos também é promovida e garantida pela equipe de combate a clandestinos que faz ações de punição com multas e interdição de estabelecimentos clandestinos, barreiras sanitárias no trânsito de produtos de origem animal com apreensões e inutilização de produtos inadequados ao consumo humano além de levar educação sanitária para o público geral acerca da importância da origem e certificação dos produtos de origem animal para a saúde pública. O combate à clandestinos visa, além da proteção à saúde pública, a proteção ao meio ambiente e o bem-estar animal das espécies de abate (TOCANTINS, 2022).

3.6 Controle de microrganismos em frangos caipiras para corte

Não há legislações específicas para o frango caipira quanto ao controle sanitário e monitoramento de patógenos nesse tipo de criação e nos estabelecimentos de abate próprios. A comercialização de produtos obtidos das criações de aves caipiras também não possui

regulamentação específica, sendo utilizada a legislação do MAPA que normatiza a comercialização dos produtos da avicultura em escala industrial (BRASIL, 1998; BRASIL, 2016)

Para frangos caipiras, as diretrizes de caráter técnico aplicáveis à sua produção, abate, processamento e identificação para a produção primária no sistema semi-extensivo, são contempladas na ABNT NBR 16389 de 2015 (ABNT, 2015). A Embrapa possui um manual de recomendações básicas de biossegurança para pequena escala de produção avícola que pode contribuir para o cumprimento das legislações do MAPA no que se refere ao controle e/ou mitigação de riscos de contaminação de aves caipiras e seus produtos com agentes infecciosos (BRASIL, 2022a). No entanto, é estimado que aves criadas nesse sistema sejam epidemiologicamente mais susceptíveis à ocorrência de patógenos ambientais, zoonóticos ou não.

Os estudos, comprovações e conhecimento científico quanto às criações de aves caipiras e seus produtos são escassos e incidem no pouco conhecimento dos mecanismos particulares da cadeia de produção do frango caipira e os processos nela envolvidos. Pesquisas voltadas para evidências adicionais do efeito do sistema semiextensivo de criação de aves caipiras são fundamentais para o monitoramento e controle de patógenos na cadeia produtiva e, para a qualidade dos produtos obtidos do abate desse tipo de criação (HWANG et al., 2020).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABPA. Associação Brasileira de Proteína Animal. **Relatório Anual** (ABPA, Ed.). São Paulo: ABPA, 2020. Disponível em: <https://abpa-br.org/wp-content/uploads/2020/05/abpa_relatorio_anual_2020_portugues_web.pdf>. Acesso em: 08 jun. de 2022.
- APPPA. AMERICAN PASTURED POULTRY PRODUCERS ASSOCIATION. **About APPPA**. Disponível em: <<https://www.apppa.org/about>>. Acesso em: 12 abr. 2022.
- ANDRADE, R. B. et al. Métodos diagnósticos para os patógenos alimentares: *Campylobacter* Sp., *Salmonella* Sp. e *Listeria Monocytogenes*. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 77, n. 4, p. 741–750, 2010.
- ANTUNES, P. et al. Salmonellosis : the role of poultry meat. **Clinical Microbiology and Infection**, v.22, n. 2, p. 110–121, 2016.
- ASAE, A. D. S. A. E. E. **Escherichia Coli Bacterium**. Disponível em: <<https://www.asae.gov.pt/seguranca-alimentar/riscos-biologicos/escherichia-coli.aspx#:~:text=As bactérias do género E,imóveis ou móveis por flagelos.>>. Acesso em: 2 fev. 2021.
- ASSI, A. L. et al. Análise do controverso funcionamento clandestino de avícolas no município de São Paulo. **Higiene Alimentar**, v. 2018, n. 32, p. 76–81, 2018.
- ABNT. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 16389: Norma Brasileira -Avicultura: produção, abate, processamento e identificação do frango caipira, colonial ou decapoeira**. Rio de Janeiro, ABNT, 27 ago. 2015. Disponível em: <<https://www.abntcatalogo.com.br/norma.aspx?ID=337999>>. Acesso em: 14 nov. 2021.
- AVICULTURA INDUSTRIAL. **Salmonella em frango mata 1 e adocece 17 nos Estados Unidos**. Disponível em: <<https://www.aviculturaindustrial.com.br/imprensa/salmonella-em-frango-mata-1-e-adoecece-17-nos-estados-unidos/20180831-103229-n302>>. Acesso em: 24 jan. 2022.
- BENCARDINO, D.; AMAGLIANI, G.; BRANDI, G. Carriage of *Staphylococcus aureus* among foodhandlers : An ongoing challenge in public health. **Food Control**, v. 130, n. May, p. 108362, 2021.
- BIRD, P. **STEC, EHEC, or E. coli O157? Differentiating between**. Disponível em: <<https://www.food-safety.com/articles/6260-stec-ehec-or-e-coli-o157-differentiating-between->>. Acesso em: 11 abr. 2022.
- BORGES, K. A. et al. Spread of a major clone of *Salmonella enterica* serotype Enteritidis in poultry and in salmonellosis outbreaks in Southern Brazil. **Journal of Food Protection**, v. 80, n. 1, p. 158– 163, 2017.
- BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução de Diretoria Colegiada nº 331, de 23 de dezembro de 2019. Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos, Brasília. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília DF de 26 de dezembro, 2019. Sessão 1, p. 96

BRASIL, Ministério da Saúde. **Manual técnico de diagnóstico laboratorial de *Salmonella* spp.: diagnóstico laboratorial do gênero *Salmonella***. Brasília: Fundação Oswaldo Cruz, 2011.

BRASIL, Ministério da Saúde. Instrução Normativa N° 60, de 23 DE dezembro de 2019: Estabelece as listas de padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da União**, Poder executivo, Brasília DF. Sessão 1 p. 133.

BRASIL, Ministério da Saúde. **Doenças Diarreicas Agudas - Cólera**. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/c/colera>>. Acesso em: 18 jan. 2022b.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Salmonelas. Programa Nacional de Sanidade Avícola - PNSA**. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/sanidade-animal-e-vegetal/saude-animal/programas-de-saude-animal/pnsa>>. Acesso em: 24 jun. 2020a.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. PORTARIA N° 69, DE 20 JUNHO DE 2018 - Reconhece a Equivalência do Serviço de Inspeção Sanitária de Produtos de Origem Animal da Agência de Defesa Agropecuária do Estado do Tocantins para Adesão ao Sistema Brasileiro de Inspeção de Produtos de Origem Animal - SISBI-POA. **Diário Oficial da União**, Poder executivo, Brasília DF, de 30 junho. 2018. Sessão 1 p. 3.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. INSTRUÇÃO NORMATIVA N° 17, DE 6 DE MARÇO DE 2020. Estabelece os Procedimentos para Reconhecimento da Equivalência e Adesão ao Sistema Brasileiro de Inspeção de Produtos de Origem Animal (Sisbi-Poa), do Sistema Unificado de Atenção à Sanidade Agropecuária (SUASA). **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, de 11 março, 2020. Seção 1, p. 2. 2020b.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria N° 210 De 10 De Novembro De 1998 - Aprova o Regulamento Técnico da Inspeção Tecnológica e Higiênico-Sanitária de Carne de Aves. Disponível em: <https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/Portaria-210_000h19kjan02wx7ha0e2uuw60rmjy11.pdf> Acesso em: 27 jan. 2022.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. DECRETO No - 9.013, DE 29 DE MARÇO DE 2017 - Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, de 30 março. 2017. Seção 1, p. 3.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. INSTRUÇÃO NORMATIVA 30 DE 20 DE JUNHO DE 2020 **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, de 09 junho. 2020c Seção 1, p. 5.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Programa Nacional de Sanidade Avícola (PNSA)**. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/sanidade-animal-e-vegetal/saude-animal/programas-de-saude-animal/pnsa>>. Acesso em: 6 fev. 2022.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa N° 20, de 21 de outubro de 2016. Estabelece o controle e o monitoramento de *Salmonella* spp. nos estabelecimentos avícolas comerciais de frangos e perus de corte e nos estabelecimentos de

frangos, galinhas, perus de corte e reprodução. **Diário Oficial da União**, Poder executivo, Brasília, DF, Brasília, DF, de 25 outubro. 2016. Seção 1, p. 13. Disponível em: <<http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=consultarLegislacaoFederal>> Acesso em: 26 jul. 2021.

BRASIL, Ministério da Saúde. **Manual Integrado de Vigilância, Prevenção e Controle de Doenças Transmitidas por Alimentos**. Brasília - DF: [s.n.]. Disponível em: <<http://portalsaude.saude.gov.br/images/pdf/2015/Julho/01/Arquivo-1-Dta.Pdf>>. Acesso em: 14 nov. 2021.

BRASIL, Ministério da Saúde. **Surtos de Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar no Brasil Informe 2022**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/d/dtha/arquivos/copy_of_apresentacao-surtos-dtha-2022.pdf>. Acesso em: 12 abr. 2022b.

BRASIL, Presidência da República. LEI Nº 7.889, DE 18 DE DEZEMBRO DE 1989 - Dispõe sobre inspeção sanitária e industrial dos produtos de origem animal, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, de 24 novembro. 1989. Seção 1, p. 21529.

BRASIL, Secretaria de Vigilância em Saúde. **Surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos no Brasil. Secretaria de Vigilância em Saúde**, p. 1–16, 2018b.

BRITO, J. M. DE S.; COELHO, R. M. D. Características microbiológicas da carne de frango: uma revisão narrativa / Microbiological characteristics of chicken meat: a narrative review. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 6, p. 62781–62795, 2021.

BROOKS, G. F. et al. **Microbiologia Médica de Jawetz, Melnick & Adelberg**. 26. ed. [s.l.] Editora AMGH, McGraw-Hill Companies, Inc., 2014.

CARDOSO, M. D. **Avaliação comparativa da microbiota de interesse em saúde pública de aves marinhas migratórias e residentes**. [s.l.] Fundação Osvaldo Cruz - Programa de Pós-graduação em Saúde Pública e Meio Ambiente, da Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca., 2018.

CARNEIRO, P.; KANEENE, J. B. Food inspection services: A comparison of programs in the US and Brazil. **Food Control**, v. 80, p. 314–318, 2017.

CASTRO, A.; SILVA, J.; TEIXEIRA, P. **Staphylococcus aureus, a Food Pathogen: Virulence Factors and Antibiotic Resistance**. [s.l.] Elsevier Inc., 2018. v. 15

CAVALIN, P. B. B. et al. Detection of *Salmonella* spp. and diarrheagenic *Escherichia coli* in fresh pork sausages. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 39, n. 4, p. 1533–1545, 1 jul. 2018.

CDC, C. FOR D. C. AND P. **Shiga Toxin-producing *Escherichia coli* - 2018 Case Definition**. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/nndss/conditions/shiga-toxin-producing-escherichia-coli/case-definition/2018/>>. Acesso em: 4 fev. 2022.

CDC, Centers for Diseases Control and Preventions. **Outbreak of *Listeria* infections linked to Pork Products**. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/porkproducts-11->

18/index.html>. Acesso em: 18 jan. 2022.

CDC, Centers for Diseases Control and Preventions. **Multistate Outbreaks of *Salmonella***. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/salmonella/index.html>>. Acesso em: 24 jan. 2022.

CERUTTI, M. F. Pesquisa de *Escherichia Coli* Produtora De Shiga Toxina (STEC) em Carcaças de Aves Comercializadas no Município De Xanxerê SC. **Journal of Physical Therapy Science**, v. 9, n. 1, p. 1–11, 2018.

DELGADO, M. E. R. et al. Epidemiología de *Salmonella* spp., *Listeria monocitogenes* y *Campylobacter* spp., en la cadena productiva avícola. **Iatreia**, v. 29, n. 4, p. 397–406, 2016.

DEMAÎTRE, N. et al. Study of the transfer of *Listeria monocytogenes* during the slaughter of cattle using molecular typing. **Meat Science**, v. 175, p. 108450, 2021.

ECDCP, European Centre for Disease Prevention and Control. Annual Epidemiological Report 2016 – Shigatoxin/verocytotoxin-producing *Escherichia coli* infection. **EUROPIAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL**, n. November 2015, p. 1–3, 2016.

EMBRAPA, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Estatísticas Mundo Frangos de Corte Portal Embrapa**. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/suinos-e-aves/cias/estatisticas/frangos/mundo>>. Acesso em: 4 mar. 2022.

EMBRAPA, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária B. DE P. A. **Abordagem de saúde única na pesquisa**. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/visao-de-futuro/integracao-de-conhecimentos-e-de-tecnologias/sinal-e-tendencia/abordagem-de-saude-unica-na-pesquisa>>. Acesso em: 28 jun. 2022.

ESMERINO, L. A.; PENTEADO, F. R. Avaliação da Qualidade Microbiológica da Carne de Frango Comercializada no Município De Ponta Grossa - Paraná **UEPG: Ciências Biológicas e da Saude**, v. 17, n. 1, p. 37–45, 2011.

ESTEBAN, J. I. et al. A survey of food-borne pathogens in free-range poultry farms. **International Journal of Food Microbiology**, v. 123, n. 1–2, p. 177–182, 2008.

FAO, Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação. **Conferência regional FAO/OMS sobre Segurança dos Alimentos em África - Anexo 9**. Disponível em: <<https://www.fao.org/3/a0215p/A0215P25.htm>>. Acesso em: 08 dez. 2021

FLEETWOOD, J. et al. As clean as they look? Food hygiene inspection scores, microbiological contamination, and foodborne illness. **Food Control**, v. 96, n. August 2018, p. 76–86, 2019.

FSB, Food Safety Brazil. **Listeria e E.coli não atormentam os brasileiros?** Disponível em: <<http://foodsafetybrazil.com/listeria-e-e-coli-nao-atormentam-aos-brasileiros/>>. Acesso em: 08 fev. 2022.

FORSYTHE, S. J. **Microrbiologia da segurança dos alimentos**. 2a. ed. Porto Alegre: [s.n.].

FREITAS, E. I. DE; LEMOS, A. A. DE; MARIN, V. A. Validação de métodos alternativos qualitativos na detecção de patógenos alimentares. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 11, n. 4, p.

