

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESCOLA DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL**

BRUNO LEANDRO DE ALMEIDA BRITO

Avaliação da presença de *Salmonella* spp., e contagens de *Escherichia coli* e microrganismos mesófilos aeróbios em carcaças de frangos de corte com e sem contaminação gastrintestinal visível na superfície externa.

BELO HORIZONTE

2023

BRUNO LEANDRO DE ALMEIDA BRITO

Avaliação da presença de *Salmonella* spp., e contagens de *Escherichia coli* e microrganismos mesófilos aeróbios em carcaças de frangos de corte com e sem contaminação gastrointestinal visível na superfície externa.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência Animal da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Orientadora: Silvana de Vasconcelos Cançado

BELO HORIZONTE

2023

B862a Brito, Bruno Leandro de Almeida, -1985
Avaliação da presença de *Salmonella spp.*, e contagens de *Escherichia coli* e microrganismos mesófilos aeróbios em carcaças de frangos de corte com e sem contaminação gastrintestinal visível na superfície externa/Bruno Leandro de Almeida Brito. – 2023.
67 f: il.

Orientadora: Silvana de Vasconcelos Caçado

Dissertação (Mestrado) apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária da UFMG, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre.
Bibliografia: f. 60 – 67.

1. Frango de corte - Teses - 2. Salmonella - Teses - I. Caçado, Silvana de Vasconcelos - II. Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária - III. Título

CDD – 636.513

Bibliotecária responsável Cristiane Patrícia Gomes CRB 2569
Biblioteca da Escola de Veterinária, UFMG.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESCOLA DE VETERINÁRIA
COLEGIADO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO - BRUNO LEANDRO DE ALMEIDA BRITO

Às 14:00 horas do dia 06 de novembro de 2023, reuniu-se, na Escola de Veterinária da UFMG a Comissão Examinadora de Dissertação, para julgar, em exame final, a defesa da dissertação intitulada:

“Avaliação da presença de *Salmonella* spp., e contagens de *Escherichia coli* e microrganismos mesófilos aeróbios em carcaças de frangos de corte com e sem contaminação gastrointestinal visível na superfície externa.”

Como requisito final para a obtenção do Grau de **Mestre em Ciência Animal**, área de concentração em **Tecnologia e Inspeção de Produtos de Origem Animal**. Abrindo a sessão, o(a) Presidente da Comissão, **Silvana de Vasconcelos Cançado**, após informar o aos presentes o teor das Normas Regulamentares da Defesa de Dissertação, passou a palavra ao candidato (a), para apresentação de seu trabalho. Seguiu-se a arguição pelos examinadores, com a respectiva defesa do(a) candidato(a). Logo após, a Comissão se reuniu, sem a presença do(a) candidato(a) e do público, para julgamento da dissertação, tendo sido atribuídas as seguintes indicações:

Examinador / Prof. (a) / Dr. (a)	Aprovado(a)	Reprovado(a)
Silvana de Vasconcelos Cançado	x	
Marcelo Resende de Souza	x	
Guilherme Resende da Silva	x	

Face os resultados, o (a) aluno (a) foi considerado(a):

Aprovado(a)	x	Reprovado(a)	
--------------------	---	---------------------	--

Para concluir o Mestrado, o(a) candidato(a) deverá entregar a versão final da dissertação, acatando, se houver, as modificações sugeridas pela banca, e a comprovação de submissão de pelo menos um artigo científico em periódico recomendado pelo Colegiado dos Cursos. Para tanto, terá o prazo máximo de 60 dias a contar da data da defesa.

O resultado final, foi comunicado publicamente ao(a) candidato(a) pelo(a) Presidente da Comissão. Nada mais havendo a tratar, o(a) Presidente encerrou a reunião e lavrou a presente ata, que será assinada por todos os membros participantes da Comissão Examinadora.

Belo Horizonte, 06 de novembro de 2023.

Assinatura dos membros da banca:



Documento assinado eletronicamente por **Silvana de Vasconcelos Cancado, Professora do Magistério Superior**, em 06/11/2023, às 16:52, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Marcelo Resende de Souza, Professor do Magistério Superior**, em 06/11/2023, às 16:54, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Guilherme Resende da Silva, Usuário Externo**, em 08/11/2023, às 08:38, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **2735914** e o código CRC **7E724DED**.

RESUMO

Os principais riscos à inocuidade dos produtos de carne de frango são advindos das contaminações gastrintestinais que ocorrem nas carcaças durante as operações necessárias para o abate de frangos de corte, sendo frequente a ocorrência desse tipo de contaminação nas carcaças durante o processamento. Com o objetivo de avaliar a qualidade microbiológica de carcaças que apresentam ou não apresentam contaminação gastrintestinal visível na superfície externa, foram coletadas 60 carcaças, sendo 30 visivelmente contaminadas por conteúdo gastrintestinal e 30 sem contaminação gastrintestinal visível na superfície externa. As carcaças foram coletadas em um abatedouro submetido à Inspeção Federal, localizado na região metropolitana de Belo Horizonte, Minas Gerais, que abate aproximadamente 130.000 aves por dia (10.800 aves por hora), em dois turnos, utilizando equipamento de evisceração automática. Foram realizadas as contagens de *Escherichia coli*, microrganismos mesófilos aeróbios e a pesquisa de *Salmonella* spp. Foram isoladas 1200 colônias diferentes que foram cultivadas nas placas de Petri dos diversos meios de cultura utilizados. As colônias isoladas foram enviadas para análise de proteômica, por ionização e dessorção a laser assistida por matriz (MALDI-TOF), para a confirmação do gênero e da espécie do microrganismo. As carcaças com contaminação visível na superfície externa apresentaram maiores contagens de *E. coli* e de mesófilos aeróbios ($p < 0,05$); não foi observada mudança significativa no perfil de bactérias presentes ($p > 0,05$). Não houve diferença na prevalência de *Salmonella* spp. entre os dois grupos ($p > 0,05$). Entre as principais bactérias identificadas, destacaram-se *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *Citrobacter freundii*, presentes em 95%, 85% e 81,7% das carcaças, respectivamente. Concluiu-se que carcaças com contaminação visível possuem maior contagem de mesófilos aeróbios e *E. coli* demonstrando terem um maior risco de veiculação de patógenos associados à doenças transmitidas por alimentos (DTA) para o consumidor.

Palavras-chave: Frango de corte; Contaminação gastrintestinal; *Escherichia coli*; Mesófilos aeróbios; *Salmonella* spp.

ABSTRACT

The main risks to the safety of poultry meat products stem from gastrointestinal contaminations that occur on the carcasses during the necessary operations for the slaughter of broiler chickens, with this type of contamination being frequent on the carcasses during processing. With the aim of assessing the microbiological quality of carcasses that do or do not present visible gastrointestinal contamination on the external surface, 60 carcasses were collected, with 30 visibly contaminated by gastrointestinal content and 30 without visible gastrointestinal contamination on the external surface. The carcasses were collected at a slaughterhouse subjected to Federal Inspection, located in the metropolitan region of Belo Horizonte, Minas Gerais, which slaughters approximately 130,000 birds per day (10,800 birds per hour), in two shifts, using automatic evisceration equipment. Counts of *Escherichia coli*, aerobic mesophilic microorganisms, and the search for *Salmonella* spp. were performed. 1200 different colonies were isolated and cultured on Petri dishes with various culture media. The isolated colonies were sent for proteomic analysis, by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF), to confirm the genus and species of the microorganism. Carcasses with visible contamination on the external surface showed higher counts of *E. coli* and aerobic mesophiles ($p < 0.05$); no significant change was observed in the profile of present bacteria ($p > 0.05$). There was no difference in the prevalence of *Salmonella* spp. between the two groups ($p > 0.05$). Among the main identified bacteria, *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Citrobacter freundii* stood out, present in 95%, 85%, and 81.7% of the carcasses, respectively. It was concluded that carcasses with visible contamination have a higher count of aerobic mesophiles and *E. coli*, demonstrating a greater risk of transmitting pathogens associated with foodborne illnesses (FBIs) to the consumer.

Keywords: Broiler chicken; Gastrointestinal contamination; *Escherichia coli*; Aerobic mesophiles; *Salmonella* spp.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Principais etapas do abate de frangos de corte e possíveis fontes de contaminação da carcaça em cada etapa.....32
- Figura 2 - Carcaças de frango de corte com contaminação gastrintestinal visível (A) e sem contaminação gastrintestinal visível (B).....39
- Figura 3 - Meios de cultura após incubação: XLD, BPLS e PCA.....42

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** - Padrões microbiológicos para alimentos à base de carne de aves e derivados17
- Tabela 2** - Médias e desvio padrão das contagens de microrganismos mesófilos aeróbios e *E. coli*, após transformação logarítmica ($\text{Log}_{10} \text{UFC.g}^{-1}$), das carcaças de frangos de corte com e sem contaminação gastrointestinal visível coletadas logo após a evisceração automatizada.....43
- Tabela 3** - Quantidade e classificação das carcaças sem contaminação gastrointestinal visível amostradas em cada semana segundo o critério microbiológico para microrganismo mesófilo aeróbio estipulado pela IN 161 de 2022; média da contagem de mesófilos aeróbios de cada semana amostrada e classificação de qualidade do lote segundo critério estipulado na IN 161/2022 (Brasil, 2022a).....47
- Tabela 4** - Quantidade e classificação das carcaças com contaminação gastrointestinal visível amostradas em cada semana segundo o critério microbiológico para microrganismo mesófilo aeróbio estipulado pela IN 161 de 2022; média da contagem de mesófilos aeróbios de cada semana amostrada e classificação de qualidade do lote segundo critério estipulado na IN 161/2022 (Brasil, 2022a).....48
- Tabela 5** - Quantidade e classificação das carcaças sem contaminação gastrointestinal visível amostradas em cada semana segundo o critério microbiológico para *E. coli* estipulado pela IN 161 de 2022; média da contagem de mesófilos aeróbios de cada semana amostrada e classificação de qualidade do lote segundo critério estipulado na IN 161/2022 (Brasil, 2022a).....48
- Tabela 6** - Quantidade e classificação das carcaças com contaminação gastrointestinal visível amostradas em cada semana segundo o critério microbiológico para *E. coli* estipulado pela IN 161 de 2022; média da contagem de mesófilos aeróbios de cada semana amostrada e classificação de qualidade do lote

segundo critério estipulado na IN 161/2022 (Brasil, 2022a).....49

Tabela 7 - Quantidade de carcaças de frango de corte nas quais foram identificadas uma ou mais colônias de *Salmonella* spp. por MALDI-TOF, em cada tratamento realizado.....52