1073–1083, 2006.

GABARON, D. DE A. et al. Micro-Organismos Indicadores De Contaminação De Um Abatedouro De Frangos Coloniais Situado Na Região Noroeste Do Estado Do Paraná. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 8, p. 60998–61007, 2020.

GAN, L. et al. Dietary supplementation with vitamin C ameliorates the adverse effects of *Salmonella* Enteritidis-challenge in broilers by shaping intestinal microbiota. **Poultry Science**, v. 99, n. 7, p.3663–3674, 2014.

GANECO, A. G. Características qualitativas da carne de frango de corte proveniente de diferentes sistemas de produção. p. 106, 2016.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. **Higiene e Vigilância Sanitária dos Alimentos**. 5ª Edição ed. [s.l: s.n.].

GESSULI, A. **O setor avícola tocantinense segue ganhando destaques e investimentos**. Disponível em: <<https://www.aviculturaindustrial.com.br/imprensa/o-setor-avicola-tocantinense-segue-ganhando-destaques-e-investimentos/20210812-115537-n421>>. Acesso em: 8 nov. 2021.

GOMES, T. A. T. et al. Diarrheogenic *Escherichia coli*. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 47, p. 3–30, 1 dez. 2016.

HWANG, D. et al. Farm management practices that affect the prevalence of *Salmonella* in pastured poultry farms. **Lwt**, v. 127, n. April, p. 109423, 2020.

JAY, J. M. **Microbiologia de Alimentos**. 6a. ed. Porto Alegre: [s.n.].

KOTISALO, N. et al. Effects of centralizing meat inspection and food safety inspections in Finnish small-scale slaughterhouses. **Food Policy**, v. 55, p. 15–21, 2015.

LI, S.; SUBBIAH, J.; DVORAK, B. Environmental and occupational impacts from U.S. beef slaughtering are of same magnitude of beef foodborne illnesses on human health. **Environment International**, v. 129, n. June, p. 507–516, 2019.

LODÉA, P. **Contagem bacteriana em filé de peito de frango após o sistema de resfriamento**. Dissertação de Mestrado. Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, Londrina, 2017.

LPSN, List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature. **Search Taxomia *Staphylococcus***. Disponível em: <<https://lpsn.dsmz.de/search?word=Staphylococcus>>. Acesso em: 2 fev. 2022b.

LPSN, List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature. **Listeria - Search taxonomy**. Disponível em: <<https://lpsn.dsmz.de/search?word=listeria>>. Acesso em: 26 jan. 2022a.

MACHADO, T. F.; SILVA, J. L. P. DA. **Manual de Curadores de Germoplasma-Micro-organismos: Patógenos em Alimentos**. Brasília, 2011. Disponível em: <<http://www.cenargen.embrapa.br>>

MARCHEWKA, J. et al. Associations between welfare and ranging profile in free range commercial and heritage meat-purpose chickens (*Gallus gallus domesticus*). **Poultry Science**, 2020.

MARMION, M. et al. The changing microbiome of poultry meat; from farm to fridge. **Food Microbiology**, v. 99, n. May, p. 103823, 2021.

MARTÍNEZ, S. P. et al. Prevalence, quantification and antibiotic resistance of *Listeria monocytogenes* in poultry preparations. **Food Control**, p. 108608, 2021.

MEDEIROS, V. DE M. **Isolamento e Identificação Fenotípica e Molecular das Espécies Termofílicas de *Campylobacter* a partir de Frango Resfriado**. Dissertação Mestrado - Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2011.

NSG. NIPON SHEET GLASS. **O que é PCR_ - PCR, a técnica para proteger a saúde pública e aumentar a segurança _ Mobile Real-Time PCR device - NSG**. Disponível em: <<https://www.pcr-nsg.jp/pt/pcr-and-virus/pcr>>. Acesso em: 24 mar. 2022.

O'BRYAN, C. A.; RICKE, S. C.; MARCY, J. A. Public health impact of *Salmonella* spp. on raw poultry: Current concepts and future prospects in the United States. **Food Control**, v. 132, n. September 2021, p. 108539, 2022.

OLIVEIRA, A. N. de et al. **Métodos Alternativos para Detecção de *Salmonella* em Alimentos**. Fortaleza : EMBRAPA Agroindústria Tropical, 2018. Disponível em: <www.embrapa.br/agroindustria-tropical>. Acesso em: 06 dez. 2021.

OLIVEIRA, M. DA S. **Qualidade Higiênico-Sanitária e Perigos Microbiológicos dos Queijos Minas Frescal Clandestinos Comercializados no Norte Do Tocantins**. Dissertação Mestrado - Universidade Federal do Tocantins, Araguaína, 2020.

OPAS. **Alimentos inócuos para um amanhã saudável**. Disponível em: <<https://www.paho.org/pt/noticias/7-6-2021-dia-mundial-da-seguranca-dos-alimentos-2021-panaftosa-impulsa-cooperacao-tecnica>>. Acesso em: 24 nov. 2021

OYE, N. D.; JEMIMAH, N. Expert System for Poultry Management. **International Journal of Scientific Research in Computer Science, Engineering and Information Technology**, p. 91–104, 2020.

PANDOLFI, J.; MOTA, S. Sol gera energia. v. 08/2020, n. 1302, p. 14–16, 2020.

REIS, R. B.; SILVEIRA, R. G.; MALACCO, V. M. R. Cadernos Técnicos de Veterinária e Zootecnia. **Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, FEP MVZ Editora**, v. 53, n. 9, p. 1689–1699, 2016.

RIBEIRO, J. C. et al. Efficiency of boiling and four other methods for genomic DNA extraction of deteriorating spore-forming bacteria from milk. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 37, n. 5, p. 3069–3078, 2016.

SEBRAE, Serviço Brasileiro de Apoio à Micro e Pequena Empresa. **Avicultura Caipira - Estudo de Mercado**. Junho/2019 ed. Natal - RN: Agência Brasileira do ISBN, 2019.

SHINOHARA, N. K. S. et al. Salmonella spp., important pathogenic agent transmitted through foodstuffs. **Ciencia e Saude Coletiva**, v. 13, n. 5, p. 1675–1683, 2008.

SILVA, D. C. **Comparativo das Características das Carnes de Frango Caipira e Industrial da Região do Oeste do Rio Grande do Norte**. Dissertação de Mestrado - Universidade Federal Rural do Semi-árido UFRSA, Mossoró, 2012.

SILVA, G. O. et al. Staphylococcal enterotoxins and enterotoxin-like toxins with special reference to dairy products: An overview. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 58, n. 12, p. 1943–1970, 13 ago. 2018.

TOCANTINS, Agência de Defesa Agropecuária do Tocantins. PORTARIA Nº 336, DE 27 DE OUTUBRO DE 2021. Torna obrigatória no Estado do Tocantins a Implantação dos Programas de Autocontrole (PAC) nos estabelecimentos que processam produtos de origem animal (POA) registrados na Agência de Defesa Agropecuária do Estado do Tocantins – ADAPEC **Diário Oficial do Tocantins**, Poder Executivo, Palmas, TO, de 05 nov, 2021. DOU 5060, p. 33.

TOCANTINS, Agência de Defesa Agropecuária do Tocantins. **SERVIÇO DE INSPEÇÃO ESTADUAL - INSPEÇÃO ANIMAL**. Disponível em: <<https://www.to.gov.br/adapec/inspecao-animal/3z37ogojov55>>. Acesso em: 6 nov. 2021.

VARELLA, M. **Investir na produção de ovos de galinhas caipiras é boa alternativa de renda - Terra e Negócios**. Disponível em: <<https://terraenegocios.com/noticia/166/investir-na-producao-de-ovos-de-galinhas-caipiras-e-boa-alternativa-de-renda>>. Acesso em: 22 abr. 2022.

VIEIRA, K. A. R. **Salmonella Spp. Na Cadeia Produtiva De Frangos De Corte**. TCC—Rio Verde: Instituto Federal Goiano, jul. 2019.

WTO, WORLD TRADE ORGANIZATION. **Trade and Food Standards**. Disponível em: <https://www.wto.org/english/res_e/publications_e/tradefoodfao17_e.htm>. Acesso em: 29 maio 2021.

ZHANG, X. et al. Review controlling *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat meat and poultry products: An overview of outbreaks, current legislations, challenges, and future prospects. **Trends in Food Science and Technology**, v. 116, n. July, p. 24–35, 2021.

CAPÍTULO II
Segundo as normas da revista Semina Ciências Agrárias

Comparison between collection methods and seasonal period in the detection of *Salmonella* spp. in free-range chicken flocks in Tocantins

Comparação entre os métodos de coleta e o período sazonal na detecção de *Salmonella* spp. em plantéis de frangos caipiras do Tocantins

Hellen Núbia Carlos Maciel Miranda^{1*}; Isac Gabriel Cunha dos Santos²; Claudio Roberto Martins¹; Ézio Machado Rodrigues¹; Fernando Loiola Nunes¹; Jeycy Kelly Mendonça Sirqueira¹; Bianca Perera Dias¹; Cristiane Alves Nascimento³; Alessandro José Ferreira dos Santos⁴; José Carlos Ribeiro Júnior⁵; Katyane de Sousa Almeida⁷

Highlights

- *Salmonella* spp in free-range broiler as a risk to public health;
- Presence of *Salmonella* spp. ambientale in poultry nuclei free-range broiler ;
- Sanitary management and sanitary practices as a risk factor for biosecurity in free-range chicken farms;
- Seasonal period as risk factor for *Salmonella* spp. in free-range broiler production.

Abstract

Raised in semi-open or totally free systems, free-range birds are challenged by variables that can compromise biosecurity and microbiological quality of the final product consumed by humans. The present study investigated *Salmonella* spp. in poultry nuclei of free-range chickens from integrated producers in the mesoregion of Palmeirante, Tocantins, testing the effectiveness between the methods of collecting environmental material through drag swab, props and direct collection, considering two typical seasonal periods of the region. The suggestive isolation of *Salmonella* spp., used microbiological tests and the isolates submitted to specific PCR genus (*invA*). The comparison of the effectiveness between the environmental sample collection methods and the seasonal period used analysis of variance and for comparison between the seasonal periods and the proportion between the periods, the F Test was applied. In total, 935 suggestive isolates were recovered in the three collection methods in both seasonal periods, of which 90 (9.5%) were positive for the *invA* gene. There was no significant difference ($p < 0.05$) in the results obtained when comparing the

¹ Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Sanidade Animal e Saúde Pública nos Trópicos (UFT, Araguaína, TO, Brasil. E-mail: hellenmac0711@gmail.com;

² Doutorando do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal Tropical (PPGCat), Universidade Federal do Tocantins (UFT), Araguaína, TO, Brasil. E-mail: isacgabrielsc@gmail.com

³ Laboratório de Microbiologia de Alimentos (LabMA), Universidade Federal do Tocantins (UFT), Araguaína, TO, Brasil. E-mail: crisalves_9@hotmail.com

⁴ Agência de Defesa Agropecuária do Tocantins (ADAPAEC/TO), Araguaína, TO, Brasil. E-mail: dr.alessandro.vet@gmail.com;

⁵ Professor(a) Adjunto(a), Universidade Federal do Tocantins (UFT), Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia (EMVZ), Araguaína, TO, Brasil. E-mail: katyanesalmeida@uft.edu.br ; jcribeiro@uft.edu.br

*Autor for correspondence

effectiveness between the collection methods used. There was also no significant difference in relation to the frequency of positivity of the lots for *Salmonella* spp. during periods of rain and drought. Positive results for *Salmonella* spp. indicated the environmental contamination of 3 of the 5 nuclei (60%) evaluated with potential implications for poultry health and public health. The control and monitoring of the pathogen in this type of poultry farming, using any of the three methods of environmental collection for the detection of *Salmonella* spp., in the rains and droughts, in the mesoregion of Palmeirante, Tocantins, contributes to the development and implementation of sanitary measures, in order to improve the quality of the products obtained from the slaughter of this type of creation and the public health issues involved.

Key Words: biosecurity, chicken meat, DTA's, environmental contamination, gen *invA*, salmonellosis.

Resumo

Criadas em sistemas semiabertos ou totalmente livres, as aves caipiras são desafiadas por variáveis que podem comprometer a biossegurança e a qualidade microbiológica do produto final consumido por humanos. O presente estudo pesquisou *Salmonella* spp. em núcleos avícolas de frangos caipiras de produtores integrados da mesorregião de Palmeirante, Tocantins comparando a eficácia entre os métodos de coleta de material ambiental por meio de suabe de arrasto, propés e coleta direta, considerando dois períodos sazonais típicos da região. O isolamento sugestivo de *Salmonella* spp., utilizou provas microbiológicas e os isolados submetidos à PCR gênero específica (*invA*). A comparação da eficácia entre os métodos de coleta de amostra ambiental e o período sazonal utilizou análise de variância e para comparação entre os períodos sazonais e a proporção entre os dois períodos, o Teste F foi aplicado. No total foram recuperados 935 isolados sugestivos nos três métodos de coleta em ambos os períodos sazonais, dos quais 90 (9,5%) foram positivos para o gene *invA*. Não houve diferença significativa ($p < 0,05$) nos resultados obtidos à comparação da eficácia entre os métodos de coleta empregados. Também não foi observada a diferença significativa em relação à frequência de positividade dos lotes para *Salmonella* spp. nos períodos de chuva e estiagem. Os resultados positivos para *Salmonella* spp. indicaram a contaminação ambiental de 3 dos 5 núcleos (60%) avaliados com potencial implicação para a sanidade avícola e saúde pública. O controle e monitoramento do patógeno nesse tipo de criação de aves, utilizando quaisquer um dos três métodos de coleta ambiental para detecção de *Salmonella* spp., nas chuvas e estiagem, na mesorregião de Palmeirante, Tocantins, contribui para o desenvolvimento e implementação de medidas sanitárias, de maneira a melhorar a qualidade dos produtos obtidos do abate desse tipo de criação e as questões de saúde pública implicadas.

Palavras-chave: carne de frango, biossegurança, contaminação ambiental, DVA's, gen *invA*, salmoneloses.

INTRODUÇÃO

O Brasil destaca-se internacionalmente na avicultura industrial, estando entre os quatro países que mais exportam carne de aves, mas também tem crescido no mercado interno com produtos avícolas procedentes das criações alternativas de frango. A agricultura familiar é responsável por grande parte da produção de frango caipira, estimando-se que no Brasil sejam produzidas mais de 120.000 toneladas de carne de frango caipira por ano (Rural Pecuária, 2014).

O patógeno de maior importância, seja na avicultura em grande escala ou na avicultura alternativa de frango caipira de corte e, portanto, nos produtos obtidos a partir dessas produções, é *Salmonella* spp., microrganismo comensal do intestino de aves, que ocupa o 1º lugar entre os patógenos mais comumente associados às doenças causadas pela ingestão de alimentos contaminados (Borges et al., 2017). Assim, o controle e monitoramento da *Salmonella* spp. devem ser realizados em todas as etapas da cadeia produtiva de carne de aves (Mendonça, 2016).

O Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) estabelece que a procedência dos lotes comerciais de aves de cjjgorte devem ser de matrizeiro livre ou controlado para *Salmonella* de importância em sanidade animal e em saúde pública (Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento [MAPA], 2003) e que as propriedades com aves comerciais para corte devem ser cadastradas no Serviço Veterinário Oficial (SVO) do órgão estadual de defesa sanitária animal (MAPA, 2007). Também instituiu o controle e o monitoramento de *Salmonella* spp. em estabelecimentos avícolas comerciais de frangos e perus de corte e em estabelecimentos de abate sob o serviço de inspeção federal, objetivando reduzir a prevalência do patógeno em toda a cadeia de produção do frango (MAPA, 2016). O controle e o monitoramento fazem menção a sorovares específicos de importância em sanidade avícola e saúde pública (Le Bouquin et al., 2010).

O nível de biossegurança dos sistemas de criação de aves caipiras tem sido discutido na busca de alternativas para melhorar a qualidade da matéria-prima ofertada à cadeia de indústrias agroalimentares, tendo em vista que o mercado demanda aumento comercial deste produto e seus subprodutos (O'Bryan et al., 2022). Fatores de risco como tamanho da granja aviária, susceptibilidade genética, manejo sanitário da cama de aviário, controle de roedores, além de cuidados básicos de limpeza, são determinantes para ocorrência de salmonela ambiental (Ansari-Lari et al., 2022), bem como as variações de clima, que nas regiões tropicais não possuem as quatro estações definidas, apresentando apenas as estações chuva e seca que são caracterizadas pelo fluxo pluviométrico e sem muitas alterações de temperatura (Calle et al., 2021).

Condições sanitárias precárias incidem em altas taxas de morbidade e reinfecção dos plantéis, tornando o controle da *Salmonella* spp. um desafio (Monteiro & Holsbach, 2020). O monitoramento em núcleos aviários, para detecção deste microrganismo no ambiente, com a utilização de suabes de arrasto, propés e coleta direta de excrementos nos aviários, possibilita aferir o nível de biossegurança das criações de frango caipira de corte, proporcionando oportunidades de melhoria das condições sanitárias quando da detecção do patógeno no ambiente (MAPA., 2016; Organização Mundial de Saúde [OMS], 2018). A coleta de material ambiental em galpões de alojamento de aves de produção, é uma forma não invasiva e prática, além de econômica para o monitoramento da *Salmonella* spp. (Talorico et al., 2021).

O objetivo do presente trabalho foi pesquisar *Salmonella* spp. em núcleos avícolas de frangos caipiras de produtores integrados da mesorregião de Palmeirante, Tocantins, Brasil e comparar a eficácia entre os métodos de coleta de material ambiental por meio de suabe de arrasto, propés e coleta direta, considerando os períodos de chuva e estiagem nessa região.

MATERIAL E MÉTODOS

Local do experimento

As amostras para pesquisa de *Salmonella* spp. foram oriundas de cinco propriedades rurais (núcleos aviários) do município de Palmeirante, Tocantins. Os cinco núcleos aviários foram denominados de I a V e fazem parte da integradora de frangos caipiras melhorados de corte que fornecem as aves para um abatedouro frigorífico de aves caipiras da região. Os núcleos aviários integrados possuem características comuns de manejo sanitário dos lotes, que são procedentes de estabelecimentos de produção de pintinhos de um dia certificados pelo MAPA, sendo ainda padronizadas as medidas de biossegurança aplicadas nestas propriedades que adotam o sistema de criação semi-extensivo ou semi-aberto.

Coleta das amostras

Foram realizadas duas coletas em cada núcleo aviário, sendo uma no período chuvoso (novembro e dezembro de 2020) e outra no período de estiagem (agosto a setembro de 2021). As amostras foram coletadas utilizando os métodos preconizados na Instrução Normativa nº 20 de 2016, do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2016). Foram coletadas fezes cecais, suabes de arrasto e propés. Ainda foram observados aspectos de limpeza e organização, como a presença de lixo e/ou material em desuso, acumulado dentro ou fora dos galpões e; aspectos de biossegurança como a presença de aves caipiras nativas em seus terrenos.

Para as coletas amostrais com suabe de arrasto e propé, foram utilizados um par de suabe de arrasto amarrados em barbantes, concomitantemente ao uso de um par de propés calçados de maneira a cobrir o solado e parte das botas. Os suabes de arrasto e propés foram umedecidos com água peptonada tamponada. As coletas formaram três *pools* para cada núcleo aviário, o primeiro composto por dois pares de suabe de arrasto (cada suabe de arrasto percorreu 50% da área do galpão aviário), o segundo *pool* foi formado por dois pares de propés usados para percorrer 50% com cada par a área do galpão aviário e, o terceiro *pool* consistiu em 300g de fezes cecais, coletadas manualmente em aliquotas de 1g, em diversos pontos do galpão utilizando-luvas e depositando os excrementos em saco plástico estéril.

Os *pools* dos suabes de arrasto e dos propés foram colocados em bags contendo 25 ml de meio de conservação, sendo acondicionados na caixa térmica para conservação da temperatura no percurso entre as propriedades rurais e o Laboratório de Microbiologia de Alimentos da Universidade Federal do Tocantins (LabMA - UFT). No laboratório, todos os *pools* de amostras receberam 225 mL de água peptonada tamponada a 1%, com homogeneização em Stomacher e colocadas em estufa a 37°C por 24h para

pré-enriquecimento.

Análises microbiológicas

O método ISO 6579: 2002 / Amd 1: 2007 foi utilizado para análise qualitativa de *Salmonella* spp. (International Organization for Standardization [ISO], 2007) com a modificação na identificação do microrganismo, sendo realizada de forma molecular em substituição à etapa dos testes bioquímicos. Do material incubado por 24h a 37°C, foram aliqüotados de cada pool, 1mL e repassados para tubo contendo caldo Selenite Cystine (SC) e, 0,1mL repassados para tubos contendo caldo Rappaport Vassiliadis (RV). Os tubos foram incubados por 24h à temperatura específica de cada meio de cultura para enriquecimento seletivo, aqueles que apresentaram turbidez foram submetidos à sementeira/repique por esgotamento em placas de Petri contendo ágar Xylose-Lysine Deoxycholate (XLD) e ágar *Salmonella* Shiguella (SS) e incubadas por 24h à temperatura de 37°C. Transcorrido este período, colônias de cor rosa a vermelha sugestivas de *Salmonella* spp., foram repicadas em tubos contendo 2ml de caldo Brain Heart Infusion (BHI) e incubados a 37° C por 24h.

Confirmação do gênero Salmonella

Para confirmação dos resultados, os tubos de BHI que apresentaram turbidez foram submetidos à extração de DNA (Ribeiro et al., 2016), para esta etapa foi adicionado em microtubo 1 mL de caldo BHI centrifugando por 3 minutos a 150 rpm (rotações por minuto). Foi desprezado o sobrenadante e o material sólido (pellet) foi ressuspensão adicionando 200µL de solução tampão. Microtubos passaram novamente pela centrífuga por 3 min. a 15.000 rpm e, em seguida foram aliqüotados de cada microtubo, 50µl do conteúdo superficial para microtubos de 500µl, que seguiram para confirmação molecular.

A confirmação molecular dos isolados foi realizada pela técnica de PCR uniplex utilizando primers com alvo ao gene *invA*, gênero-específico para *Salmonella* spp.. Os primers utilizados foram S139 F e S141 R, (GTGAAATTATCGCCACGTTTCGGGCAA e TCATCGCACCGTCAAAGGAACC), com produto estimado de 284 pb, sob as condições de amplificação iniciando com incubação de 60 seg. a 94°C, seguindo de 35 ciclos de desnaturação de 1min. a 94°C, 30 seg. de anelamento a 64°C, 30 seg. de extensão a 72°C e, extensão final por 7 min. a 72°C (Shanmugasamy et al., 2011).

Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância e o teste F aplicado, o valor encontrado determinou a razão entre a variação das médias dos métodos de coleta em relação aos períodos sazonais, e a variação dentro do mesmo método de coleta, na chuva e na estiagem, com nível de confiança de 95%.

RESULTADOS

Na pesquisa foram recuperados 935 isolados sugestivos de *Salmonella* spp., sendo que 90 (9,5%) foram confirmados por PCR para o gene *invA*. Das 30 amostras (pools) analisadas, 45% (13/30) foram

positivas, sendo 46,7% (7/15) positivas no período das chuvas e 40% (6/15) na estiagem. Foi observada a presença do patógeno em três propriedades/núcleos na época chuvosa e em duas propriedades/núcleos no período de estiagem. Não foi verificada a presença de *Salmonella* spp. nas propriedades I e II; na propriedade III houve presença do patógeno apenas na época das chuvas; e nas propriedades IV e V observou-se presença do microrganismo tanto nas chuvas quanto na estiagem (Tabela 1). Nas propriedades em que se constatou a presença de *Salmonella* spp., observou-se a existência de aves caipiras nativas em seus terrenos, além de lixo e material em desuso acumulado dentro e fora dos galpões.

Tabela 1 – Número de isolados sugestivos de *Salmonella* spp. recuperados e número de isolados confirmados (positivos) para *Salmonella* spp. por meio da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) para o gene *invA*, para cada propriedade de frangos caipiras oriundos de núcleos aviários da mesorregião de Palmeirante, Brasil acordo com o método de coleta e o período sazonal.

Propriedades/ núcleos	Método de coleta	Estiagem		Chuvas	
		Sugestivos Recuperados	Positivos	Sugestivos Recuperados	Positivos
I	Pool suabes de arrasto	7	-	65	-
	Pool propés	20	-	22	-
	Coleta direta	4	-	31	-
II	Pool suabes de arrasto	6	-	29	-
	Pool propés	14	-	56	-
	Coleta direta	4	-	23	-
III	Pool suabes de arrasto	18	-	52	14
	Pool propés	12	-	50	7
	Coleta direta	12	-	40	4
IV	Pool suabes de arrasto	50	5	51	2
	Pool propés	48	12	48	2
	Coleta direta	36	2	14	-
V	Pool suabes de arrasto	58	4	18	2
	Pool propés	47	17	31	2
	Coleta direta	66	17	3	-
TOTAL		402	57	533	33

Avaliando o método de coleta em relação ao período sazonal, identificou-se que nas chuvas o suabe de arrasto e propé foram capazes de resultar em mais resultados positivos (60%) para *Salmonella* spp., quando comparado à coleta direta de excrementos (20%) no mesmo período, entretanto não houve diferença estatística ($p > 0,05$). No período de estiagem, os três métodos de coleta amostral tiveram a presença desse patógeno equivalentes a 40% ($p > 0,05$) (Tabela 2).

Tabela 2. Presença de *Salmonella* spp. comparando os métodos de coleta em cada período sazonal e comparando cada método em relação ao período das secas e ao período de estiagem.

Métodos de Coleta	Período Sazonal						
	Chuvas		p-valor (chuvas)	Estiagem		p-valor (estiagem)	p-valor (métodos)
	N	P (%)		N	P (%)		
Suabe de arrasto	5	3 (60)	0,129	5	2 (40)	0,568	0,374
Propé	5	3 (60)		5	2 (40)		0,374
Coleta direta	5	1 (20)		5	2 (40)		0,621
TOTAL		07	-		06	-	-

Valores de p calculados pelo teste F; P: número de positivos

Quando se analisou o mesmo método de coleta entre os períodos sazonais, verificou-se que o suabe de arrasto e propé apresentaram melhores resultados nas chuvas (60%) comparado ao período de estiagem (40%). O contrário foi observado em relação à coleta direta em que apresentou mais positividade para *Salmonella* spp. no período de estiagem (40%) em comparação ao período das chuvas (20%). Entretanto, não houve diferenças significativas em nenhuma das comparações ($p > 0,005$) (Tabela 2).

DISCUSSÃO

Na presente pesquisa, os lotes de frangos caipira eram procedentes de estabelecimento produtor de aves de corte certificadas pelo MAPA como livres ou controlados para *Salmonella* spp. de importância em saúde pública e fazia parte do manejo sanitário nas propriedades, a substituição da cama de aviário a cada troca de lote de aves caipiras, com prévia desinfecção dos galpões e, a realização de período de quarentena de 30 dias com vazio sanitário dos mesmos, mas ainda assim foi encontrada *Salmonella* spp. tanto na chuva, quanto na estiagem, demonstrando a biossegurança como fator relevante nas criações de frangos caipiras, conforme mencionado por Hwang et al. (2020).

Nas propriedades estudadas notou-se que aquelas com resultados negativos para *Salmonella* spp., diferenciavam-se estruturalmente das propriedades com resultados positivos, nas quais as duas propriedades negativas para o patógeno mantinham a propriedade em boas condições de limpeza, organização em relação ao armazenamento e oferta de ração e, sem a presença de aves caipiras nativas criadas soltas em seus terrenos. Condições diferentes foram observadas nas propriedades com presença de *Salmonella* spp., em que se verificou a presença de aves caipiras nativas em seus terrenos e, lixo e material em desuso acumulados dentro e fora dos galpões. Le Bouquin et al. (2010) afirmam que a prevalência de *Salmonella* spp. está mais associada às falhas nas medidas de biossegurança do que com qualquer outro fator.