Tabela 8 - Frequência da presença dos microrganismos provenientes dos meios de cultura PCA e BPLS ou XLD identificados por MALDI-TOF por carcaça de frango de corte analisada.....54

Tabela 9 - Quantidade de carcaças de frango de corte que apresentaram cada microrganismo, por tratamento realizado.....57

LISTA DE SIGLAS E ABREVIações

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
APPCC	Análise de perigos e pontos críticos de controle
AQRM	Avaliação Quantitativa de Risco Microbiológico
BPLS	Ágar verde brilhante vermelho de fenol - lactose - sacarose
CMS	Carne Mecanicamente Separada
CCAB	Comitê <i>Codex Alimentarius</i> do Brasil
DIPOA	Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal
DTA	Doenças Transmitidas por Alimentos
DTHA	Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar
EFSA	<i>European Food Safety Authority</i>
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisas Agropecuárias
EUA	Estados Unidos da América
IF	Inspeção Federal
IN	Instrução Normativa
Kg	Quilograma
MALDI-TOF	<i>Matrix Assisted Laser Desorption Ionization - Time of Flight</i>
MAPA	Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MKTTn	Muller-Kauffmann tetrionato-novobiocina
MS	Ministério da Saúde
OMS	Organização Mundial de Saúde
PAC	Programas de autocontroles
PCA	<i>Plate Count Agar</i>
PSO	Procedimentos sanitários operacionais
RDC	Reunião de Diretoria Colegiada

RIISPOA	Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal
RVS	Rappaport-Vassiliadis com soja
SDA	Secretaria de Defesa Agropecuária
SIF	Serviço de Inspeção Federal
TGI	Trato gastrintestinal
UE	União Europeia
UFC.g ⁻¹	Unidades formadoras de colônias por grama
XLD	Ágar xilose lisina desoxicolato

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	12
2.	OBJETIVOS	14
2.1.	Objetivo geral.....	14
2.2.	Objetivo específico.....	14
3.	REVISÃO DE LITERATURA	15
3.1.	O abate de frangos de corte e a inspeção industrial e sanitária no Brasil.....	15
3.2.	A modernização do abate: a abordagem baseada em risco.....	18
3.3.	As doenças transmitidas por alimentos.....	21
3.4.	Os patógenos de origem alimentar	23
3.4.1.	Microrganismos mesófilos aeróbios.....	24
3.4.2.	<i>Escherichia coli</i>	26
3.4.3.	<i>Salmonella spp</i>	27
3.5.	As principais fontes de contaminação da carcaça e dos produtos cárneos de frango de corte.....	31
3.6.	Microrganismos deteriorantes presentes em carcaças de frango de corte.....	35
4.	MATERIAL E MÉTODOS	36
4.1.	Avaliação microbiológica das carcaças com e sem contaminação gastrointestinal visível na superfície externa.....	37
4.1.1.	Coleta das carcaças.....	37
4.1.2.	Tratamentos.....	38
4.1.3.	Análises microbiológicas.....	39
4.1.3.1.	Pesquisa de microrganismos mesófilos aeróbios.....	40
4.1.3.2.	Pesquisa de <i>Escherichia coli</i>	40
4.1.3.3.	Pesquisa de <i>Salmonella spp</i>	41
4.1.3.4.	Identificação microbiológica dos microrganismos mesófilos aeróbios através das análises de espectrometria de massas MALDI-TOF.....	41
4.1.4.	Delineamento experimental.....	42
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
5.1.	Contagens de microrganismos mesófilos aeróbios e <i>E. coli</i>	43
5.2.	Avaliação da presença de <i>Salmonella spp</i>	52
5.3.	Microrganismos identificados na análise proteômica por espectrometria de massas MALDI-TOF.....	54
6.	CONCLUSÃO	59
7.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	60

1. INTRODUÇÃO

A avicultura de corte brasileira possui posição de destaque no agronegócio mundial e, em 2023, a produção de carne de frango foi de 14,833 milhões de toneladas, deixando o Brasil na segunda posição entre os maiores produtores dessa proteína animal, atrás apenas dos Estados Unidos da América (EUA) que produziu 21,095 milhões de toneladas no mesmo período. Desse total produzido pelo Brasil, 5,139 milhões de toneladas de carne foram exportadas, o que representa 34,6% da produção, ocupando o país a primeira colocação entre os maiores exportadores dessa proteína animal. O restante da produção, 65,4%, é destinado ao mercado interno. O consumo *per capita* de carne de frango no país foi de 45,1 kg/habitante ao ano em 2023 e o valor bruto, em reais, da produção brasileira, alcançou 91,646 bilhões de reais (ABPA, 2024).

A mecanização dos processos de abate do frango de corte foi muito importante para aumentar a escala da produção de carne de aves, tornando possível alcançar o expressivo montante reportado em 2023. Porém, a introdução de sistemas mecanizados para a evisceração das carcaças favorece a ocorrência de ruptura mecânica do trato gastrointestinal (TGI) gerando contaminação dos equipamentos e superfícies, além da contaminação cruzada entre uma carcaça e outra, por microrganismos entéricos (Von Ruckert *et al.*, 2009). O TGI das aves é um importante reservatório natural de microrganismos patogênicos de origem alimentar, como *Salmonella spp.*, *Escherichia coli* e *Campylobacter spp.* Além desses, também podem ser encontradas, em carcaças de frango de corte, outras bactérias mesófilas como *Staphylococcus aureus* e *Listeria monocytogenes* (Menezes *et al.*, 2018). Esses microrganismos entéricos, se estiverem presentes no produto, poderão levar à ocorrência de doenças transmitidas por alimentos (DTA) e, uma das formas de se controlar ou mitigar o risco sanitário das contaminações gastrointestinais é a remoção das áreas visivelmente contaminadas nas carcaças.

No sistema de inspeção vigente, as carcaças são submetidas à inspeção *post mortem*, executada nas linhas de inspeção, onde deve ser observada a ocorrência de contaminações visíveis e outras alterações. Após a verificação das

contaminações, são realizadas as remoções das áreas afetadas condenando as carcaças parcialmente ou totalmente. Porém, tal procedimento é dependente da visualização da contaminação na superfície das carcaças, o que muitas vezes é comprometido devido às altas velocidades das linhas abate e também à dificuldade de visualizar contaminações em certos locais da carcaça (Brasil, 1998; Brasil, 2017; Brasil, 2021).

A legislação brasileira não determina padrões microbiológicos e nem a realização de pesquisas nas carcaças ainda em produção. O Ministério da Saúde, através da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), exercendo sua competência como órgão regulador e promotor da Vigilância Sanitária, estabelece padrões microbiológicos para alimentos. Segundo tal norma, alimento pronto para consumo seria aquele proveniente da indústria de alimentos que não requer a adição de outros ingredientes, e para o qual não há indicação, previamente ao consumo, da necessidade de tratamento térmico efetivo ou outro processo de eliminação ou de redução de micro-organismos de preocupação à saúde humana a níveis seguros; portanto, os produtos de carne de aves e seus derivados somente deverão obedecer a esses critérios após todas as etapas do processo produtivo concluídas. Esses padrões estabelecidos abrangem a contagem de *E. coli*, mesófilos aeróbios e presença de *Salmonella* Typhimurium e Enteritidis. Foram encontrados poucos trabalhos que realizaram as contagens de desses microrganismos, além da pesquisa de *Salmonella* spp., em carcaças com e sem contaminação gastrointestinal visível na superfície externa (Jimenez *et al.*, 2002; Giombeli e Gloria, 2014; Stefani *et al.*, 2014; Menezes *et al.*, 2018) e apenas um trabalho encontrado buscou identificar os principais contaminantes das carcaças de frango (Jimenez *et al.*, 2003).

Dessa forma, há a necessidade de conhecer melhor a qualidade microbiológica das carcaças de frango de corte, ainda durante o processo produtivo, avaliando qual o impacto na qualidade microbiológica que a presença de contaminação gastrointestinal nas carcaças de frango de corte causa, tendo em vista a constante necessidade de busca de novas tecnologias e melhorias no processo produtivo para a obtenção de um melhor controle dos perigos microbiológicos presentes nas carcaças de frango de corte.

O objetivo deste trabalho é verificar a qualidade microbiológica das carcaças de frango de corte, ainda durante o processo produtivo, gerando informações relevantes para desenvolvimento de novas tecnologias e melhorias nos processos de abate de aves de frango de corte no Brasil.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Avaliar a diferença microbiológica entre carcaças de frango de corte com e sem contaminação gastrintestinal visível na superfície externa, coletadas logo após o procedimento de evisceração automatizado.

2.2. Objetivos específicos

- Comparar, seguindo os padrões microbiológicos estabelecidos para carnes de aves no Brasil, as contagens de microrganismos mesófilos aeróbios (UFC.g⁻¹) e *Escherichia coli* (UFC.g⁻¹) e a pesquisa de *Salmonella* spp. de carcaças de frangos de corte que apresentavam contaminação gastrintestinal visível na superfície externa daquelas que não possuíam contaminação gastrintestinal visível;
- Identificar os principais microrganismos presentes nas carcaças de frango com e sem contaminação gastrintestinal visível na superfície externa, que são capazes de multiplicar nos ágaros “Plate Count Agar” (PCA), Xilose Lisina Desoxicolato (XLD) e Verde Brilhante Vermelho de Fenol - Lactose - Sacarose (BPLS); utilizando a metodologia por ionização e dessorção a laser assistida por matriz (MALDI-TOF);

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. O abate de frangos de corte e a inspeção industrial e sanitária no Brasil

Em 1950, foi publicada a Lei 1283 que instituiu o Serviço de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal no país. Essa lei estabeleceu a obrigatoriedade da prévia fiscalização, sob o ponto de vista higiênico e sanitário, de todos os produtos de origem animal, comestíveis e não comestíveis (Brasil, 1950). À partir da Lei 1283, em 29 de março de 1952, foi publicado o Decreto nº 30.691 (Brasil, 1952), que aprovou o Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA) contendo as normas que regulamentam, em todo o território nacional, a inspeção e a fiscalização industrial e sanitária de produtos de origem animal com o objetivo de preservar a inocuidade, a identidade, a qualidade e a integridade dos produtos e a saúde e os interesses do consumidor. Posteriormente a essas leis, outras legislações foram e são publicadas para complementar e regulamentar os diversos itens e produtos passíveis de fiscalização, tendo sempre em vista a qualidade dos produtos de origem animal oferecidos à população. O RIISPOA foi atualizado em 2017 e novamente em 2020 e, no que diz respeito à contaminação, segundo o artigo 147, as carcaças ou os órgãos que apresentem área extensa de contaminação por conteúdo gastrintestinal devem ser condenados quando não for possível a remoção completa da área contaminada, apesar de o mesmo artigo apresentar a possibilidade de se permitir a retirada da contaminação sem remoção completa da área contaminada, segundo normas complementares (Brasil, 2017; Brasil, 2020). Ainda não foi publicada norma complementar especificamente sobre esse assunto.