Para Hwang et al. (2020), a biossegurança nas criações caipiras, especialmente o contato das aves alojadas com outras aves e animais silvestres, expõe o lote a riscos inerentes a outros reservatórios naturais de *Salmonella* spp., sendo este fato observado no presente estudo nas propriedades com amostras positivas,

onde havia presença de galinhas caipiras nativas criadas soltas e que não eram submetidas ao mesmo manejo sanitário das aves caipiras alojadas. Apesar dos lotes das aves caipiras de corte permanecerem em galpões protegidos, telados e com o acesso à área livre também telada, as aves nativas soltas presentes no terreno próximas aos galpões, em três das cinco propriedades pesquisadas, possivelmente podem configurar um fator relevante para introdução de *Salmonella* spp. nas criações caipiras comerciais.

Kim et al. (2007) sugeriram que nas granjas comerciais, o papel dos roedores na epidemiologia da *Salmonella* spp., pode ser um importante fator de risco. Na pesquisa de Ethèves et al. (2021), em que estudaram os fatores de risco para a ocorrência de *S. enterica* em frangos de corte na Ilha da Reunião, no Oceano Índico, confirmaram que em 45% das 39 propriedades positivas para o patógeno havia roedores infectados. E no estudo de Wallner-Pendleton et al. (2014), além da presença de roedores infectados por *Salmonella* Enteritidis, a ausência de vacinação das aves contra o patógeno foram identificados como fatores de risco à ocorrência da salmonelose nas aves em propriedades com sistema de criação semi-aberto. No presente estudo não foi pesquisada a presença de roedores, o controle de pragas e a presença de contaminação por roedores na água de beber ou na ração/alimento das aves caipiras, no entanto, a presença de lixo e material em desuso, dentro e fora dos galpões, em três das propriedades estudadas e com resultados positivos para *Salmonella* spp. pode ser um indicativo de que roedores coexistam com as aves alojadas.

Quanto ao período sazonal, Le Bouquin et al. (2010) argumentam que não é significativo para a ocorrência de *Salmonella* spp., como foi observado na presente pesquisa em que houve o isolamento de *Salmonella* spp. em ambos os períodos sazonais (chuva e estiagem), o que pode ser explicado pelas altas temperaturas da região norte do Brasil, onde o clima tropical é predominante, favorecendo a sobrevivência e crescimento do patógeno devido às temperaturas acima de 25°C, como mencionam Hwang, et al. (2020) que relatam o aumento da probabilidade de sobrevivência do patógeno em temperaturas superiores a essa.

Quando comparada a eficácia dos métodos de coleta, levando em conta o período sazonal, os resultados foram equivalentes quanto à eficácia dos três métodos para a detecção de *Salmonella* spp. em núcleos aviários de frangos caipiras, tanto nas chuvas como na estiagem. Esse resultado, possivelmente se deve à realização das coletas estarem em concordância com a metodologia proposta em norma (MAPA, 2016), ratificando que, mesmo que fatores climáticos, pluviométricos e atmosféricos sofram variações nos períodos sazonais, a aplicação fidedigna dos métodos já normatizados é eficaz no monitoramento ambiental do patógeno, independente da estação climática.

Resultados semelhantes a este quanto a eficácia dos métodos de coleta, foram encontrados por Talorico et al. (2021), que realizaram estudo para comparação dos métodos de coleta de material ambiental em granja de frangos brancos para corte, cujo lote de aves com alta prevalência de *Salmonella* spp. foi desafiado com cepa resistente, em que a conclusão apontou que os métodos de coleta com propé, suabe de arrasto e coleta direta, não apresentaram diferenças significativas quando avaliados os resultados positivos para o patógeno no lote com alta prevalência. Em outros dois estudos, avaliando diferentes tipos de cama de aviários, Garcia et al. (2022) e McCreary et al. (2005), que pesquisaram a presença de microrganismos no ambiente das aves, concluíram que, apesar de diferenças numéricas da detecção de patógenos, não houve diferença significativa entre os métodos de coleta utilizados. A pesquisa de Soria et al. (2017) apontou que

a eficácia dos métodos de coleta não apresentava diferença entre si, mas também observou que o teste mais sensível para a detecção de *Salmonella* spp. foi a partir de fezes frescas (coleta direta), apesar de suabe de arrasto e propé também mostrarem-se sensíveis.

Neste estudo, o desempenho do suabe de arrasto e propé quanto ao maior número de isolados positivos para *Salmonella* spp. nas chuvas, pode ter influência agregadora de fatores como a umidade, tendo em vista que o material do suabe de arrasto e propé tende a absorver mais umidade e isso, possivelmente, determinou a melhor aderência do material ambiental. Além disso, segundo Monteiro & Holsbach (2020), as injúrias sofridas pelo patógeno e a competição com outros microrganismos presentes na cama de aviário durante a estiagem influenciam na menor recuperação de *Salmonella* spp. pelo propé e suabe de arrasto nesta época do ano. A umidade, portanto, pode ser um fator que limite a recuperação de *Salmonella* spp. em fezes frescas de aves na região tropical do Brasil.

No trabalho é importante ressaltar que as normas para controle e monitoramento de *Salmonella* spp em frangos de corte foram direcionadas para avicultura comercial do frango branco que possui um sistema de criação em alta escala e, as recomendações para a avicultura caipira obedecem essas regras, que não levam em consideração fatores como biossegurança que, nas criações caipiras sofrem influência de diversos fatores, e que normalmente, neste tipo de criações, a exploração é uma atividade de agricultura familiar com recursos e estrutura limitados.

CONCLUSÃO

Foi possível isolar e identificar *Salmonella* spp. nas granjas avícolas de frango caipira pesquisadas, tanto na chuva quanto na estiagem. Práticas de manejo sanitário e biossegurança podem ter influenciado o status dos núcleos aviários quanto à presença do patógeno. Os métodos de coleta suabe de arrasto, propé e coleta direta de excrementos não apresentaram para detecção de *Salmonella* spp. em núcleos aviários, e portanto, podem ser empregados no monitoramento e controle do patógeno na cadeia de produção do frango caipira na região tropical do Brasil, independente da época do ano.

Verificou-se a necessidade de reforçar as medidas sanitárias e de biossegurança nas propriedades, tendo em vista que a ocorrência de *Salmonella* spp. foi observada nas diferentes épocas do ano. A tipificação dos sorovares presentes nessas criações também pode complementar esse monitoramento, para que haja a possibilidade da tomada de medidas de controle de *Salmonella* spp. nos núcleos avícolas e nos estabelecimentos de abate de aves caipiras.

REFERÊNCIAS

- Ansari-Lari, M., Hosseinzadeh, S., Manzari, M., & Khaledian, S. (2022). Survey of *Salmonella* in commercial broiler farms in Shiraz, southern Iran. *Preventive Veterinary Medicine*, 198(January), 1–9. <https://doi.org/10.1016/J.PREVETMED.2021.105550>
- Borges, K. A., Furian, T. Q., De Souza, S. N., Tondo, E. C., Streck, A. F., Salle, C. T. P., De Souza Moraes, H. L., & Do Nascimento, V. P. (2017). Spread of a major clone of *Salmonella enterica* serotype *Enteritidis* in poultry and in salmonellosis outbreaks in Southern Brazil. *Journal of Food Protection*, 80(1), 158–163. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-16-299>
- Calle, A., Carrascal, A. K., Patiño, C., Carpio, C., Echeverry, A., & Brashears, M. (2021). Seasonal effect on *Salmonella*, Shiga toxin-producing *E. coli* O157:H7 and non-O157 in the beef industry in Colombia, South America. *Heliyon*, 7(7). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e07547>
- Ethèves, M. A., Choisis, N., Alvarez, S., Dalleau, F., Hascoat, J., Gallard, V., & Cardinale, E. (2021). Risk factors for *Salmonella enterica* subsp. *enterica* persistence in broiler-chicken flocks on Reunion Island. *Heliyon*, 7(3). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e06278>
- Garcia, J. S., Jones, D. R., Gast, R. K., Robison, C. I., Regmi, P., & Karcher, D. M. (2022). Influence of forage substrates on environmental and egg microbiology in cage-free aviary housing. *Journal of Applied Poultry Research*, 31(1). <https://doi.org/10.1016/j.japr.2021.100225>
- Hwang, D., Rothrock, M. J., Pang, H., Dev Kumar, G., & Mishra, A. (2020). Farm management practices that affect the prevalence of *Salmonella* in pastured poultry farms. *Lwt*, 127(April), 109423. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109423>
- Hwang, D., Rothrock, M. J., Pang, H., Guo, M., & Mishra, A. (2020). Predicting *Salmonella* prevalence associated with meteorological factors in pastured poultry farms in southeastern United States. *Science of the Total Environment*, 713. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.136359>
- ISO (2007). International Organization for Standardization. (2007). *ISO 6579 2002 Amd 1 2007 Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the Salmonella spp.* www.iso.org
- Kim, A., Lee, Y. J., Kang, M. S., Kwag, S. I., & Cho, J. K. (2007). Dissemination and tracking of *Salmonella* spp. in integrated broiler operation. *Journal of Veterinary Science*, 8(2), 155–161. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17519569/>
- Le Bouquin, S., Allain, V., Rouxel, S., Petetin, I., Picherot, M., Michel, V., & Chemaly, M. (2010). Prevalence and risk factors for *Salmonella* spp. contamination in French broiler-chicken flocks at the end of the rearing period. *Preventive Veterinary Medicine*, 97(3–4), 245–251. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2010.09.014>
- MAPA (2003). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Instrução Normativa N° 78, de 3 de novembro de 2003. Aprova as s Normas Técnicas para Controle e Certificação de Núcleos e Estabelecimentos Avícolas como livres de *Salmonella Gallinarum* e de *Salmonella Pullorum* e Livres ou Controlados para *Salmonella Enteritidis* e para *Salmonella Typhimurium*., Pub. L. No. 78, 3 (2003).
- MAPA (2007). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa N° 56 de 2007. Estabelece os procedimentos para registro, fiscalização e controle de estabelecimentos avícola de reprodução, comerciais e de ensino ou pesquisa., Pub. L. No. 56, Diário Oficial da União, Sessão 111 (2007). https://www.avisite.com.br/legislacao/anexos/IN_56_04-12-07.pdf
- MAPA (2016). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa N° 20, de 21 de

outubro de 2016. Estabelece o controle e o monitoramento de *Salmonella* spp. nos estabelecimentos avícolas comerciais de frangos e perus de corte e nos estabelecimentos de frangos, galinhas, perus de corte e reprodução., Pub. L. No. 20, Diário Oficial da União, Sessão 1, 13 (2016).
<http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=consultarLegislacaoFederal>

- Mccrea, B. A., Norton, R. A., Macklin, K. S., Hess, J. B., & Bilgili, S. F. (n.d.). *Recovery and Genetic Similarity of Salmonella from Broiler House Drag Swabs Versus Surgical Shoe Covers*.
- Mendonça, E. P. (2016). Características de virulência, resistência e diversidade genética de sorovares de *Salmonella* com impacto na saúde pública, isolados de frangos de corte no Brasil [Tese]. In *Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Uberlândia*. Universidade Federal de Uberlândia.
- Monteiro, M. F., & Holsbach, V. T. K. (2020). Isolamento e Identificação de *Salmonella* spp. em ceco e Suabe de Arrasto Propé de Cama de Aves. *Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária FAG*, 3(1), 132–143. <C:/Users/Cliente%20Especial/Desktop/Downloads/1159-3315-1-PB.pdf>
- O'Bryan, C. A., Ricke, S. C., & Marcy, J. A. (2022). Public health impact of *Salmonella* spp. on raw poultry: Current concepts and future prospects in the United States. *Food Control*, 132(September 2021), 108539. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108539>
- OMS - Organização Mundial de Saúde. (2018). *Salmonella (non-typhoidal)*. WHO. [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-\(non-typhoidal\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-(non-typhoidal))
- Ong, L. P., Muniandy, K., How, S. P., Yip, L. S., & Lim, B. K. (2014). *Salmonella* ISOLATION FROM POULTRY FARMS IN MALAYSIA FROM 2011 TO 2013. In *Malaysian Journal of Veterinary Research* (Vol. 5). <https://www.rhonema.com/wp-content/uploads/2016/04/Salmonella-abstract.pdf>
- Ribeiro, J. C., Tamanini, R., Soares, B. F., De Oliveira, A. M., De Godoi Silva, F., Da Silva, F. F., Augusto, N. A., & Beloti, V. (2016). Efficiency of boiling and four other methods for genomic DNA extraction of deteriorating spore-forming bacteria from milk. *Semina: Ciências Agrárias*, 37(5), 3069–3078. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2016v37n5p3069>
- Rural Pecuária, T. e M. (2014). *Produção de frango caipira é alternativa para complementar renda*. <https://ruralpecuaria.com.br/tecnologia-e-manejo/avicultura/producao-de-frango-caipira-e-alternativa-para-complementar-renda.html>
- Shanmugasamy, M., Velayutham, T., & Rajeswar, J. (2011). Inv a gene specific pcr for detection of *Salmonella* from broilers. *Veterinary World*, 4(12), 562–564. <https://doi.org/10.5455/vetworld.2011.562-564>
- Soria, M. C., Soria, M. A., Bueno, D. J., Godano, E. I., Gómez, S. C., ViaButron, I. A., Padin, V. M., & Rogé, A. D. (2017). *Salmonella* spp. contamination in commercial layer hen farms using different types of samples and detection methods. *Poultry Science*, 96(8), 2820–2830. <https://doi.org/10.3382/ps/pex053>
- Talorico, A. A., Bailey, M. A., Munoz, L. R., Chasteen, K. S., Pal, A., Krehling, J. T., Bourassa, D. v., Buhr, R. J., & Macklin, K. S. (2021). The use of roller swabs for *Salmonella* detection in poultry litter. *Journal of Applied Poultry Research*, 30(3). <https://doi.org/10.1016/j.japr.2021.100163>
- Wallner-Pendleton, E. A., Patterson, P. H., Kariyawasam, S., Trampel, D. W., & Denagamage, T. (2014). On-farm risk factors for *Salmonella Enteritidis* contamination. *Journal of Applied Poultry Research*, 23(2), 345–352. <https://doi.org/10.3382/japr.2014-00943>

CAPÍTULO III
Segundo as normas da revista Semina Ciências Agrárias

Comparison of quality and microbiological safety between chickens under federal inspection, state and without sanitary inspection

Comparação da qualidade e segurança microbiológica entre frangos sob inspeção federal, estadual e sem inspeção sanitária

Hellen Núbia Carlos Maciel Miranda^{1*}; Claudio Roberto Martins¹; Ézio Machado Rodrigues¹; Fernando Loiola Nunes¹; Jeycy Kelly Mendonça Sirqueira¹; Bianca Perera Dias¹; Cristiane Alves Nascimento²; Alessandro José Ferreira³; José Carlos Ribeiro Júnior⁴; Katyane de Sousa Almeida⁴;

Highlights

- Degree of microbiological contamination in poultry products;
- Poultry Slaughterhouse with official registration.
- Presence of pathogens in chicken carcasses;
- Presence of *E. coli* STEC producing shiga toxin in poultry meat;
- Loss of sanitary control.

Abstract

Foodborne Diseases (VAD) bring serious harm to public health and can be transmitted by meat consumption or cross-contamination by raw foods. The rules for slaughtering and processing poultry products in establishments under the official inspection service contribute to food safety. This study aimed to compare the quality and microbiological safety between chickens produced in establishments under Federal Inspection Service (SIF), State Inspection Service (SIE) and illegally marketed in the north of Tocantins. Aerobic mesophiles, psychrotrophs, coagulase-positive *Staphylococcus*, coliforms at 30°C and 45°C were quantified. A qualitative research was also carried out on the pathogens diarrheagenic *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp. To compare quality and microbiological safety, analysis of variance and Tukey's test were performed. The counts for the microbiological quality indicators above the parameter established in the Brazilian standard in some samples (for mesophilic aerobics 10% and 20% of the samples with SIF and SIE, respectively, presented non-conforming results, while 70% of the samples without inspection had non-conforming results) samples from clandestine chickens showed significantly higher

¹ Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Sanidade Animal e Saúde Pública nos Trópicos (UFT, Araguaína, TO, Brasil. E-mail: hellenmac0711@gmail.com;

² Laboratório de Microbiologia de Alimentos (LabMA), Universidade Federal do Tocantins (UFT), Araguaína, TO, Brasil. E-mail: crisalves9@hotmail.com

³ Agência de Defesa Agropecuária do Tocantins (ADAPAEC - TO), Araguaína, TO, Brasil. E-mail: dr.alessandro.vet@gmail.com;

⁴ Professor(a) Adjunto(a), Universidade Federal do Tocantins (UFT), Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia (EMVZ), Araguaína, TO, Brasil. E-mail: katyanesalmeida@gmail.com; jcribeiro@uft.edu.br

* Autor for correspondence

results for coagulase-positive *Staphylococcus* ($p < 0.005$) than samples from SIE and SIF, implying an enterotoxic potential of the samples, even after heat treatment. All samples showed at least one of the studied pathogens. For *Salmonella* spp. the highest proportion (100%) was found in chicken samples from establishments with SIE ($p < 0.005$). The highest degree of contamination in relation to the quality indicators was observed in the samples of clandestine chicken, in addition to the presence of STEC (*E. coli* producing shiga toxin) in these samples, denoting the importance of promoting health education actions for consumers to purchase food of animal origin and intensification of sanitary inspection actions, guaranteeing the quality of microbiologically safe foods.

Key Words: chicken meat, cross contamination, *E. coli* STEC, microbiological indicators public health.

Resumo

As Doenças Veiculadas por Alimentos (DVA) trazem sérios agravos à saúde pública e podem ser transmitidas pelo consumo de carne ou pela contaminação cruzada por alimentos crus. As normas para abate e processamento dos produtos avícolas em estabelecimentos sob o serviço de inspeção oficial colaboram para a segurança dos alimentos. Esse trabalho objetivou comparar a qualidade e segurança microbiológica entre frangos produzidos em estabelecimentos sob Serviço de Inspeção Federal (SIF), Serviço de Inspeção Estadual (SIE) e clandestinos comercializados no norte do Tocantins. Foram quantificados aeróbios mesófilos, psicrotróficos, *Staphylococcus* coagulase positiva, coliformes a 30°C e a 45°C. Também foi realizada a pesquisa qualitativa dos patógenos *Escherichia coli* diarreiogênica, *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* spp. Para a comparação da qualidade e segurança microbiológica foi realizada a análise de variância e o Teste de Tukey. As contagens para os indicadores de qualidade microbiológica acima do parâmetro estabelecido em norma brasileira em algumas amostras (para aeróbios mesófilos 10% e 20% das amostras com SIF e SIE, respectivamente, apresentaram resultados inconformes, enquanto 70% das amostras sem inspeção tiveram resultados inconformes) As amostras dos frangos clandestinos apresentaram resultados significativamente maiores para *Staphylococcus* coagulase positiva ($p < 0,005$) em relação as amostras do SIE e do SIF, implicando em potencial enterotóxico das amostras, mesmo após o tratamento térmico. Todas as amostras apresentaram pelo menos um dos patógenos pesquisados. Para *Salmonella* spp. a maior proporção (100%) foi constatada em amostras de frango provenientes de estabelecimento com SIE ($p < 0,005$). O maior grau de contaminação em relação aos indicadores de qualidade foi observado nas amostras de frango clandestino, além da presença STEC (*E. coli* produtora de toxina shiga) nessas amostras, denotando a importância de promoção de ações de educação sanitária dos consumidores para aquisição de alimentos de origem animal e intensificação de ações fiscalização sanitária, garantindo a qualidade de alimentos microbiologicamente seguros.

Palavras-chave: carne de frango, contaminação cruzada, *E. coli* STEC, indicadores microbiológicos, saúde pública.

INTRODUÇÃO

Em todo o mundo, 66% das doenças veiculadas por alimentos (DVA) são causadas por patógenos bacterianos como *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* spp. (Addis & Sisay, 2015). Nas Américas, de acordo com dados da OMS, 77 milhões de pessoas são acometidas anualmente por agravos à saúde em decorrência de DVA resultando em 9000 mortes. No Brasil, os custos originados por agravos à saúde em razão das DVA, geram gastos de 7,4 milhões por ano (OPAS, 2021b).

Exceto para *Salmonella* spp., em que o monitoramento e controle ocorre desde a origem dos lotes das aves até o abate e processamento dos frangos em estabelecimentos sob serviço de inspeção oficial (Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento [MAPA], 2016), não há monitoramento para os demais microrganismos em granjas avícolas de frangos de corte, sendo então possível que criações infectadas sejam fonte de contaminação em ambientes de abate e processamento, especialmente os locais de abate clandestino que não possuem procedimentos e elementos de controle (Esteban et al., 2008).

O Ministério da Saúde, por meio de resolução e instrução normativa da Agência Nacional de Vigilância Sanitária estabelece os padrões microbiológicos para alimentos, adotadas também pelos estabelecimentos sob registro em órgãos oficiais de fiscalização sanitária, preconizando para os produtos avícolas que incluem o frango congelado, os ensaios laboratoriais para detecção de *Salmonella* Enteritidis, *Salmonella* Typhimurium, *E. coli* e aeróbios mesófilos (Ministério da Saúde Agência Nacional de Vigilância Sanitária [ANVISA], 2022), e a detecção de *L. monocytogenes* apenas para alimentos prontos para o consumo (ANVISA, 2022; MAPA, 2013).

Os microrganismos indicadores no produto final, demonstram o grau e as condições sanitárias em que o processamento dos produtos foi realizado, incluindo das fases de obtenção ao armazenamento, além do potencial perigo microbiológico que o produto pode oferecer ao consumidor e sua vida útil (Esmerino & Pentead, 2011; Kunert-Filho et al., 2022). Além de microrganismos presentes na pele e penas, a própria ave quando do processamento de sua carcaça, pode levar à contaminação por *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp., *E. coli* e *S. aureus*, nas fases de processamento do abate e, por conseguinte poderão estar presentes nos produtos avícolas em níveis capazes de provocar doença, principalmente se o local de abate e as condições de produção não forem dotados de autocontroles capazes de determinar a qualidade microbiológica dentro dos preconizados em legislações vigentes (Pacheco, 2013; Souza et al., 2014).

Não há dados no Brasil que tragam estimativas sobre o total de abates clandestinos, incluindo aves, os quais não possuem qualquer tipo de inspeção sanitária, ou sobre o quantitativo do consumo dos produtos provenientes desse tipo de abate (Assi et al., 2018; Magioli, 2017). Apesar da falta de dados, nota-se o desenvolvimento das atividades informais de abate de aves, paralelamente à indústria e comércio formais, o que contribui para as estatísticas de DVA (Assi et al., 2018). Assim, o objetivo deste trabalho foi comparar a qualidade microbiológica de produto avícola produzido em estabelecimento sob Serviço de Inspeção Federal (SIF), Serviço de Inspeção Estadual do Tocantins (SIE) e, produtos sem inspeção sanitária (clandestinos), identificando patógenos de importância em saúde pública para fundamentar programas de educação sanitária e ações de fiscalização.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostras

Foram avaliadas 31 amostras de frangos inteiros congelados de diferentes lotes, adquiridos ao longo dos anos de 2020 e 2022, sendo 11 frangos de origem de frigoríficos sob SIF, 10 frangos congelados de origem em frigorífico sob SIE-TO e, 10 frangos congelados abatidos e comercializados sem fiscalização sanitária (clandestino). As amostras de frango oriundos de frigorífico sob SIE/TO eram frangos caipiras de um abatedouro frigorífico de aves caipiras registrado, cuja matéria-prima do abate provém de núcleos avícolas regulares de criações desse tipo de aves. Os frangos com selo de serviço de inspeção federal foram adquiridos nas gôndolas frigorificadas de supermercados do comércio local e, os frangos caipiras clandestinos foram adquiridos em feiras livres do município de Araguaína/TO. Todos os produtos permaneceram preservados em suas embalagens originais, armazenados em temperatura à -12°C e imediatamente encaminhados para análise no Laboratório de Microbiologia de Alimentos (LabMa) da Universidade Federal do Norte do Tocantins, Campus Araguaína, Brasil.

Microrganismos analisados

Foram analisados coliformes totais (30°C) e termotolerantes (45°C), *Staphylococcus* coagulase positiva, microrganismos aeróbios mesófilos e psicrotróficos, *E. coli* diarreio gênica, *Salmonella* spp. e *L. monocytogenes*. Para as análises foram utilizados fragmentos da pele e músculo das regiões pericloacal, peito, asa e pescoço totalizando uma alíquota de 25g representativa de cada amostra, acondicionadas em sacos plásticos estéreis e identificadas para análise. Essa alíquota foi diluída em 225mL de água peptonada tamponada (10^{-1}), diluída decimal e sequencialmente até a diluição 10^{-9} em solução salina 0,85%.

Aeróbios mesófilos

Para a contagem e quantificação de microrganismos aeróbios mesófilos foi realizada Contagem Padrão em Placas por meio da técnica de semeadura em meio sólido por profundidade “*pour plate*” conforme *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Food* (Doores et al., 2015) e após 48h de incubação, obteve-se a leitura com a observação de colônias circulares de coloração creme à amarelo escuro e contagem em unidades formadoras de colônia (UFC/g).

Coliformes a 30°C e a 45°C

A análise de coliformes a 30°C e a 45°C seguiu a metodologia do número mais provável (NMP), conforme *American Public Health Association* (APHA) (Doores et al., 2015). A partir dos tubos positivos para coliformes termotolerantes, foram recuperados isolados sugestivos de *E. coli* conforme Oliveira (2020). Colônias sugestivas apresentando coloração negra com brilho verde metálico (Feitosa et al., 2011) foram repicadas e em seguida passadas para o caldo Infusão de Cérebro e Coração (BHI) para extração de DNA de acordo com Ribeiro et al. (2016) e confirmação molecular por meio da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) usando a metodologia de Paton e Paton (1998). As *E. coli* diarreioanogênicas (DEC) (Gomes et al., 2016) pesquisadas foram, *E. coli* enteropatogênicas (EPEC), *E. coli* enterotoxigênicas (ETEC), *E. coli* enteroinvasivas (EIEC), *E. coli* enteroagregativa (EAEC), *E. coli* difusamente aderente (DAEC), *E. coli*

invasora aderente (AIEC) e *E. coli* enterohemorrágica (EHEC) que inclui *E. coli* O157:H7.

Psicrotróficos

A contagem de microrganismos psicrotróficos foi feita pelo método de Contagem Padrão em Placas pela técnica de semeadura em meio sólido de plaqueamento em superfície “spread plate” (Doores et al., 2015), incubadas à 7°C por 10 dias, com verificação de colônias circulares de coloração creme à amarelo escuro e contagem em unidades formadoras de colônia (UFC/g).

Staphylococcus coagulase positiva

A contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva obedeceu a metodologia da ISO 6888-2:1999/Amd.1:2003 em que placas que apresentaram colônias negras com halo de precipitação foram repicadas em tubos de BHI e incubados a 35 a 37 °C por 18 a 24 ± 2 horas. O teste de coagulase positiva foi realizado nestas amostras com posterior leitura para verificação da produção de coagulase positiva (Costa et al., 2011).

Salmonella spp.

A análise qualitativa de *Salmonella* spp. foi realizada seguindo o método ISO 6579: 2002 / Amd 1: 2007 (ISO, 2007) com modificação à identificação molecular de isolados suspeitos de plaqueamento diferencial. As colônias sugestivas em ágar Xylose-Lysine Deoxycholate (XLD) e ágar Salmonella Shiguella (SS) foram repicadas em tubos contendo 2 mL de caldo BHI e incubados a 37° C por 24h e em seguida extraído DNA segundo Ribeiro et al. (2016). A confirmação dos resultados se deu pela PCR feita conforme Shanmugasamy et al. (2011).