Referente à produção de carne de frango, em novembro de 1998, foi publicada a Portaria nº 210 que aprovou o Regulamento Técnico da Inspeção Tecnológica e Higiênico-Sanitária de Carne de Aves e que determinou as etapas necessárias ao processamento e abate de aves. A Portaria 210 foi atualizada pela

Portaria nº 74 de 2019. Segundo o regulamento, deve ser evitado o abate de aves com repleção do TGI para evitar possíveis contaminações durante o processamento industrial e não será permitida a entrada no sistema de pré-resfriamento por imersão de carcaças de frango de corte que contenham qualquer tipo de contaminação visível nas suas superfícies externas e internas (Brasil, 1998; Brasil, 2019).

Apesar da Portaria 210 e sua atualização regulamentarem todos os processos tecnológicos do abate de aves, o RIISPOA permite a aplicação de inovação tecnológica, ou seja, produtos ou processos tecnologicamente novos ou significativamente aperfeiçoados, não compreendidos no estado da técnica, e que proporcionem a melhoria do objetivo do processo ou da qualidade do produto de origem animal. Nele também está prevista a alteração dos procedimentos de inspeção e fiscalização mediante a aplicação de análise de risco, de acordo com o nível de desenvolvimento tecnológico, com vistas à segurança alimentar (Brasil, 2017).

Objetivando reduzir a prevalência da *Salmonella* spp. e estabelecer um nível adequado de proteção ao consumidor, a Secretaria de Defesa Agropecuária (SDA), do Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA), publicou em 2016 a Instrução Normativa (IN) nº 20 que estabeleceu como deve ser o controle e o monitoramento de *Salmonella* spp. nos estabelecimentos avícolas comerciais produtores de frangos e perus de corte e nos estabelecimentos de abate de frangos, galinhas, perus de corte e reprodução, registrados no Serviço de Inspeção Federal (SIF) (Brasil, 2016).

O Ministério da Saúde (MS), por meio da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), publicou em 2022 a IN nº 161 (Brasil, 2022a) e a Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 724/2022 (Brasil, 2022b) que estabeleceram os padrões microbiológicos dos alimentos. A tabela 1 apresenta os padrões microbiológicos exigidos pela legislação brasileira para produtos de carne de aves prontos para consumo.

Tabela 1 - Padrões microbiológicos para alimentos à base de carne de aves e derivados

Categoria específica	Microrganismo	n	c	m	M
Carnes cruas, temperados ou não, refrigeradas ou congeladas	<i>Salmonella</i> Enteritidis(25g)	5	0	Ausent e	-
	<i>Salmonella</i> Typhimurium (25g)	5	0	Ausent e	-
	<i>Escherichia coli</i> (1g)	5	3	5x10 ²	5x10 ³
	Aeróbios mesófilos (1g)	5	3	10 ⁵	10 ⁶

Fonte: ANVISA, 2022a

Abreviações:

m: limite microbiológico entre “qualidade aceitável” e “qualidade intermediária”.

M: limite microbiológico entre “qualidade intermediária” e “qualidade inaceitável”.

n: número de amostras.

c: número aceitável de amostras de qualidade intermediária.

No âmbito mundial e com a finalidade de proteger a saúde da população, assegurando práticas equitativas no comércio internacional de alimentos, foi criado, em 1963, o *Codex Alimentarius*, um Programa Conjunto da Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação e da Organização Mundial da Saúde (OMS), que trata da normalização sobre alimentos e contribui, por meio de suas normas, diretrizes e códigos de práticas alimentares internacionais, para a inocuidade, segurança e qualidade no comércio internacional de alimentos (*Codex Alimentarius*, 2015). Na década de 70, o Brasil tornou-se membro deste Programa e em 1980 foi criado o Comitê do *Codex Alimentarius* do Brasil (CCAB), por meio das Resoluções 01/80 e 07/88 do Conselho Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial. O CCAB tem como principais finalidades a participação, como representantes do país, nos Comitês internacionais do *Codex Alimentarius* e a defesa dos interesses nacionais, bem como a utilização das Normas Codex como

referência para a elaboração e atualização da legislação e regulamentação nacional de alimentos (Brasil, 1980; Brasil, 1988).

3.2. **Modernização do abate: a abordagem baseada em risco**

A segurança microbiológica dos alimentos deve ser gerenciada por meio da implementação efetiva de medidas preventivas de controle de qualidade dos processos que devem ser validadas, quando apropriado, em toda a cadeia alimentar para minimizar a contaminação durante o processamento. Essa abordagem preventiva oferece mais vantagens do que os testes microbiológicos que são realizados por meio de amostragem do produto final de lotes individuais a ser comercializado. No entanto, o estabelecimento de critérios microbiológicos finais deve ser apropriado para verificar se os sistemas de controle de segurança alimentar estão sendo implementados corretamente (Itália, 1997).

O Brasil, um país ativo no comércio internacional de alimentos, está interessado em preservar as conquistas comerciais alcançadas, proteger os interesses nacionais e viabilizar seu mercado em expansão. Portanto, é necessário que o país esteja atento às modificações de normas sanitárias internacionais, avaliando a conveniência de incorporá-las a sua legislação e implementá-las nas práticas institucionais cotidianas com o objetivo de promover a saúde dos consumidores e ganhar mais mercados internacionais. As discussões e estudos sobre as alterações nas normas sanitárias internacionais que visam regular o comércio de alimentos são realizadas pelo CCAB, que é encarregado de analisar os documentos relacionados à análise de risco aplicada aos alimentos (Figueiredo, 2011).

A Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico publicou, em 1993, um trabalho sobre a avaliação da segurança dos alimentos baseado na implantação de modelos de biotecnologia. Segundo esse trabalho, a definição de um

alimento seguro para consumo humano é baseada no conceito de que deve haver uma razoável certeza de que nenhum prejuízo será causado ao se consumir um determinado alimento na forma e condição para a qual ele foi produzido (França, 1993). Essa definição reconhece que uma política de tolerância zero de riscos não é viável para a maioria dos alimentos e para a maioria dos contextos de segurança (Barlow *et al.*, 2015).

Segundo o *European Food Safety Authority* (EFSA), órgão responsável pela regulação da inspeção sanitária na União Europeia (UE), os principais perigos biológicos associados ao consumo de carne de frango são a contaminação das carcaças pelos microrganismos dos gêneros *Salmonella* e *Campylobacter* e apontou que nenhum desses perigos são detectados na inspeção visual tradicional, sendo, portanto, necessárias mudanças na identificação e controle de riscos biológicos (Blagojevic *et al.*, 2021, Itália, 2012).

Ainda segundo a EFSA, um amplo sistema de segurança alimentar para a carne de frango, em uma abordagem longitudinal e integrada, contendo uma série de medidas preventivas e de controle tanto nas granjas produtoras como nos abatedouros, com a determinação de limites microbiológicos mensuráveis à nível de carcaça, é a maneira mais efetiva de alcançar o controle dos principais perigos biológicos. A EFSA pontuou também que a responsabilidade de implantação desse sistema é dos estabelecimentos produtores de alimentos e deve ser verificada pela autoridade de fiscalização competente (Itália, 2012). Para avaliar o risco associado ao consumo de carne de frango e as medidas para redução desse risco, foi criada a avaliação quantitativa de risco microbiológico (AQRM), que é utilizada como uma abordagem estruturada que permite estimar a probabilidade de doença a qual as pessoas podem ser expostas. A AQRM é realizada em quatro etapas: a identificação dos perigos; a caracterização dos perigos; a avaliação da exposição ao perigo e a caracterização do risco.

No campo da avaliação de segurança alimentar são utilizadas a abordagem baseada em perigos e a abordagem baseada em riscos. Na abordagem baseada em perigos, a simples presença em um nível detectável de um agente potencialmente prejudicial é utilizada para a determinação de alguma ação de gerenciamento. Por outro lado, na abordagem baseada em risco, procura-se estabelecer níveis

aceitáveis de segurança para exposição aos potenciais agentes prejudiciais, utilizando as informações disponíveis sobre eles a respeito de sua toxicidade para os humanos e, estimando a exposição humana a esse risco que posteriormente deve ser comparado a um valor de segurança predeterminado para então avaliar se o risco é aceitável ou não (Barlow *et al.*, 2015).

Na abordagem baseada em risco para agentes microbiológicos em alimentos, não necessariamente se estima a exposição humana a um agente, mas sim a prevalência e a concentração do microrganismo na cadeia produtiva, tornando possível realizar o julgamento se ele é aceitável ou não (Barlow *et al.*, 2015).

Em 2014, foi montado um grupo de trabalho com o objetivo de rever e modernizar o Sistema de Inspeção Federal nos Abatedouros de Aves no Brasil. Participaram desse grupo a Empresa Brasileira de Pesquisas Agropecuárias (EMBRAPA) e o Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal (DIPOA) do MAPA. Como resultado foi elaborada uma proposta de modernização da inspeção que fosse baseada no manejo do risco, levando-se em consideração as recomendações feitas pelo *Codex Alimentarius*. A proposta de inspeção desenvolvida foi colocada em prática para avaliar sua eficácia com base na análise de carcaças para detecção de *Salmonella* spp. e *Campylobacter* spp., tendo em vista que essas bactérias são as principais causadoras de DTA no mundo (Pereira, 2022).

Como resultado desses estudos, em 2022, foi publicada a Portaria SDA nº 736 que aprova os procedimentos para a adesão dos abatedouros frigoríficos registrados no DIPOA ao Sistema de Inspeção com Base em Risco aplicável aos frangos de corte que determina que o estabelecimento produtor de alimentos desenvolva um Programa de Avaliação de Aves Vivas, Carcaças, Partes de Carcaças e Vísceras que deverá ser executado por médico veterinário a serviço da empresa e verificado pelo serviço oficial de inspeção (Brasil, 2022c).