L. monocytogenes

L. monocytogenes foi analisada obedecendo a metodologia estandardizada na ISO (2017) 11290-1:1996/Amd 1:2004, com modificação na fase de identificação molecular dos isolados sugestivos em plaqueamento. As colônias características, apresentando-se verde azuladas com halo opaco, foram repicadas em caldo BHI a 37 °C por 18 a 24 e após a incubação, foi feita a extração de DNA (Ribeiro et al., 2016) para confirmação por PCR conforme Chen e Knabel (2007).

Análise estatística

Os cálculos estatísticos foram aplicados utilizando Análise de Variância com 95% de confiança, seguido pelo teste de TuKey a 5% de probabilidade considerando os resultados encontrados em relação aos microrganismos indicadores de qualidade determinados e aos patógenos analisados nos produtos avícolas produzidos sob SIF, SIE e em estabelecimento sem inspeção sanitária. O teste F foi aplicado para verificar se houve variação das médias dos microrganismos indicadores de qualidade e os patógenos analisados.

RESULTADOS

Dentre os parâmetros pesquisados, algumas das amostras de estabelecimento sob Serviço de Inspeção Federal (SIF), sob Serviço de Inspeção Estadual do Tocantins (SIE) e dos clandestinos, tiveram pelo menos um dos indicadores de qualidade microbiológica presente em quantidades superiores ao estabelecido pela Instrução Normativa nº 161 de 1º de julho de 2022 onde para aeróbios mesófilos 10% das amostras de frango com SIF e 20% das amostras de frango SIE, apresentaram resultados acima do limite microbiológico estabelecido nesta norma e, para as amostras de frangos abatidos em locais sem inspeção, 70% destas apresentaram resultados acima do respectivo parâmetro. Quanto aos microrganismos patogênicos pesquisados, ao menos um foi encontrado nas amostras de frango com SIF, SIE e sem inspeção.

Para os parâmetros avaliados, as amostras de estabelecimentos clandestino apresentaram as maiores médias em todos os indicadores de qualidade microbiológica quando comparadas às médias das contagens dos mesmos indicadores em amostras de estabelecimentos sob SIF e estabelecimentos sob SIE (Tabela 1).

Tabela 1. Contagens de indicadores de qualidade microbiológica em amostras sob Serviço de Inspeção Federal (SIF), Serviço de Inspeção Estadual do Tocantins (SIE) e sem inspeção sanitária (clandestino).

Indicadores	Contagens	Tipos de amostras			p-valor
		SIF	SIE	Clandestino	
Aeróbios mesófilos UFC/g	Max.	2,58x10 ⁵	2,65 x10 ⁴	3,7 x10 ⁹	0,1094
	Mín.	1,1 x10 ¹	5,0 x10 ³	1,0 x10 ⁹	
	Média	2,93x10 ⁴	9,6 x10 ³	5,77 x10 ⁸	
	Desv. Pad.	7,77 x10 ⁵	2,68 x10 ⁴	1,17 x10 ⁹	
Coliformes a 30 °C NMP/g	Max.	1,10x10 ³	1,10x10 ⁴	1,10 x10 ⁵	0,3016
	Mín.	7	3	4,60x x10 ²	
	Média	2,58x10 ²	2,28 x10 ³	1,22 x10 ⁷	
	Desv. Pad.	4,29x10 ²	4,59 x10 ³	3,45 x10 ⁷	
Coliformes a 45 °C NMP/g	Max.	1,10x10 ²	1,10 x10 ⁴	1,10 x10 ⁸	0,3807
	Mín.	<0,3	3	1,10x10 ¹	
	Média	2,80x10 ¹	2,23 x10 ³	1,10x10 ⁷	
	Desv. Pad.	3,86 x10 ¹	4,61 x10 ³	3,47 x10 ⁷	
Psicrotrofícos UFC/g	Max.	6,75x10 ⁵	5,00x10 ³	1,70x10 ⁹	0,2281
	Mín.	<100	1,50x10 ³	1,10 x10 ⁵	
	Média	7,13x10 ⁴	4,65 x10 ³	2,56 x10 ⁸	
	Desv. Pad.	2,02 x10 ⁵	1,10 x10 ³	5,19x10 ⁸	
<i>Staphylococcus</i> ** UFC/g	Max.	1,0 x10 ²	<100	1,0x10 ⁵	0,001*
	Mín.	<100	<100	1,0 x10 ²	
	Média	4,0 x10 ¹	<100	9,05 x10 ⁴	
	Desv. Pad.	5,22 x10 ¹	<100	3,15 x10 ⁴	

* Valores significativo pelo teste F. ***Staphylococcus* coagulase positiva. SIE: Serviço de Inspeção Estadual; SIF: Serviço de Inspeção Federal

A contagem de microrganismos aeróbios mesófilos, apresentou grande variação entre as médias nos três tipos de amostras analisadas, onde a maior contagem foi encontrada nos frangos oriundos do abate clandestino ($5,77 \times 10^8$ UFC/g), seguido pelas amostras do SIF ($2,93 \times 10^4$ UFC/g) e do SIE ($9,6 \times 10^3$ UFC/g), respectivamente. O mesmo padrão foi observado nas análises de psicrotróficos e *Staphylococcus* coagulase positiva, nas quais os frangos provenientes do SIE foram os que apresentaram menores médias com $4,65 \times 10^3$ UFC/g para psicrotróficos e não sendo encontrados *Staphylococcus* coagulase positiva. Em relação aos coliformes a 30°C e aos coliformes a 45°C, as amostras provenientes do abate clandestino permaneceram como sendo as de maiores médias, enquanto houve uma inversão nas amostras do SIE e SIF, em que o SIF passou a ser as de menores médias, com $2,58 \times 10^2$ para coliformes a 30°C e $2,80 \times 10^1$ para coliformes a 45°C.

Quando comparados os três tipos de produtos, sob SIF, sob SIE e clandestino, em relação aos indicadores de qualidade microbiológica, verificou-se que mesmo com resultados variáveis entre eles, somente foi verificada diferença significativa para *Staphylococcus* coagulase positiva, em que a média de presença do indicador apresentou-se maior nas amostras de clandestino do que nas amostras de SIF e SIE ($p < 0,05$).

Em relação a pesquisa de patógenos, nos três tipos de amostras, houve resultados positivos quando pesquisados *Salmonella* spp., *E. coli* e *Listeria monocytogenes* (Tabela 2).

Tabela 2. Resultados das análises para identificação de patógenos em amostras sob Serviço de Inspeção Federal (SIF), Serviço de Inspeção Estadual do Tocantins (SIE/TO) e sem inspeção sanitária (clandestino).

Frango congelado	Patógenos confirmados								
	<i>E. coli</i>			<i>Salmonella</i> spp.			<i>L. monocytogenes</i>		
	N	P (%)	p-valor	N	P (%)	p-valor	N	P (%)	p-valor
SIF	11	1 (9,09)		11	7 (63,63)		11	2 (18,18)	
SIE	10	1 (10)	0,4085	10	10 (100)	0,0024*	10	30	0,8447
Clandestino	10	3 (30)		10	3 (30)		10	20	

* Valor significativo pelo teste F. SIE: Serviço de Inspeção Estadual; SIF: Serviço de Inspeção Federal

Dos 94 recuperados sugestivos *E. coli* o resultado foi a presença do patógeno em 9,09% das 11 amostras analisadas no SIF, sendo identificado o patótipo *E. coli* enteroagregativa (EAEC) gene CD432; bem como dos 90 recuperados sugestivos nas análises das 10 amostras sob SIE, em que foi confirmado o mesmo patótipo presente em 10% das amostras. Para as amostras clandestinas, dos 240 recuperados sugestivos, foi verificada a presença de *E. coli* em 30% dos 10 frangos, em que os patótipos identificados foram *E. coli* enteropatogênica (EPEC) gene *eaeA*, *E. coli* produtora de Shiga-toxina gene *stx2* e *E. coli* enteroinvasiva gene *iapH*.

Em relação a presença de *Salmonella* spp., dos 194 recuperados sugestivos das 11 amostras foram confirmados o gene *invA* em 21, resultando em positividade em 63,63% das amostras de SIF. Para as amostras de SIE dos 177 recuperados sugestivos das 10 amostras foram confirmados 54 para o gene *invA*, resultando em positividade em 100% das amostras de SIE, e ; nas 10 amostras de frangos abatidos em local clandestino, dos 172 recuperados sugestivos houve confirmação para o gene *invA* em 21 com 30% de positividade no total de 10 amostras. Para *L. monocytogenes* dos 162 recuperados sugestivos com confirmação pelo método molecular em 21 resultando em positivo em 18,18% das 11 amostras de SIF; dos 121 recuperados

sugestivos com confirmação pelo método molecular em 7 resultando em positivo em 30% das 10 amostras de SIE e; dos 153 recuperados sugestivos com confirmação pelo método molecular em 11 resultando em positivo em 20% das 10 amostras clandestinas.

DISCUSSÃO

Foram observadas elevadas contagens de microrganismos indicadores de qualidade e a presença de patógenos em amostras de estabelecimentos sob SIF, SIE e clandestinas. Tendo em vista que a procedência das aves e o manejo sanitário dos plantéis comerciais influenciam na qualidade dos produtos avícolas, não apenas relacionados à *Salmonella* spp., mas também a outros importantes patógenos e indicadores de qualidade, já era esperado que nas amostras clandestinas ocorressem resultados fora do padrão da legislação vigente que estabelece limites microbiológicos de alimentos (ANVISA, 2022).

Os resultados para os estabelecimentos sob SIF e SIE demonstram que em algum ponto da cadeia produtiva houve falhas relacionadas ao cumprimento da normativa de controle e monitoramento de *Salmonella* spp. nos núcleos avícolas comerciais de frango de corte (MAPA, 2016) e, sobretudo, no ponto da cadeia de produção que diz respeito ao regulamento de inspeção tecnológica e higiênico sanitária de carne de aves que engloba estrutura, equipamentos e procedimentos sanitários das diversas fases do abate das aves em estabelecimentos com fiscalização e inspeção oficiais (MAPA, 2019; MAPA, 1998).

Em relação à contagem dos indicadores de qualidade microbiológica, as maiores médias foram encontradas nas amostras de frango clandestino, em comparação com as médias de contagem nas amostras de SIF e SIE, o que também foi verificado por outros trabalhos como na pesquisa de Kunadu et al. (2020) e de Moura (2012). A contagem de microrganismos aeróbios mesófilos apresentou a maior variação entre as médias nos três tipos de amostras, em que os frangos clandestinos apresentaram a maior média. Resultado semelhante foi encontrado em outros estudos (Moura Filho et al., 2010; Moura, 2012; Kunadu et al., 2020), sendo este fato, atribuído às condições de processamento e manipulação das carcaças e a ausência de cadeia de frio nos estabelecimentos artesanais/clandestinos (Moura Filho et al., 2010).

Destaca-se que a média das amostras do SIF e do SIE para os aeróbios mesófilos representaram menos de 1% da média encontrada nas amostras do clandestino, demonstrando a importância da fiscalização dos processos e operações sanitárias e a inspeção dos produtos. Os estabelecimentos sob SIE e SIF, seguem os padrões microbiológicos estabelecidos em norma do Ministério da Saúde (ANVISA, 2022) e do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2016), exigindo das empresas a realização dos ensaios para classificar os produtos em resultados satisfatório e de qualidade aceitável, resultado intermediário e qualidade inaceitável e, resultado insatisfatório com qualidade inaceitável, de acordo com o limite microbiológico estabelecido que é de 10^5 UFC/g. Baseado nesse limite, todas as amostras do SIE apresentaram-se com resultado satisfatório e qualidade aceitável (conforme ou dentro do padrão), enquanto 9,09% das amostras do SIF tiveram resultado insatisfatório sendo classificadas como de qualidade inaceitável (inconforme ou fora do padrão). Nas amostras de clandestino, 70% apresentaram-se com resultado insatisfatório e qualidade inaceitável.

A elevada contagem de aeróbios mesófilos é indicativa de ausência ou perda de controle sanitário na cadeia de produção e no processamento dos produtos de origem animal (Silva, 2012), o que é confirmado pelos resultados das maiores médias de aeróbios mesófilos nas amostras clandestinas, onde é sabida a precariedade das condições de abate e processamento delas. Para os estabelecimentos com inspeção, além do auto de infração para resultados de análises representativas considerados com qualidade microbiológica insatisfatória, os abatedouros frigoríficos de aves são notificados a realizarem investigação da causa dos problemas que levaram ao resultado insatisfatório, com apresentação e implementação de plano de ações corretivas e realização de novos ensaios que apresentem resultados com qualidade microbiológica satisfatória (MAPA, 2016).

Os achados de coliformes a 30°C nas amostras do SIE, SIF e clandestino, em que os clandestinos apresentaram as maiores contagens, indicam que houve contaminação ambiental, o que pode ocorrer, segundo Fandos et al. (2021), em razão de falhas nas boas práticas de fabricação e limpeza e sanitização de equipamentos e superfícies de contato com o produto. Entretanto, não há norma brasileira ou internacional padronizando limite para este indicador de qualidade e segurança microbiológica e, portanto, não é possível classificar o processo de abate quanto ao grau higiênico-sanitário das etapas e operações sanitárias. Observou-se ainda que a média das amostras do SIF e do SIE representaram também menos de 1% da média encontrada nas amostras clandestinas, evidenciando a importância de todo o controle sanitário na cadeia produtiva do frango de corte e demonstrando que ambientes controlados e monitorados, por meio de programas de autocontrole em elementos de inspeção, favorecem a redução de microrganismos indicadores de qualidade como os coliformes a 30°C.