A Portaria 736 do MAPA estabelece que, para monitorar e controlar a ocorrência de contaminação gastrointestinal em carcaças, devem ser consideradas algumas características das aves vivas recebidas para o abate, como a uniformidade do lote, o período de jejum e a dieta hídrica e os resultados laboratoriais de pesquisa de patógenos a campo. Além dessas características, deve-se considerar o

monitoramento dos equipamentos de evisceração e a eficiência das medidas de controle programadas para a mitigação da contaminação visível. Segundo a Portaria, as contaminações gastrintestinal e biliar visíveis devem ser totalmente removidas da carcaça, das partes de carcaça, dos cortes e dos miúdos, antes da entrada no sistema de pré-resfriamento (Brasil, 2022c).

3.3. **As doenças transmitidas por alimentos**

Segundo a OMS, as DTA são consideradas um problema para todas as sociedades desde o início da humanidade. Os tipos, gravidade e impactos dessas doenças têm mudado ao longo dos tempos e ainda são diversos em diferentes comunidades, regiões e países. No entanto, apenas uma fração das pessoas que ficam doentes devido a alimentos que consumiram procuram cuidados médicos e, além disso, algumas doenças crônicas, como câncer, insuficiência renal ou hepática, que resultaram de alimentos contaminados, normalmente aparecem muito tempo após a ingestão e a ligação causal não é estabelecida (Suíça, 2015).

A falta de notificação e registro adequados das DTA dificultam a compreensão completa do problema e a implementação de medidas eficazes de prevenção e controle. Além disso, as subnotificações dessas doenças subestimam a sua carga global e o impacto na saúde da população. Para lidar com esses desafios, é importante promover a conscientização da necessidade de notificação de DTA, tanto entre profissionais de saúde quanto entre o público em geral. Também é fundamental fortalecer a capacidade dos sistemas de vigilância de saúde pública para detectar, investigar e relatar adequadamente essas doenças. Isso inclui o estabelecimento de mecanismos de vigilância eficazes, treinamento adequado e colaboração entre diferentes setores, como saúde, agricultura e meio ambiente (Suíça, 2015).

Segundo a OMS, o consumo de alimentos com contaminação microbiológica causa 600 milhões de casos de DTA e 420.000 mortes por ano, em todo o mundo, indicando que, aproximadamente, 7,6% da população mundial adoece vítimas de DTA todos os anos e que 7,5% dessa população doente morre em decorrência do consumo de alimentos impróprios. Mundialmente, DTA causadas por bactérias são mais comuns do que as causadas por vírus e, os microrganismos dos gêneros

Salmonella e *Campylobacter* são os maiores responsáveis pelo número de casos em alimentos avícolas (Suíça, 2015; Ritchie *et al.*, 2019; Lee, 2021).

A UE publica anualmente, através da EFSA, o relatório anual de zoonoses e, segundo o relatório de 2021, as duas principais zoonoses reportadas foram as campilobacterioses e as salmoneloses, apresentando um total de 127.840 e 60.500 casos, respectivamente. Esses números representaram uma alta de 7.000 casos, quando comparados com os de 2020. Ainda, segundo o relatório, controlar a presença de microrganismos com potencial de causar doenças zoonóticas em animais utilizados para a produção de alimentos é uma das formas mais efetivas de se diminuir o número de doenças em humanos (Itália, 2022).

No Brasil, o MS publica anualmente o Informe sobre surtos de doenças de transmissão hídrica e alimentar (DTHA). Segundo a última publicação, de fevereiro de 2023, foram 761 surtos reportados em 2022, expondo um total de 33.160 pessoas, causando doença em 13.451 dessas pessoas, hospitalizado 556 e causando 24 óbitos (taxa de letalidade de 0,18%), sendo que a maioria desses surtos é reportado na região sudeste do Brasil. Segundo tal informe, desde 2020, tanto o número de surtos como de doentes por DTHA vem aumentando, saindo de 292 surtos reportados em 2020, chegando a 761 surtos reportados em 2022 (Brasil, 2023)

O perfil epidemiológico desses surtos revela que aproximadamente 35% deles têm origem na residência das pessoas. Restaurantes, padarias e similares representam 15% da origem dos surtos, enquanto que creches e escolas representam 11,7%. Essas são as três principais origens dos surtos relatados. Referente à distribuição dos alimentos causadores de surtos de DTHA, açaí, água e alimentos mistos são os mais frequentemente implicados, com 27,5%, 21,5% e 12,8%, respectivamente, dos casos. A carne de aves foi implicada em 3,0% dos casos, sendo o sétimo alimento mais relacionado a surtos de DTHA (Brasil, 2023).

Ainda segundo o Informe do MS, entre os agentes etiológicos mais identificados nos surtos, entre 2013 a a 2022, a *Escherichia coli* foi a mais presente (32,3% dos surtos) seguida por *Salmonella* spp. (10,9%) e *Staphylococcus* spp. (10,8%) (Brasil, 2023).

A carne de frangos de corte apresenta elevado teor de nutrientes, alta atividade de água e pH próximo à neutralidade. Tais fatores fazem com que este alimento se torne um bom substrato para proliferação microbiana, o que potencializa a susceptibilidade à deterioração e à possibilidade de causar doenças aos seres humanos. Aplicando a sistemática de estudos ao caso específico da cadeia avícola, os dados disponíveis na literatura indicam que a carne de frango e os ovos são importantes veículos de doenças de origem alimentar. Bactérias patogênicas são detectadas nas carcaças de frango e, entre elas, merecem atenção especial *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., *Escherichia coli*, *Staphylococcus* coagulase positiva, *Listeria monocytogenes* e outros representantes da família *Enterobacteriaceae* (Cintra et al, 2016; Menezes et al., 2018).

3.4. **Patógenos de origem alimentar que devem ser monitorados segundo a legislação vigente e suas prevalências nos produtos cárneos avícolas**

A incidência de microrganismos na carne de frangos de corte varia de acordo com as condições de manejo durante a criação dos animais e com os cuidados higiênico-sanitários nas operações de abate e manipulação das carcaças e está diretamente relacionada à inocuidade dos alimentos e à vida de prateleira do produto. Os microrganismos encontrados nas carcaças são provenientes da pele e das penas das aves vivas, das vias respiratórias, do TGI desses animais e do ambiente de processamento na indústria. O TGI das aves é um dos principais reservatórios naturais de microrganismos patogênicos como *Salmonella* spp. e *Campylobacter* spp. Porém, além desses, outras bactérias mesófilas, responsáveis por toxinfecções alimentares, como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Listeria monocytogenes*, também podem ser isoladas da carne de aves (Menezes et al., 2018).

Microrganismos deteriorantes como *Pseudomonas* spp., *Acinetobacter* spp., *Enterobacter* spp., *Shewanella putrefaciens*, *Brochothrix thermosphacta* também

podem estar presentes e se multiplicam na carne tornando-a inaceitável para consumo (Forsythe, 2013).

Apesar de serem relatados na bibliografia um grande número de microrganismos patogênicos causadores de DTA veiculados pelos produtos avícolas, a RDC nº 724/2022 estabeleceu os padrões microbiológicos aceitáveis dos alimentos e, para carne de aves, devem ser pesquisadas as contagens de microrganismos mesófilos aeróbios (UFC.g⁻¹) e *E. coli* (UFC.g⁻¹) e a pesquisa de *S. Enteritidis* e *S. Typhimurium* (Brasil, 2022b).

3.4.1. Microrganismos mesófilos aeróbios

Microrganismos mesófilos aeróbios são bactérias que necessitam de oxigênio para sobreviver e que multiplicam em temperaturas entre 10 a 45°C, sendo sua temperatura ótima em torno de 30 e 40°C. Para um melhor desenvolvimento, estes microrganismos necessitam de atividade de água em torno de 0,97 até 0,99. Dentre as bactérias mesófilas aeróbias de interesse, destacam-se espécies da família Enterobacteriaceae, e dos gêneros *Bacillus*, *Clostridium*, *Corynebacterium*, *Micrococcus* e *Streptococcus* (Jay *et al.*, 2005).

A contagem padrão em placas de bactérias mesófilas aeróbias é um bom método para avaliar a contaminação do alimento, sendo um indicador da qualidade sanitária dos alimentos. O seu índice visa verificar a contaminação geral e tem sido usado como indicador da qualidade higiênica na manipulação e armazenamento do produto, fornecendo uma ideia sobre seu tempo útil de conservação. Um número elevado nesta contagem, na grande maioria dos alimentos, indica que o alimento é insalubre, mesmo que os reconhecidos patógenos não estejam presentes e que não tenham ocorrido alterações detectáveis em suas características sensoriais originais. Uma contagem elevada destes microrganismos pode ser consequência do uso de matéria prima contaminada, processamento insatisfatório ou armazenamento prolongado do produto. É um parâmetro de importância, pois, além de indicar a qualidade sanitária do produto, também pode indicar que há a possibilidade de presença de patógenos, já que a maioria das bactérias patogênicas de origem

alimentar é mesofílica. Considera-se, assim, que as bactérias mesofílicas podem causar tanto alterações nos alimentos como danos à saúde do homem, caso estes alimentos sejam consumidos (Franco e Landgraf, 2008).

A maioria dos microrganismos que são encontrados nas aves vivas são os mesófilos aeróbios e poucos conseguem se desenvolver em temperaturas inferiores a 7°C. Sua contagem tem sido usada como indicador de qualidade higiênica dos alimentos e, quando presente em grande número, indica falhas durante a produção (Carvalho *et al.*, 2005).

Importante destacar que a Portaria 210 estipula a temperatura máxima de saída das carcaças do sistema de pré-resfriamento em 7°C, sendo um importante controle da multiplicação de mesófilos aeróbios nas carcaças de frango nas próximas etapas de processamento.

Ao pesquisar o papel da contaminação fecal visível nas carcaças de frango de corte como veículo para contaminação das carcaças por enterobactérias, Jimenez *et al.* (2003) observaram que em carcaças sem contaminação visível, 73,8% das bactérias isoladas eram espécies do gênero *Enterobacteriaceae*; porém, nas carcaças com contaminação visível, 85,4% faziam parte desse grupo. Entre as bactérias identificadas, *E. coli* era a mais frequente. *Enterobacter cloacae* também compunha uma importante parte da microbiota encontrada. Ambas as bactérias foram encontradas em todas as amostras. *Klebsiella pneumoniae* e *K. oxytoca* foram as próximas bactérias mais frequentes. Nas carcaças sem contaminação visível, algumas outras espécies do gênero *Enterobacter* também foram presentes, como a *E. sakazakii*, *E. gergoviae* e *E. amnigenus*. *Citrobacter freundii* também foi encontrada em algumas carcaças (Jimenez *et al.*, 2003).

Ao analisar 47 amostras de produtos avícolas, como coxa, fígado, moela, salsicha e linguiça, adquiridos no comércio varejista, além de carne mecanicamente separada (CMS) adquirida de estabelecimentos industriais; todos do município de Jaboticabal, São Paulo, Carvalho *et al.* (2005) realizaram a contagem de microrganismos mesófilos e encontraram resultados entre $<1,0 \times 10^1$ UFC.g⁻¹ (salsicha e peito empanado) e $2,1 \times 10^6$ UFC.g⁻¹ (CMS), e a maioria das amostras encontrava-se entre 10^2 e 10^6 UFC.g⁻¹.

Stefani *et al.* (2014), analisando 100 carcaças de frango de corte provenientes de abatedouro frigorífico sob Inspeção Federal do Estado de Santa Catarina, compararam as contagens microrganismos mesófilos aeróbios entre carcaças com e sem contaminação gastrintestinal visível. As médias de contagens de mesófilos aeróbios encontradas, nos 4 diferentes dias de coleta, foram entre $3,0 \times 10^4$ e $1,55 \times 10^6$ UFC.g⁻¹ em carcaças com contaminação gastrintestinal visível. Entre as carcaças sem contaminação gastrintestinal visível, as contagens foram entre 6×10^3 e $1,0 \times 10^6$ UFC.g⁻¹, não encontrando diferença significativa entre os dois grupos.

3.4.2. *Escherichia coli*

O grupo dos coliformes termotolerantes é um subgrupo da família *Enterobacteriaceae* que inclui 44 gêneros e 176 espécies de bactérias Gram negativas na forma de bastonetes retos, não esporogênicas, anaeróbias facultativas e oxidase negativo que são capazes de fermentar a lactose com produção de gás, em 24 horas, a 45°C. *Escherichia coli*, que é o mais prevalente habitante comensal do TGI de humanos e animais de sangue quente, mas também um dos mais importantes patógenos causadores de DTA, é o melhor indicador de contaminação fecal, ou seja, de condições higiênico-sanitárias deficientes (Mead, 2004; Allocati, 2023).

E. coli normalmente coloniza o TGI de crianças dentro de poucas horas após o nascimento e essas linhagens comensais raramente causam doenças em hospedeiros saudáveis. No entanto, algumas linhagens de *E. coli* adquiriram atributos de virulência específicos, que conferem a estas bactérias maior capacidade de se adaptar a novos nichos e, dessa maneira, causar um amplo espectro de doenças, dentre elas as diarreias, as infecções do trato urinário e as meningites. Dentre as *E. coli* intestinais causadoras de doenças diarreicas, existem seis categorias bem descritas: a enteropatogênica (EPEC), a enterotoxigênica (ETEC), a enteroinvasiva (EIEC), a enteroagregativa (EAEC), a difuso aderente (DAEC) e a produtora de toxina tipo shiga (STEC). Os patótipos de *E. coli* implicados em doenças extraintestinais são conhecidos como ExPEC, sendo exemplos deles, *E. coli* uropatogênica (UPEC) e *E. coli* associado à meningite (MNEC) (Allocati, 2023).

A presença de *E. coli* em alimentos crus é considerado como um indicador de contaminação fecal. Por esse fator, ela é usada como um microrganismo indicador da presença de patógenos na água e alimentos. As carnes são comumente contaminadas por *E. coli* durante os processos de abate (Eyi e Arslan, 2012).

Eyi e Arslan (2012) pesquisaram a quantidade de *E. coli* presente em 168 amostras de carne, coletadas em açougues da Turquia, dentre as quais 56 eram provenientes de aves, 56 de bovino e 56 eram carne de bovinos moída. A prevalência encontrada para contaminação de *E. coli* entre as amostras foi de 53,6%, sendo que na carne de aves a prevalência foi a mais alta: 87,5%. O nível de contaminação geral foi de $3,8 \log_{10}$ UFC.g⁻¹, enquanto que nas amostras de carne de aves foi de $3,57 \log_{10}$ UFC.g⁻¹.

Thorsteinsdottir *et al.* (2010) realizaram estudo para pesquisar a prevalência de *E. coli* em amostras de ceco de frangos de corte abatidos na Islândia, e também em amostras de carne de frango coletadas em estabelecimentos processadores de carne de frango, antes da embalagem. Em todas as amostras de ceco e de carne de frango foi detectada a *E. coli*. Estudo coreano encontrou valor mais baixo: 14,9% de prevalência de *E. coli* em carne de aves (Lee *et al.*, 2009).

Menezes *et al.* (2018) encontraram *E. coli* em 33 (13,8%) das 240 amostras de carcaças de frangos coletadas nas diversas regiões do estado de Minas Gerais. Segundo os autores, a detecção de *E. coli* nem sempre está associada à detecção de *E. coli* enterohemorrágica, mas altos índices de contaminação sugerem um alerta quanto à possibilidade de se encontrar outros microrganismos que podem causar um amplo espectro de doenças, dentre elas as diarreias, as infecções do trato urinário e as meningites.

Stefani *et al.* (2014), comparando carcaças com e sem contaminação gastrointestinal, encontraram médias de *E. coli* de $3,5 \times 10^4$ UFC.g⁻¹ em carcaças sem contaminação gastrointestinal e $5,9 \times 10^4$ UFC.g⁻¹ em carcaças com contaminação gastrointestinal, não sendo observada diferença estatística entre os dois grupos.

Giombelli e Gloria (2014) realizaram estudo para testar a eficiência de diferentes métodos para remoção de contaminação gastrointestinal, entre eles a toalete e a lavagem de carcaças. Para seu estudo, foi realizada a contagem de *E. coli* em carcaças sem e com contaminação gastrointestinal, encontrando resultados

médios de $5,3 \times 10^4$ e 1×10^5 UFC.g⁻¹, respectivamente, não encontrando diferença estatística nas contagens de *E. coli*, coliformes totais e Enterobacteriaceae entre esses dois grupos.

3.4.3. *Salmonella* spp.

O gênero *Salmonella* pertence à família Enterobacteriaceae, é um bastonete Gram-negativo, não formador de esporo, anaeróbio facultativo, ubíquo no meio ambiente, sendo abundante no trato intestinal de diferentes animais. O gênero possui duas espécies: *Salmonella enterica* e *Salmonella bongori*. *S. enterica* possui seis subespécies: *enterica*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae*, *indica* e *salamae*. São mais de 2600 sorotipos já reportados, sendo que cerca de 1600 desses sorotipos pertencem à subespécie *enterica*, que é a maior causadora de infecções alimentares em humanos, causando gastroenterites e febre (Chen *et al.*, 2013; Oludario *et al.*, 2022).

Os diferentes sorotipos de *Salmonella* podem ser classificados de acordo com a especificidade do hospedeiro e características clínicas da infecção. Portanto, podem-se considerar três categorias: *Salmonella* spp. altamente adaptadas ao homem (incluindo os sorotipos Typhi e Paratyphi A, B, C, agentes da febre tifoide e paratifoide, respectivamente); *Salmonella* spp. adaptadas aos animais (sorotipos Dublin, Cholerasuis, Pullorum e Gallinarum) e *Salmonella* spp. zoonóticas, que atingem indiscriminadamente tanto homens como animais (*S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *S. Senftenberg* e *S. Hadar*) e também podem causar gastroenterites (Chen *et al.*, 2013). Os sorotipos Typhi, Paratyphi A, B e C são referidos coletivamente como salmonelas tifoides, enquanto os outros sorotipos são classificados como salmonelas não tifoides (Crump *et al.*, 2015).

As populações de aves, especialmente galinhas e perus, são frequentemente colonizadas por *Salmonella* spp.; porém, sem apresentar sintomas. A transmissão entre as aves ocorre pela via horizontal ou vertical e a bactéria facilmente contamina os ovos ou a carne de tais animais durante o processo produtivo. Apesar de a maior incidência ser observada na carne de aves, os ovos são a principal fonte de salmonelose aos humanos (Antunes *et al.*, 2016).

Nos homens, a principal forma da salmonelose é uma gastroenterite aguda. O período de incubação varia entre 4 a 72 horas após a ingestão do alimento ou água contaminada, tendo como principais sintomas febre aguda, calafrios, náusea, vômito, dor abdominal e diarreia. A febre costuma ter a duração de 72 horas, enquanto a diarreia é autolimitante durando em média 3 a 7 dias. Entre 5 a 10% das pessoas contaminadas apresentam bacteremia, algumas progredindo para infecções específicas como meningite, osteíte e artrite. Pacientes imunocomprometidos podem sofrer com infecções recorrentes e de duração prolongada (Chen *et al.*, 2013).

Um estudo brasileiro realizado por Ribeiro *et al.* (2007) pesquisou a presença de *Salmonella* spp. em diferentes partes da carcaça de frango (asa, coxas, peito sem osso e dorso) totalizando 61 amostras coletadas em um abatedouro frigorífico e submetendo-as a método de isolamento microbiológico utilizando meios de cultura seletivos para *Salmonella* spp., seguido por testes bioquímicos e sorológicos para confirmação. Das 61 amostras, 39,3% foram positivas para *Salmonella* spp., sendo a Enteritidis a mais frequente, representando 84% das 21 amostras positivas para *Salmonella* spp.

Yang *et al.* (2011) realizaram uma pesquisa para avaliar a prevalência de *Salmonella* spp. em carcaças de frango provenientes de seis diferentes províncias da China, além de duas cidades nacionais (Beijing e Shanghai). No total, 1.152 carcaças foram coletadas entre pequenos e grandes mercados, além de “wet markets”. Em 52,2% das amostras totais foi identificada a presença de *Salmonella* spp., não havendo diferença significativa entre o tipo de mercado onde se realizou a amostragem com a prevalência de carcaças positivas para *Salmonella* spp.