Para a contagem de coliformes a 45°C, as amostras de SIF apresentaram-se todas com resultado satisfatório e qualidade aceitável, conforme o parâmetro de 10^2 NMP/g estabelecido pela norma brasileira (ANVISA, 2022), enquanto SIE e clandestino apresentaram respectivamente, 20% e 50% das amostras com resultados insatisfatórios e qualidade inaceitável. O principal coliforme a 45°C de importância em saúde pública e com limite microbiológico para alimentos estabelecido em legislação brasileira é *E. coli*, que é capaz de indicar se houve ou não contaminação de origem fecal no processo de fabricação do alimento em níveis capazes de provocar agravo à saúde, seja a contaminação originária das mãos dos manipuladores ou pela ausência das boas práticas de fabricação no processamento de carne de aves.

Em locais de abate clandestino as normativas e procedimentos sanitários não são seguidos e portanto, a tendência é produzir alimentos com altos níveis de contaminação como verificado por diversos autores (Fandos et al., 2021; Moura, 2012; Moura Filho et al., 2010), que também encontraram as maiores contagens de coliformes a 45°C em locais de abate sem inspeção sanitária.

Em relação aos psicrotóxicos, não há limite microbiológico estabelecido para contagem desse indicador de qualidade em legislação brasileira, entretanto considerando o limite estabelecido pela ICMSF (1986) de 10^7 UFC/g, apenas as amostras clandestinas (50%) não ofereceram condições sanitárias apropriadas ao consumo humano. A contagem de psicrotóxicos auxilia no monitoramento dos níveis de contaminação fecal nas carcaças de frango devido a processos de elaboração sem a aplicação de boas práticas de fabricação, resultando na obtenção de produtos comprometidos quanto à deterioração e ao tempo de

prateleira, pois o microrganismo ainda apresenta características proteolíticas e lipolíticas (Lampugnani et al., 2014; Medeiros et al., 2017).

As contagens desse indicador claramente se tornam menores quando as aves são submetidas ao abate em estabelecimentos sob serviço de inspeção oficial que aplicam todas as normas higiênico-sanitárias operacionais no processamento, evidenciando a importância da fiscalização e inspeção sanitária como demonstrado na pesquisa de Pacheco (2013) que concluiu que a redução microbiana tende a ocorrer, significativamente, à medida que as etapas tecnológicas do abate vão ocorrendo em indústrias sob a fiscalização do serviço oficial.

Staphylococcus coagulase positiva apresentou diferença estatística na comparação entre as amostras de SIF, SIE e clandestino em que o frango sem inspeção sanitária apresentou a maior média, enquanto nas amostras provenientes do SIE, o parâmetro não apresentou contagem com o valor mínimo que deve ser considerado (<100). Segundo Doyle et al. (2019), esse indicador de qualidade microbiológica pode estar presente nas carcaças de frango a partir da contaminação cruzada advinda da manipulação feita por colaboradores do processo de abate ou ainda da contaminação de equipamentos e etapas realizadas em desacordo com as normas higiênico-sanitárias, especialmente nas fases de escaldagem, depenagem e etapa de pré-resfriamento e, geralmente essa contagem indica a presença de *S. aureus*, um importante patógeno que pode estar presente em alimentos e causar DVA.

Fandos et al. (2021), em estudo comparando a qualidade microbiológica em carcaças de frangos abatidos em indústria frigorífica, evidenciaram a redução de *Staphylococcus* coagulase positiva após a etapa de resfriamento, denotando a importância do processo tecnificado nas etapas de escaldagem, depenagem e na cadeia de frio, na redução de indicadores de qualidade microbiológica, validando as boas práticas de fabricação e os procedimentos operacionais nas indústrias, ratificando os resultados das médias de indicadores encontrados nas amostras de SIF e SIE em comparação às amostras de clandestinos analisadas na presente pesquisa.

Em abatedouros frigoríficos de aves com registro no serviço de inspeção oficial, existem etapas no processamento das aves que além de fazerem parte da tecnologia de processamento desses produtos, também possuem características sanitárias capazes de inativar patógenos e microrganismos que podem estar presentes nas carcaças das aves. O processo de escaldagem que antecede a depenagem das aves, consiste em expor a aves por imersão em água à temperaturas que podem variar entre 52-70°C, onde a partir de 55°C, a redução de microrganismos aeróbios mesófilos e patógenos como *Salmonella* spp. e *E. coli* tendem a sofrer redução e/ou inativação (Fogolari et al., 2012; Silva et al., 2021). A etapa de pré-resfriamento e congelamento das carcaças, que devem incidir em carcaças de frango a temperaturas de 4 e -12°C, respectivamente, também são capazes de reduzir microrganismos psicrotróficos (MAPA, 1998; Pacheco, 2013).

As médias das contagens de coliformes a 45°C indicando contaminação fecal e a confirmação da presença de *E.coli* diarreiogênicas nos resultados, denota falhas nos procedimentos operacionais e na higiene dos colaboradores dos estabelecimentos de SIF e SIE, tendo em vista que mesmo que haja diferenças em abatedouros frigoríficos de aves de pequeno e grande porte, devem estar presentes em ambos, as etapas específicas (escaldagem, toaletes de carcaças ao longo do abate, evisceração com controle da contaminação gastrointestinal e, pré-resfriamento) com o objetivo de reduzir a ocorrência de *E. coli* nos dois tipos de estabelecimentos, SIF e SIE.

Ainda assim, a execução do controle sanitário e dos procedimentos operacionais industriais nos estabelecimentos com fiscalização e inspeção sanitária, faz com que o resultado do maior número de amostras clandestinas com o patógeno seja esperado em virtude da própria dinâmica do abate com ausência de equipamentos e etapas tecnológicas sanitariamente adequados.

Nas amostras de SIF e SIE, os patótipos isolados não eram os de maior preocupação em saúde pública, quando comparados à O:157 e STEC produtora de shiga toxina encontrados nas amostras de frangos clandestinos que causam importantes agravos à saúde como quadros de colite hemorrágica, disenteria, cistite, nefrite, infecção de feridas cirúrgicas, septicemia e, especialmente, de síndrome urêmica-hemolítica (SHU), sendo *E. coli* STEC O157 considerada como o patótipo de maior risco à saúde pública (Germano & Germano, 2015). Na pesquisa realizada por Momtaz & Jamshidi (2013), encontraram como principal patótipo em carne de aves nas amostras sem inspeção sanitária STEC O157, concluindo que a carne de frango é um importante produto de origem animal capaz de veicular patótipos de *E. coli* responsáveis por síndrome urêmica-hemolítica (SHU) e colite hemorrágica (HC) em seres humanos.

A presença de *Salmonella* spp. em todas as amostras de SIE, com resultado estatístico apresentando diferença significativa em comparação às amostras de SIF e clandestino, traz a preocupação desde o controle e monitoramento do patógeno nos núcleos avícolas do frango caipira, até as etapas do abate e processamento dentro do abatedouro frigorífico de aves. As possíveis falhas podem ter ocorrido desde o manejo sanitário e as medidas de biossegurança envolvidos na criação desse tipo de aves, como justificado por Silva (2012) quando encontrou maior incidência de *Salmonella* spp. nas amostras de aves caipiras comparadas ao frango industrial, argumentando que as aves caipiras oriundas de criações semi-extensiva, o mesmo sistema de criação das aves caipiras dos frangos abatidos no SIE do Tocantins, são mais suscetíveis à infecção por *Salmonella* spp. devido à sensível biossegurança a que as aves são expostas. Falhas sanitárias e operacionais dos processos dentro do abatedouro frigorífico levam aos resultados encontrados, incluindo falhas nas operações de evisceração e na etapa final de pré-resfriamento por imersão em água, em que detalhes como quantidade de água por carcaça de frango, hipercloração da água (cloro residual 5 ppm), sistema de renovação constante da água e a temperatura da água do tanque de imersão podem reduzir e destruir o patógeno.

O estudo de Pacheco (2013) detectou presença de *Salmonella* spp. após a etapa de pré-resfriamento em 1,8% das amostras analisadas provenientes de frangos abatidos em abatedouro frigorífico industrializado, demonstrando que mesmo em estabelecimentos de abate controlados e com a fiscalização do serviço oficial, as falhas em pontos do processo de produção da carne de aves podem resultar em produtos contaminados, como nos resultados apresentados nesta pesquisa. A norma que rege o controle e monitoramento de *Salmonella* spp. em estabelecimentos sob SIE e SIF determina que para qualquer violação de ciclo de amostragem, as ações fiscais incluam auto de infração e exigência de medidas corretivas que engloba o recolhimento do lote com resultado positivo, para as amostras de produtos avícolas que já tenham sido expedidas para o comércio. A importância do médico veterinário oficial exercendo a fiscalização e interagindo com interlocutores técnicos do controle de qualidade das indústrias com registro no serviço oficial, as orientações e ações fiscais remetidas às inconformidades observadas, são imprescindíveis para a manutenção do autocontrole nos diversos elementos de inspeção das agroindústrias de produtos de origem

animal.

Outra forma de minimizar os problemas de DVAs pela ingestão de produtos avícolas contaminados é a informação, no rótulo, que produtos avícolas comercializados crus devem ser conservados sob a temperatura indicada até o momento do preparo para consumo, que deve ser sob cozimento, conforme prevê legislação específica (ANVISA, 2020), essa informação visa orientar ao consumidor que produtos avícolas crus devem receber tratamento térmico antes do consumo para inativar microrganismos, caso estejam presentes.

L. monocytogenes é um importante patógeno de saúde pública sendo responsável pela listeriose, que leva a altas taxas de hospitalizações e mortes, principalmente em pessoas que fazem parte de grupos de risco quanto à imunidade (Centers for Diseases Control and Prevention [CDC], 2022). A entrada deste patógeno nos estabelecimentos de abate pode acontecer por meio das próprias aves destinadas ao abate, incidindo em contaminação do produto final quando da ocorrência de falhas nos procedimentos sanitários e operações industriais de limpeza e sanitização de equipamentos e superfícies e, persistindo viável após refrigeração e congelamento.

O estudo de Fandos et al. (2021) relata que a presença do patógeno aumentou em até 52% à medida que as carcaças avançaram nas etapas do processamento, afirmando que o patógeno pode ocorrer e aumentar após o resfriamento. Pacheco (2013) também encontrou *L. monocytogenes* em toda a cadeia produtiva da avicultura industrial e na água de escaldagem e pré-resfriamento, demonstrando que o controle do patógenos faz-se importante em toda a cadeia produtiva. Não há na legislação, brasileira ou internacional, parâmetro estabelecido para *L. monocytogenes* para carnes de aves ou outras carnes e, a norma vigente no Brasil só estabelece o parâmetro desse patógeno para alimentos prontos para o consumo (ANVISA, 2022).

Estabelecimentos de abate sob SIF e SIE com processos inconformes ao longo da cadeia de produção de frango, também podem apresentar resultados com altas contagens de microrganismos indicadores da qualidade microbiológica, como sugerem as pesquisas de vários autores (Fandos et al., 2021; Moura, 2012; Moura Filho et al., 2010; Pacheco, 2013), assim como demonstrado na presente pesquisa, onde em amostras analisadas houve a contagem de indicadores de qualidade acima do padrão estabelecido em norma e a presença de patógenos pesquisados. Os resultados de indicadores de qualidade microbiológica em níveis superiores nas amostras de frangos clandestinos e a presença de todos os patógenos pesquisados nessas amostras, sendo ainda identificada a presença de *E.coli* STEC produtora de shiga toxina, considerado importante patotipo em saúde pública, e que nesse tipo de estabelecimento foge qualquer tipo de controle sanitário ou medidas corretivas que melhorem as condições de manipulação e processamento dos frangos. Em contraponto, os estabelecimentos com fiscalização e inspeção oficiais, são passíveis de ações fiscais e ações corretivas e, portanto, evidenciam a necessidade de fiscalização intensa com exigência de melhores resultados da qualidade dos produtos analisados que podem ser obtidos com a capacitação e treinamento das equipes de colaboradores envolvidas nas diversas fases da obtenção desses produtos, assim como e aplicação contínua das normas para abatedouros frigoríficos de aves.

CONCLUSÃO

A comparação da qualidade e segurança microbiológica entre amostras de frangos de procedência de estabelecimentos com SIF, SIE e amostras de frango clandestino, demonstrou que as contagens de microrganismos indicadores foram superiores nas amostras clandestinas, nas quais foi observado além de outros patógenos, a presença de STEC.

A presença de patógenos detectados nas amostras de frangos congelados provenientes de estabelecimentos com inspeção sanitária e sem inspeção sanitária, aponta para um alerta em relação ao monitoramento e controle em toda a cadeia produtiva da avicultura comercial, especialmente no que tange ao rigor da fiscalização em abatedouros frigoríficos de aves com inspeção onde as equipes de colaboradores devem ser treinadas, capacitadas e orientadas quanto ao cumprimento das normas sanitárias para a obtenção de carne de aves com segurança microbiológica. Produtos de origem animal com origem em estabelecimentos com fiscalização e inspeção sanitária oficiais, que aplicam as normas e seguem os critérios exigidos em legislação, tendem a produzir os produtos com segurança e qualidade microbiológica e, portanto, devem ser a escolha do consumidor.

REFERÊNCIAS

- Addis, M., & Sisay, D. (2015). Citation: Addis M, Sisay D (2015) A Review on Major Food Borne Bacterial Illnesses. *J Trop Dis*, 3(4), 176. <https://doi.org/10.4176/2329-891X.1000176>
- ANVISA (2020). Ministério da Saúde. Resolução de Diretoria Colegiada RDC N° 459, de 21 de dezembro de 2020. Estabelece as instruções de preparo, uso e conservação obrigatórias na rotulagem de produtos de carne crua suína e de aves., Diário Oficial da União Edição 245, Seção 1, p. 127 (2020). <https://www.in.gov.br/web/dou/-/>
- ANVISA (2022). Ministério da Saúde. Instrução Normativa N° 161, de 1° de julho de 2022: Estabelece as listas de padrões microbiológicos para alimentos., Pub. L. No. Edição 126, Diário Oficial da União Sessão 1, p. 235 (2022).
- Assi, A. L., Boanova, A. B., Martins, W. S., Pastori, J., & Balian, S. de C. (2018). Análise Do Controverso Funcionamento Clandestino De Avícolas No Município De São Paulo. *Higiene Alimentar*, 2018(32), 76–81. <https://doi.org/10.37585/ha286-287avicolas>
- Borges, K. A., Furian, T. Q., de Souza, S. N., Tondo, E. C., Streck, A. F., Salle, C. T. P., de Souza Moraes, C. T. P., Moraes, H. L. de S., & do Nascimento, V. P. (2022). Bacterial community identification in poultry carcasses using high-throughput next generation sequencing. *International Journal of Food Microbiology*, 364. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2022.109533>
Caracterização de *Staphylococcus* coagulase-positiva utilizando plasmas de diferentes espécies animais. *Rev Inst Adolfo Lutz*, 584–588. <https://docs.bvsalud.org/biblioref/ses-sp/2011/ses-24436/ses-24436-3431.pdf>
- CDC, C. for D. C. and P. (2022, May 30). *Listeria (Listeriosis) _ Listeria _ CDC*. Centre for Disease Control and Prevention. <https://www.cdc.gov/listeria/index.html>
- Chen, Y., & Knabel, S. J. (2007). Multiplex PCR for simultaneous detection of bacteria of the genus *Listeria*, *Listeria monocytogenes*, and major serotypes and epidemic clones of *L. monocytogenes*. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(19), 6299–6304. <https://doi.org/10.1128/AEM.00961-07>
- Costa, M. da G., Pereira, U. de P., Custódio, D. A. D. C., & Silva, N. da. (2011). *DISTRITO FEDERAL* [Tese Doutorado]. Universidade Federal de Goiás.
- Doores, S., Salfinger, I., Tortorello, M. lou, & Wilcke, B. W. (2015). Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. In *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods: Vol. 5 Ed.* American Public Health Association. <https://doi.org/10.2105/mbef.0222>
- Doyle, M. P., Gonzalez, F. D., & Hill, C. (2019). Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers, 5th Edition. In M. P. Doyle, F. D. Gonzalez, & C. Hill (Eds.), *Emerging Infectious Diseases* (5th ed., Vol. 28, Issue 1). Centers for Disease Control and Prevention (CDC). <https://doi.org/10.3201/eid2801.211862>
- Esmerino, L. A., & Penteadó, F. R. (2011). Avaliação Da Qualidade Microbiológica Da Carne De Frango Comercializada No Município De Ponta Grossa - Paraná. *Publicatio UEPG: Ciencias Biologicas e Da Saude*, 17(1), 37–45. <https://doi.org/10.5212/publ.biologicas.v.17i1.0004>
- Esteban, J. I., Oporto, B., Aduriz, G., Juste, R. A., & Hurtado, A. (2008). A survey of food-borne pathogens in free-range poultry farms. *International Journal of Food Microbiology*, 123(1–2), 177–182. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.12.012>
- Fandos, E. G., Arnedo, I. A., Cantalejo, M. J., & Martínez-Laorden, A. (2021). Effect of processing on the microbiological quality and safety of chicken carcasses at slaughterhouse. *International Journal of Food Science and Technology*, 56(4), 1855–1864. <https://doi.org/10.1111/ijfs.14815>

- Fogolari, O., Zottis dos Reis, C., & Sérgio Philippi, L. (n.d.). *Nota Técnica Determining kinetic parameters for thermal inactivation of Escherichia coli in sewage sludge*. Retrieved June 5, 2022, from <https://www.scielo.br/j/esa/a/8GQNZS3ZQgRGsMnkDyNnGrG/?format=pdf&lang=pt>
- Germano, P. M. L., & Germano, M. I. S. (2015). *Higiene e Vigilância Sanitária dos Alimentos* (5a Edição).
- Gomes, T. A. T., Elias, W. P., Scaletsky, I. C. A., Guth, B. E. C., Rodrigues, J. F., Piazza, R. M. F., Ferreira, L. C. S., & Martinez, M. B. (2016). Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Brazilian Journal of Microbiology*, 47, 3–30. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2016.10.015>
- ICMSF, I. C. on M. S. for F. (1986). *MICRO ORGANISMS IN FOODS 2 Sampling for microbiological analysis: Principles and specific applications* (2a Ed.). Blackwell Scientific Publications. <https://seafood.oregonstate.edu/sites/agscid7/files/snic/sampling-for-microbiological-analysis-principles-and-specific-applications-icmsf.pdf>
- ISO, I. O. for S. (2007). ISO 6579 2002 Amd 1 2007 Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the *Salmonella* spp. www.iso.org
- ISO, I. O. for S. (2017). Microbiology of the food chain — Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* and of *Listeria* spp. — Part 1: Detection method. In *International Standard* (pp. 1–44).
- Kunadu, A. P., Otwey, R. Y., & Mosi, L. (2020). Microbiological quality and *Salmonella* prevalence, serovar distribution and antimicrobial resistance associated with informal raw chicken processing in Accra, Ghana. *Food Control*, 118. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107440>
- Kunert-Filho, H. C., Furian, T. Q., Sesterhenn, R., Chitolina, G. Z., Willsmann, D. E., Borges, K. A., Salle, C. T. P., Moraes, H. L. de S., & do Nascimento, V. P. (2022). Bacterial community identification in poultry carcasses using high-throughput next generation sequencing. *International Journal of Food Microbiology*, 364. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2022.109533>
- Lampugnani, C., Perin, A. P., Ziech, R. E., Sereno, M. J., Viana, C., & Bersot, L. dos S. (2014). *Atividade Psicrotrófica e Proteolítica de Enterobactérias Isoladas de Carcaças de Frangos*. 229–230. <https://doi.org/10.5151/foodsci-microal-115>
- Magioli, C. A. (2017, August 7). *Abate Clandestino*. Animal Business. <https://animalbusiness.com.br/colunas/inspecao-e-alimentos/abate-clandestino/>
- MAPA (2013). Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Norma Interna N° 01, de 9 de agosto de 2013. Aprova os procedimentos operacionais complementares à Instrução Normativa n° 09, de 8 de abril de 2009, definindo os procedimentos para a coleta oficial de amostras para o controle de *Listeria monocytogenes* em produtos de origem animal prontos para o consumo, adotados pelo Serviço de Inspeção Federal. Diário Oficial da União. Seção 1 (2013).
- MAPA (2016). Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa N° 20, de 21 de outubro de 2016. Estabelece o controle e o monitoramento de *Salmonella* spp. nos estabelecimentos avícolas comerciais de frangos e perus de corte e nos estabelecimentos de frangos, galinhas, perus de corte e reprodução., Pub. L. No. 20, Diário Oficial da União. Sessão 1, p. 13 (2016). <http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=consultarLegislacaoFederal>
- MAPA (1998). Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Portaria N° 210 De 10 De Novembro De 1998 - Aprova o Regulamento Técnico da Inspeção Tecnológica e Higiênico-Sanitária de Carne de Aves., Pub. L. No. 210/98, 1998 Ministério Da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Sessão 1, p. 226 (1998).

https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/Portaria-210_000h19kjan02wx7ha0e2uuw60rmjy11.pdf

- MAPA (2019). Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. PORTARIA Nº 74, DE 7 DE MAIO DE 2019 -, Pub. L. No. portaria 74, Diário Oficial da União. Seção 1, p.12 (2019).
- Medeiros, M. D. G. G. D. A., de Carvalho, L. R., & Franco, R. M. (2017). Percepção sobre a higiene dos manipuladores de alimentos e perfil microbiológico em restaurante universitário. *Ciencia e Saude Coletiva*, 22(2), 383–392. <https://doi.org/10.1590/1413-81232017222.17282015>
- Momtaz, H., & Jamshidi, A. (2013). Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from chicken meat in iran: Serogroups, virulence factors, and antimicrobial resistance properties. *Poultry Science*, 92(5), 1305–1313. <https://doi.org/10.3382/ps.2012-02542>
- Moura Filho, L., Bezerra, S., Barros, G., Melo, H., & Mendes, E. (2010). Perfil microbiológico da carne de frangos abatidos artesanalmente e na indústria, comercializados na grande Recife-PE. *Medicina Veterinária*, 4(1), 12.
- Moura, L. A. de. (2012). *Qualidade Bacteriológica de Carcaças ee Aves, sob Diferentes Condições Das Operações de Abate, Comercializadas em Feiras Urbanas do Distrito Federal*. Tese Doutorado – Universidade Federal de Goiás, Goiânia.
- OLIVEIRA, M. DA S (2020). *Qualidade Higiênico-Sanitária e Perigos Microbiológicos dos Queijos Minas Frescal Clandestinos Comercializados no Norte Do Tocantins*. Dissertação Mestrado - Universidade Federal do Tocantins, Araguaína.
- OPAS, O. P.-A. da S. (2021b, June 7). *Segurança dos Alimentos é Responsabilidade de Todos*. OPAS OMS. [https://www.paho.org/pt/noticias/6-6-2019-seguranca-dos-alimentos-e-responsabilidade-todos#:~:text=Alimentos%20n%C3%A3o%20seguros%20tamb%C3%A9m%20dificultam,os\)%20trabalhadoras\(es\)](https://www.paho.org/pt/noticias/6-6-2019-seguranca-dos-alimentos-e-responsabilidade-todos#:~:text=Alimentos%20n%C3%A3o%20seguros%20tamb%C3%A9m%20dificultam,os)%20trabalhadoras(es).).
- Pacheco, D. O. (2013). *Qualidade microbiológica da cadeia de carne de aves da região Sul do Rio Grande do Sul, Brasil* [Dissertação, Universidade Federal de Pelotas]. <https://wp.ufpel.edu.br/ppgna/files/2013/07/Disserta%C3%A7%C3%A3o-Denise-Oliveira-Pacheco.pdf>
- Paton, A. W., & Paton, J. C. (1998). Detection and Characterization of Shiga Toxigenic *Escherichia coli* by Using Multiplex PCR Assays for stx 1 , stx 2 , eaeA, Enterohemorrhagic E. coli hlyA, rfb O111 , and rfb O157. In *JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY* (Vol. 36, Issue 2).
- Ribeiro, J. C., Tamanini, R., Soares, B. F., de Oliveira, A. M., de Godoi Silva, F., da Silva, F. F., Augusto, N. A., & Beloti, V. (2016). Efficiency of boiling and four other methods for genomic DNA extraction of deteriorating spore-forming bacteria from milk. *Semina: Ciências Agrárias*, 37(5), 3069–3078. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2016v37n5p3069>
- Shanmugasamy, M., Velayutham, T., & Rajeswar, J. (2011). Inv a gene specific pcr for detection of salmonella from broilers. *Veterinary World*, 4(12), 562–564. <https://doi.org/10.5455/vetworld.2011.562-564>
- Silva, D. C. (2012). *Comparativo das Características das Carnes de Frango Caipira e Industrial da Região do Oeste do Rio Grande do Norte*. [Dissertação]. Universidade Federal Rural do Semi-árido UFERSA.
- Silva, S. C., Pinto, V. A. de A., Guinzelli, D. C., Lima, C. P. de, & Cruz, F. G. da. (2021). OPERAÇÃO DE ABATE DE FRANGO DE CORTE E MEDIÇÕES DAS TEMPERATURAS DAS CARCAÇAS: IMPORTÂNCIA NA QUALIDADE DA CARNE / BROILER SLAUGHTER OPERATION AND CARCASS TEMPERATURE MEASUREMENTS: IMPORTANCE IN MEAT QUALITY. *Brazilian Journal of Development*, 7(3), 26656–26663. <https://doi.org/10.34117/bjdv7n3-390>

Souza, G. C. de, Gonçalves, H. R. de O., Gonçalves, H. E. de O., & Coêlho, J. L. de S. (2014, March). Características Microbiológicas da Carne de frango. *Revista ACSA*, *10*, 12–17.
<http://revistas.ufcg.edu.br/acsa/index.php/ACSA/article/viewFile/353/pdf>

CAPÍTULO IV

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Demonstrada a eficácia da utilização dos três métodos de coleta de excrementos aviários entende-se que pode ser feita a escolha de qualquer no monitoramento e controle do patógeno na cadeia de produção do frango caipira para a pesquisa de *Salmonella* spp. Como isolamento deste patógeno, especialmente no período seco, nota-se que existe a necessidade de intensificar as aplicações de medidas sanitárias e de biosseguridade em núcleos aviários dos frangos caipiras da região de Palmeirante - TO com o objetivo de melhorar a qualidade da matéria-prima que será processada em frigorífico abatedouro deaves dessa localidade, sendo ainda considerado relevante a tipificação dos sorovares de *Salmonella* spp.

As carcaças de frango processadas sob SIF, SIE e clandestino, resultaram em sua totalidade em contagens de ao menos um dos microrganismos indicadores de qualidade microbiológica em desacordo com o padrão e, ao menos um dos patógenos pesquisados presente, em que as amostras de frangos abatidos em local clandestino apresentaram maior grau de contaminação e a presença de *E. coli* STEC produtora de toxina shiga, o que levanta preocupações quanto à saúde pública pela gravidade das complicações que podem surgir pelo consumo de carne de aves em decorrência desse patógeno. Os resultados quanto à *Salmonella* spp também trazem questionamentos sobre os procedimentos operacionais do estabelecimento SIE, tendo em vista os resultados de maior proporção desse patógeno em suas amostras quando comparado ao resultado das amostras de SIF e clandestinos.

Os resultados das análises para qualidade microbiológica da carne de frango oriundas de estabelecimentos com SIF e SIE demonstram que existe a necessidade de aplicações de medidas e ações corretivas em estabelecimentos onde atuam a fiscalização e podem fundamentar ações estratégicas de vigilância sanitária e controle em toda a cadeia produtiva do frango para corrigir as inconformidades e produzir alimentos seguros assim como . Quanto aos resultados encontrados em amostras de carcaças de frangos abatidos em local clandestino, o alerta permanece para os consumidores que ficam expostos a agravos de saúde ao consumirem produtos de origem animal provenientes de processamento dessa natureza e, servem para implementação por órgãos competentes, de ações estratégicas para educação sanitária no intuito de levar uma melhor conscientização para o público consumidor de produtos de origem animal.