Um estudo brasileiro avaliou a prevalência de *Salmonella* spp. em 15 diferentes cidades brasileiras de todas as regiões do Brasil, coletando amostras de carcaças de frango em mercados e supermercados. Das 2.679 amostras analisadas, 73 (2,7%) foram positivas para o microrganismo e 18 diferentes sorotipos foram identificados, sendo a *S. Enteritidis*, *S. Infantis* e *S. Typhimurium* as mais prevalentes, com 48,8%, 7,6% e 7,2%, respectivamente, de prevalência, dentro das amostras positivas para *Salmonella* spp. (Medeiros *et al.*, 2011).

Godoy *et al.* (2015) pesquisaram a presença de diferentes sorovares de salmonela em 200 amostras de carne de frango coletadas em Bogotá, Colômbia, de

diversos tipos de comércio, entre eles açougues, supermercados, pequenas lojas e também em centros de distribuição de grandes empresas do ramo alimentício, encontrando uma prevalência média de 26%, não detectando diferença significativa entre a prevalência de pequenos mercados e dos grandes centros distribuidores. Os principais sorovares encontrados foram *S. Paratyphi B* (49%), seguido por *S. Heidelberg* (15,7%), *S. Enteritidis* (17,7%) e *S. Typhimurium* (5,9%).

Um estudo no Egito pesquisou *Salmonella* spp. tanto em carcaças de frangos de corte como em outros produtos cárneos provenientes dessas carcaças, e encontrou as prevalências de 16% nas carcaças inteiras, 28% nas coxas de frango, 32% nos fígados e 60% nas moelas, resultando em uma prevalência de *Salmonella* spp. em 34% de todas as amostras. O estudo foi realizado a partir de amostras coletadas em diferentes mercados e supermercados da cidade de Mansoura, no Egito (Abd-Elghany, 2015).

Menezes *et al.* (2018), com o objetivo de avaliar a contaminação de carcaças de frangos de corte produzidas no estado de Minas Gerais, coletaram 240 amostras provenientes de 10 estabelecimentos industriais do estado e encontraram uma prevalência de 9,1% de carcaças contaminadas com *Salmonella* spp.. Segundo os autores, esses resultados são preocupantes, pois, além do risco de ingestão do microrganismo viável presente na carne mal processada termicamente, ainda pode ocorrer a contaminação cruzada de outros alimentos durante a sua preparação em uma cozinha doméstica.

Gonçalves-Tenório *et al.* (2018) realizaram um estudo de metanálise sobre a presença de microrganismos patogênicos encontrados na carne de frango de várias regiões da Europa. A prevalência média de *Salmonella* spp. foi a menor dentre os 4 patógenos pesquisados (*S. aureus*, *Campylobacter* spp., *L. monocytogenes* e *Salmonella* spp.), apresentando média de 7,1%. Os autores atribuíram o baixo resultado ao programa de controle de *Salmonella* existente na UE.

Jimenez *et al.* (2002) pesquisaram a presença de *Salmonella* spp. em carcaças com e sem contaminação gastrintestinal visível, logo após a evisceração em um abatedouro de aves na Argentina. Segundo o resultado encontrado, a presença ou não da contaminação visível não impactou na prevalência do microrganismo. Foi encontrada prevalência de 12,5% de *Salmonella* spp. em

carcaças com contaminação visível logo após a evisceração e 20% de prevalência desse mesmo microrganismo para carcaças sem contaminação visível, amostradas logo após a evisceração.

3.5. **As principais fontes de contaminação das carcaças e dos produtos cárneos de frango de corte**

Algumas operações de abate como escaldagem, depenagem e evisceração exercem papel fundamental na distribuição da contaminação microbiana em carcaças de frango durante o processo de abate. Essa última operação está associada à contaminação da carcaça por rompimento do TGI e, conseqüentemente, por microrganismos de origem entérica (Von Ruckert *et al.*, 2009).

Durante e após o abate, os microrganismos provenientes da microbiota dos animais, do ambiente e do equipamento utilizado contaminam as carcaças, os cortes provenientes dessas e os produtos cárneos processados. Algumas dessas bactérias contaminantes podem multiplicar ou sobreviver durante o processamento do alimento e sua estocagem (Vihavainen *et al.*, 2007; Rouger, Tresse, Zagorec, 2017; Emanowecz *et al.*, 2021).

Em animais saudáveis vivos, os músculos são estéreis, porém, vários microrganismos são comensais do aparelho digestivo, pulmões, pele e penas dos animais. Nos abatedouros frigoríficos, as superfícies dos equipamentos e os ambientes também podem abrigar bactérias. (Rouger, Tresse, Zagorec, 2017).

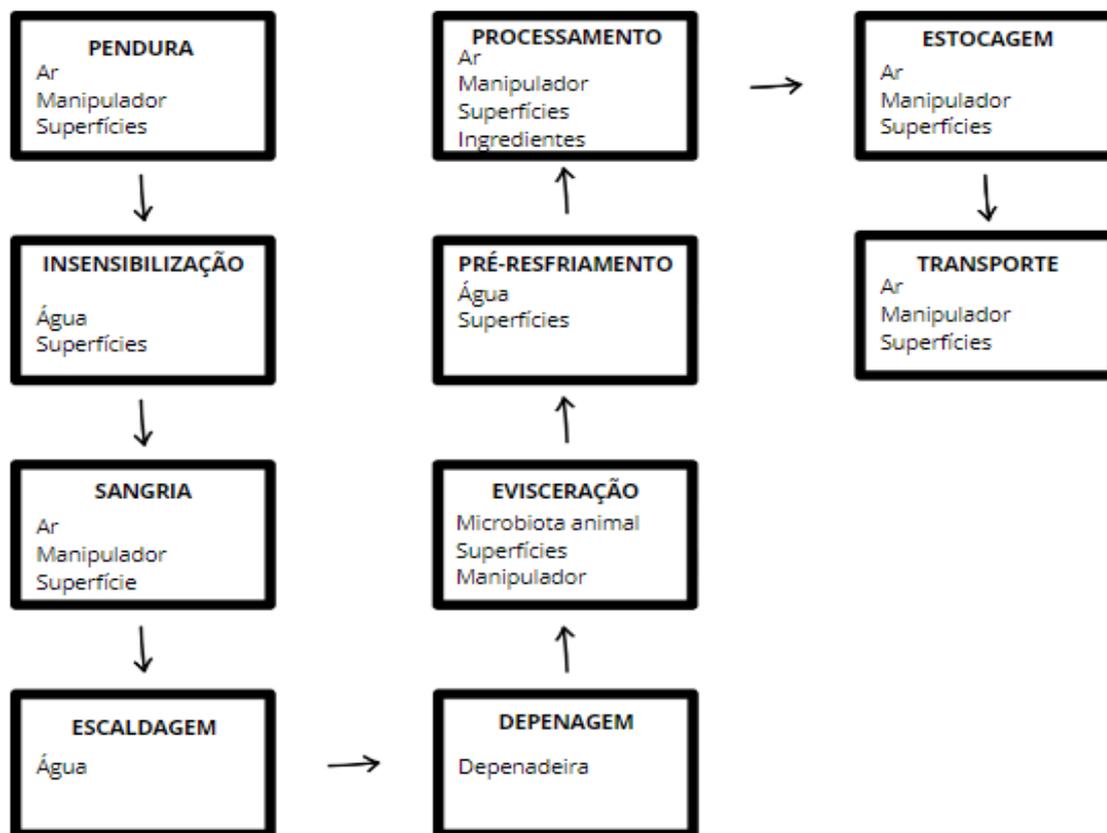


Figura 1: Principais etapas do abate de frangos de corte e possíveis fontes de contaminação da carcaça em cada etapa.

A pele das carcaças e seus cortes estão em contato direto com o ar e com as superfícies dos equipamentos, sendo, portanto, facilmente contaminadas. As superfícies de contato têm um papel importante na contaminação das carcaças desde o início do processo. Os dedos de borracha utilizados no processo de depenagem podem ser fontes de contaminação das carcaças. A contaminação cruzada entre as carcaças podem ocorrer através de contato direto ou através do contato com superfícies contaminadas (Arnold e Yates, 2009; Veluz, Pitchiah, Alvarado, 2012).

A etapa de escaldagem, apesar de reduzir a carga bacteriana devido às altas temperaturas utilizadas (50 a 60°C), pode promover a contaminação cruzada entre carcaças. Essa alta temperatura dilata o folículo da pena e relaxa a pele da ave, permitindo que os processos seguintes de produção retirem as bactérias das pele das aves e às carreguem até esses folículos, aprisionando-as com o resfriamento das carcaças (Rouger, Tresse, Zagorec, 2017).

Durante as diferentes etapas do processo de evisceração automatizada, o papo, o esôfago, o estômago e as alças intestinais podem ser cortados ou sofrerem rupturas se o equipamento não estiver bem ajustado ao tamanho das carcaças ou se o lote não estiver uniforme (Seliwiorstow *et al.*, 2016).

A água fria utilizada para resfriar as carcaças após a evisceração pode atuar como um veículo para a contaminação cruzada das carcaças, mas também podem ter um efeito descontaminante devido à lavagem superficial da pele, especialmente quando há a adição de cloro nessa água (Demirok *et al.*, 2013).

Durante as etapas de desossa, cortes e mistura, necessárias na produção de alimentos processados a base de carne de frango, os manipuladores, o ar e as superfícies são as principais fontes de contaminação, uma vez que essas operações de transformação aumentam a área de contato da carne. Como consequência, produtos transformados geralmente apresentam maior contagem bacteriana do que cortes primários (Astorga *et al.*, 2002).

Russel e Walker (1997), avaliando os dados do Sistema de Inspeção Americano, observaram que entre 0,8 e 5% das carcaças de frango de corte apresentaram contaminação gastrintestinal logo antes de serem direcionadas ao sistema de resfriamento. Segundo os autores, logo após a evisceração, entre 4 e 6% das carcaças apresentavam contaminação fecal na cavidade celomática e entre 5,2 e 8,4% apresentavam contaminação fecal na superfície externa.

Jimenez *et al.* (2003) verificaram a presença de contaminação gastrintestinal externa visível em 7650 carcaças de frango de corte logo após a evisceração manual, encontrando, respectivamente, contaminação fecal e biliar em 11,3% e 5,2% das carcaças. O estudo também comparou as contagens de enterobactérias, coliformes totais e *E. coli* entre as carcaças que apresentavam contaminação gastrintestinal visível com aquelas que não apresentavam contaminação visível, encontrando diferença significativa apenas para *E. coli*, que apresentou média de 3,54 log₁₀.UFC/ml em carcaças com contaminação visível e 2,72 log₁₀.UFC/ml em carcaças sem contaminação visível. Os autores não observaram diferença significativa nas contagens de *Enterobacteriaceae* e coliformes totais entre carcaças com contaminação visível e carcaças sem contaminação visível.

Russel (2003) ao estudar a ocorrência de contaminação gastrointestinal em carcaças de frango de corte com lesões características de aerossaculite, coletou 200 carcaças por dia amostrado, durante 5 dias, imediatamente antes da lavagem final, sendo 100 carcaças provenientes de lotes com alta prevalência de aerossaculite e 100 de lotes com baixa prevalência. Como resultado, encontrou que em 4 dos 5 dias amostrados houve diferença significativa, uma vez que carcaças com alta prevalência de aerossaculite apresentaram maior frequência de contaminação gastrointestinal (até 13% das carcaças nesses lotes continham contaminação visível). Segundo o autor, as carcaças com lesões de aerossaculite possuíam significativamente maior taxa de erros de processamento, como cortes nas alças intestinais, torções das vísceras e falhas na evisceração, quando comparadas com as carcaças que não tinham lesões características de aerossaculite, o que explicaria a maior chance de contaminação nessas carcaças.

Cibin *et al.* (2014), em um estudo realizado na UE, verificaram que carcaças de frango de corte que visualmente não apresentavam contaminação gastrointestinal visível logo após a evisceração apresentaram contagens de *E. coli* entre 1,30 e 7,38 \log_{10} UFC.g⁻¹, enquanto que as carcaças com contaminação visível apresentaram entre 2,40 e 7,04 \log_{10} UFC.g⁻¹. Logo após o resfriamento, as carcaças sem contaminação visível apresentaram entre 1,00 e 6,95 \log_{10} UFC.g⁻¹, enquanto que nas carcaças com contaminação visível encontrou-se entre 2,65 e 5,28 \log_{10} UFC.g⁻¹. As contagens de Enterobacteriaceae após a evisceração das carcaças sem contaminação visível foi de 1,48 a 7,45 \log_{10} UFC.g⁻¹, para aquelas com contaminação visível foi de 2,45 a 7,26 \log_{10} UFC.g⁻¹. Após o resfriamento, os resultados foram 1,00 a 7,08 \log_{10} UFC.g⁻¹ e 3,54 a 5,18, para as carcaças sem e com contaminação visível, respectivamente.

Em um estudo realizado no Brasil, Brizio *et al.* (2016) compararam a ocorrência de contaminação gastrointestinal visível em diferentes etapas do processamento das carcaças de frango de corte, sendo que o ponto logo após a evisceração automática apresentou a maior prevalência: 6% das carcaças examinadas apresentaram contaminação fecal, 1,45% apresentaram contaminação biliar e 1,9% apresentaram contaminação gástrica, perfazendo um total de 9,35% das carcaças com alguma contaminação.

Em quase todos processos inteiramente mecanizados, a variação biológica e a condição física do animal são os fatores mais importantes referentes à ocorrência de problemas durante o abate, como por exemplo o dano nas alças intestinais ou da vesícula biliar. Apesar disso, avaliações quantitativas da contaminação fecal são limitadas e a carga total de contaminação bacteriana também deve ser considerada mesmo quando não há contaminação visível (Libera, Lipman, Berends, 2023).

Libera *et al.* (2023) realizaram uma simulação utilizando a técnica “Monte Carlo”, que é um método usado para prever os resultados de eventos derivados de múltiplas variações em suas entradas. Isso proporciona uma compreensão de como resultados finais específicos desses cálculos podem ser comuns ou extraordinários. Foi testada a hipótese de que não há diferença significativa da carga bacteriana entre carcaças que apresentam pequenas contaminações gastrintestinais daquelas que não apresentam qualquer contaminação visível. A conclusão foi que carcaças com pequenas contaminações fecais, biliares, grãos e graxa não apresentam um maior grau de contaminação microbiana quando comparadas com carcaças sem contaminação visível.

3.6. **Microrganismos deteriorantes presentes em carcaças de frango de corte**

Algumas bactérias que colonizam as penas e a pele das aves vivas são removidas durante a operação de escaldagem, porém, tais operações podem servir como locais para ocorrência de contaminação cruzada durante o processamento. Algumas bactérias podem sobreviver ao processo de abate e armazenamento, como a *Shewanella putrefaciens* que é frequentemente isolada em carcaças de aves durante o processo de abate e pode estar presente após 14 dias de estocagem (Rouger, Tresse, Zagorec, 2017).

Durante a estocagem, em condições de resfriamento, a carga microbiana aumenta. porém, a diversidade diminui quando comparada com a contaminação inicial da carcaça (Holl, Behr, Vogel, 2016). A deterioração microbiológica ocorre

como consequência do crescimento bacteriano e das atividades metabólicas das bactérias deteriorantes (Rouger, Tresse, Zagorec, 2017).

Temperaturas de armazenamento baixas favorecem o crescimento de psicotróficos, enquanto CO₂ tem um efeito inibidor contra *Pseudomonas* spp. (Marmion *et al.*, 2021).

Brochothrix thermosphacta, *Pseudomonas fluorescens* e *Shewanella putrefaciens* estão entre as bactérias deteriorantes mais citadas na literatura como deteriorantes da carne de frango. *Aeromonas hydrophila* e *Aeromonas sobria* são bactérias psicotróficas que podem causar a deterioração da carne de frango, mas podem também ser patogênicas aos humanos. Bactérias ácido-láticas também já foram demonstradas como envolvidas na deterioração da carne de frango, particularmente as espécies *Leuconostoc gelidum* subespécie *gasicomitatum* e *Lactobacillus oligofermentans* (Rouger, Tresse, Zagorec, 2017).

Durante a embalagem da carne de frango, os microrganismos predominantes são os da família *Enterobacteriaceae*, além de *Pseudomonas* spp., *Lactobacillus* spp., *Acinetobacter* spp e *B. thermosphacta*. Quando estocadas em condições aeróbicas, as *Pseudomonas* multiplicam a ponto de dominar a microbiota presente, enquanto que espécies do gênero *Shewanella* estão também presentes mas em menor número. Em embalagens com atmosfera alterada com pequena quantidade de oxigênio, há uma maior diversidade de gêneros adaptados a ambientes mais frios: *Aeromonas*, *Buttiauxella*, *Carnobacterium*, *Enterobacter*, *Hafnia*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pseudomonas*, *Serratia*, *Shewanella*, and *Yersinia*. Eles são capazes de proliferar na carne de frango, produzindo compostos que contribuem para a deterioração, como ácido lático e etanol (Marmion *et al.*, 2021).

4. MATERIAL E MÉTODOS

A fase experimental foi realizada em um abatedouro frigorífico de frangos de corte que se situa na região metropolitana de Belo Horizonte e as análises microbiológicas das carcaças foram realizadas no Laboratório de Microbiologia de

Alimentos do Departamento de Tecnologia e Inspeção de Produtos de Origem Animal da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais.

4.1. **Avaliação microbiológica das carcaças com e sem contaminação gastrointestinal visível na superfície externa**

4.1.1. **Coleta das carcaças**

O abatedouro frigorífico onde foram realizadas as coletas das amostras encontra-se sob Inspeção Federal permanente, a cargo do MAPA. São abatidas aproximadamente 130.000 aves por dia (velocidade máxima permitida de 10.800 aves/hora), em dois turnos de aproximadamente 8 horas cada, utilizando equipamento mecanizado capaz de eviscerar e apresentar as vísceras separadamente da carcaça para a Inspeção Federal. Os animais abatidos possuíam aproximadamente 44 dias de idade, com peso vivo entre 2,5 e 3,0 Kg. Todas as carcaças coletadas foram provenientes de lotes negativos para *Salmonella* spp. em amostras swab de arrasto exigidos pela legislação brasileira anteriormente ao abate. O tempo de jejum dos frangos de corte praticado pelo estabelecimento era de aproximadamente 8 horas.

O estabelecimento possui implantados e validados os Programas de Autocontrole (PAC) de manutenção, de água de abastecimento, de controle integrado de pragas, de higiene industrial e operacional, de higiene e hábitos higiênicos dos funcionários, de procedimentos sanitários operacionais (PSO), de controle de matéria-prima, de controle de temperatura, de análise de perigos e pontos críticos de controle (APPCC) e de análises laboratoriais. As carcaças foram coletadas apenas quando os processos de evisceração apresentaram conformidade nos quesitos: água de abastecimento, manutenção, higiene industrial e operacional, higiene e hábitos higiênicos dos funcionários, PSO e APPCC.

Logo após a evisceração automática realizada pelo equipamento modelo MT-102 da marca MEITECH e antes de qualquer outra manipulação ou procedimento de lavagem, as carcaças foram avaliadas quanto à presença ou não

de contaminação gastrointestinal visível e foram coletadas de forma estéril, sendo colocada em saco estéril, pesadas, catalogadas e acondicionadas em caixa de isopor contendo gelo reciclável com temperatura ambiente $< 7^{\circ}\text{C}$, sendo as carcaças mantidas nas caixas até a chegada ao laboratório. Todas as coletas foram realizadas na última hora do 1º turno de abate, sendo transportadas ao laboratório logo ao final do abate. Todas as carcaças coletadas a cada semana eram provenientes de uma mesma granja.

As carcaças foram coletadas e avaliadas pelo veterinário oficial responsável pelos procedimentos de inspeção *ante* e *post mortem* e pela Inspeção Federal (IF) do estabelecimento. A escolha das carcaças foi realizada aleatoriamente, obedecendo os seguintes critérios:

- Carcaças sem contaminação visual:

Após coleta aleatória, apenas as carcaças que não possuíam qualquer contaminação gastrointestinal na superfície externa ou interna, qualquer lesão traumática, fratura ou qualquer sinal de alteração sanitária (celulite, aerossaculite, síndrome ascítica, entre outras) foram selecionadas após avaliação do veterinário oficial, até se atingir o número necessário de carcaças.

- Carcaças com contaminação gastrointestinal visível:

Após coleta aleatória, apenas as carcaças que apresentavam contaminação gastrointestinal visível na superfície externa, mas sem contaminação interna, além de não possuir qualquer lesão traumática, fratura ou qualquer sinal de alteração sanitária (celulite, aerossaculite, síndrome ascítica, entre outras) foram selecionadas após avaliação do veterinário oficial, até se atingir o número necessário de carcaças. Apenas as carcaças contaminadas por conteúdo biliar não foram selecionadas, as demais contaminações gastrointestinais possíveis (contaminação por ingesta e por conteúdo duodenal, cecal e do intestino reto) foram todas consideradas como contaminação, sem distinção entre elas.

4.1.2. Tratamentos

Foram utilizados dois tratamentos: carcaça com contaminação gastrointestinal visível na superfície externa (T1) e carcaça sem contaminação gastrointestinal visível na superfície externa (T2), sendo coletadas no total 30 carcaças por tratamento, em

seis diferentes semanas, 5 carcaças por tratamento por semana, perfazendo um total de 60 carcaças coletadas. Cada carcaça foi considerada uma observação e cada semana foi considerado um bloco. A coleta foi realizada entre os meses de abril e maio de 2023.

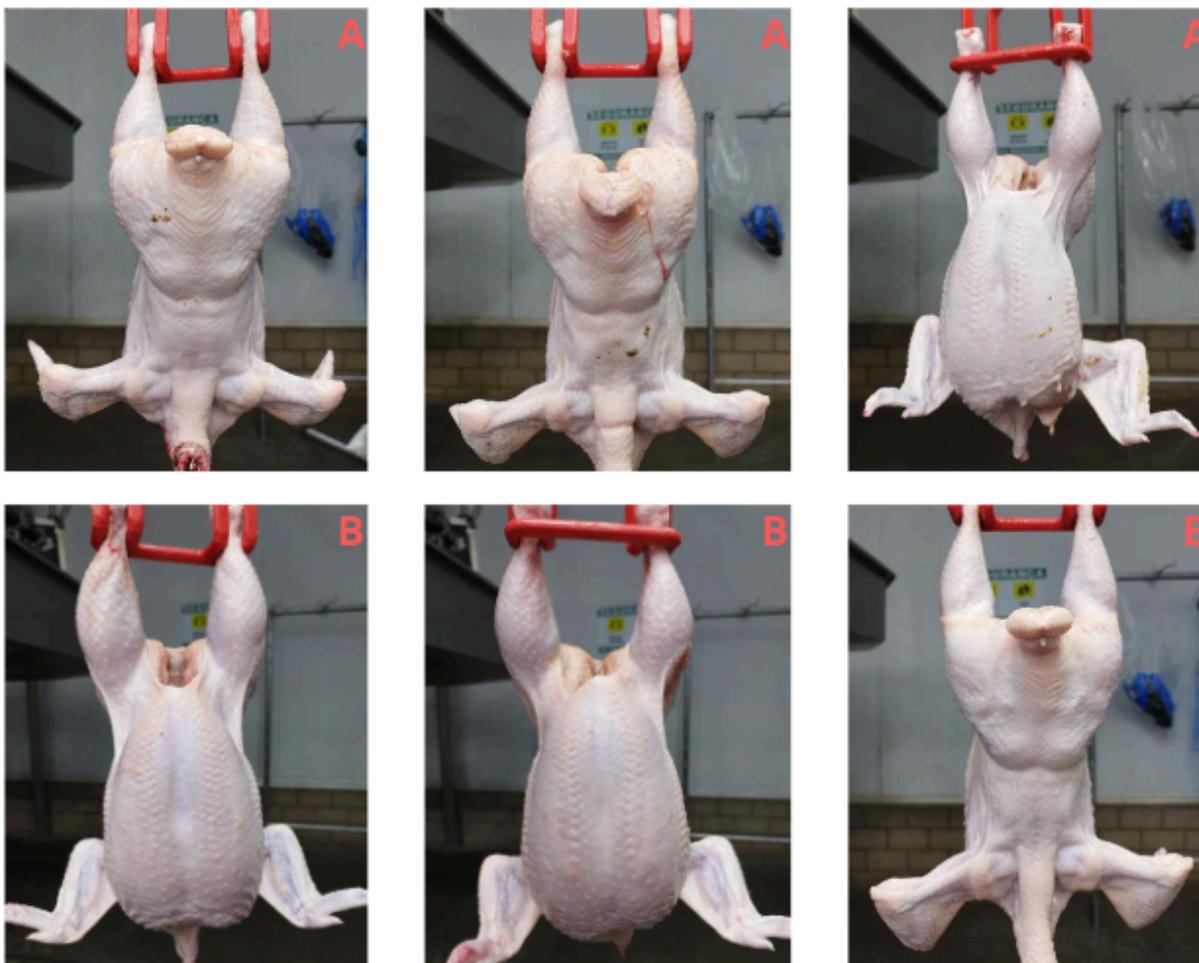


Figura 2 - Carcaças de frango de corte com contaminação gastrintestinal visível (A) e sem contaminação gastrintestinal visível (B).

4.1.3. Análises microbiológicas

Todas as carcaças foram submetidas à contagem de microrganismos mesófilos aeróbios (UFC.g^{-1}), *Escherichia coli* (UFC.g^{-1}) e pesquisa de *Salmonella* spp. Após chegarem ao laboratório, as carcaças foram enxaguadas utilizando salina peptonada tamponada na concentração de 0,1%. Foi adicionado 1mL da solução de salina peptonada para cada 10 g de peso da carcaça. Logo após, os sacos foram movimentados por aproximadamente 1 minuto, realizando 35 movimentos de

inversão do saco, para cima e para baixo, de forma com que toda a carcaça tivesse contato com o líquido (Line, Oakley, Stern, 2013; EUA, 2015).

Alíquotas do líquido proveniente do enxágue das carcaças com salina peptonada foram utilizadas para as pesquisas microbiológicas. A partir da concentração inicial, a diluição 10^{-1} foi realizada retirando-se 10 ml do líquido resultante da lavagem e adicionados em 90 ml do diluente (água salina peptonada 0,1%); as diluições seguintes foram realizadas retirando-se 1 ml da diluição 10^{-1} e adicionado a tubo de ensaio contendo 9,0 ml do mesmo diluente, e assim sucessivamente até alcançar as diluições desejadas.

4.1.3.1. Pesquisa de microrganismos mesófilos aeróbios

A contagem de microrganismos mesófilos aeróbios foi realizada pelo método de inoculação em profundidade, segundo metodologia ISO 4833-1 (ABNT, 2015). Diluições entre 10^{-2} e 10^{-6} foram utilizadas e 1 mL de cada tubo foi transferido para placas de Petri às quais foram adicionados 20mL de ágar PCA fundido (Oxoid, Basingstoke, Hampshire, England), mantido em banho de água a 46°C, utilizando a técnica “pour plate”. As placas foram incubadas a 36°C por 48h e foi realizada a leitura em seguida. O número das colônias foi multiplicado pela recíproca da diluição utilizada e expresso como unidades formadoras de colônias (UFC) por grama de mesófilos aeróbios. Após a contagem, cada colônia morfologicamente diferente da placa foi enviada para identificação por espectrometria de massa “Matrix Assisted Laser Desorption Ionization - Time of Flight” (MALDI-TOF), utilizando o equipamento Microflex® (Bruker Daltonics - Bremen, Alemanha). Os espectros obtidos foram analisados pelo programa MALDI Biotyper (Bruker Daltonics).

4.1.3.2. Pesquisa de *Escherichia coli*

A contagem de *E. coli* foi realizada por inoculação das diluições das amostras em placas de Petrifilm® (3M™, St Paul, MN, USA) seguindo a metodologia da AOAC (AOAC, 2002). Foram utilizadas diluições de 10^{-1} a 10^{-5} . As placas de Petrifilm® EC foram incubadas horizontalmente, sem inversão, a 36 ± 1 °C por 24 horas. Foram consideradas colônias características de *E. coli* aquelas com coloração azul e com produção de gás. O número das colônias foi multiplicado pela recíproca da diluição utilizada e expresso como UFC de *E. coli* por grama de produto.

4.1.3.3. Pesquisa de *Salmonella* spp.

A pesquisa de *Salmonella* spp. foi realizada de acordo com a metodologia ISO 6579-1 (ISO, 2017), com modificações. Alíquotas de 25 mL do líquido resultante do enxágue de cada carcaça foram transferidas para frascos contendo 225 mL de solução de salina peptonada 1% que foram incubados entre 34°C e 38°C por 18h (+2h) para a realização do pré-enriquecimento. Após a incubação, 1 mL de cada frasco foi transferido para tubo de ensaio contendo 10 mL caldo Muller-Kauffmann Tetrionato-Novobiocina (MKTTn) (Oxoid, Basingstoke, Hampshire, England) que foi novamente incubado entre 34°C e 38°C por 24h (+3h). Cada frasco do pré-enriquecimento também teve 0,1 mL transferido para tubo de ensaio contendo 10 mL do caldo Rappaport-Vassiliadis com soja (RVS) (Hexis, Jundiaí, São Paulo) e incubado a 41,5°C por 24h (+3h).

Após incubação, utilizando uma alça de Drigalski descartável estéril, alíquotas dos caldos RVS e MKTTn foram estriados, individualmente, em placas de petri contendo o ágar XLD (Titan Biotech, Rajasthan, India) e ágar BPLS (Oxoid, Basingstoke, Hampshire, England). As placas resultantes foram incubadas entre 34° a 38°C por 24h (+3h). As colônias obtidas nas diferentes placas foram avaliadas e uma colônia de cada diferente morfologia foi selecionada para confirmação pela espectrometria de massa “Matrix Assisted Laser Desorption Ionization - Time of Flight” (MALDI-TOF), utilizando o equipamento Microflex® (Bruker Daltonics,

Bremen, Alemanha). Os espectros obtidos foram analisados pelo programa MALDI Biotyper (Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha).

4.1.3.4. Identificação microbiológica dos microrganismos mesófilos aeróbios através das análises de espectrometria de massas MALDI-TOF

Cada colônia bacteriana fresca foi retirada por vez das respectivas placas de Petri e transferida para uma placa alvo de aço inoxidável com adição subsequente de 1 μ l de ácido fórmico (70 %) e 1 μ L de ácido α -ciano-4-hidroxicinâmico que em seguida foi acoplada ao equipamento. O espectro de massa gerado, de acordo com o perfil proteico ribossomal das bactérias, foi comparado com informações do banco de dados. Para interpretação das pontuações, foram utilizados os critérios recomendados pelo fabricante, que define os escores ≥ 2.000 a identificação em nível de espécie, 1.700 a 2.000, identificação em nível de gênero e escores inferiores a 1.700 não foi associado a nenhum microrganismo (Singhal *et al.*, 2015).

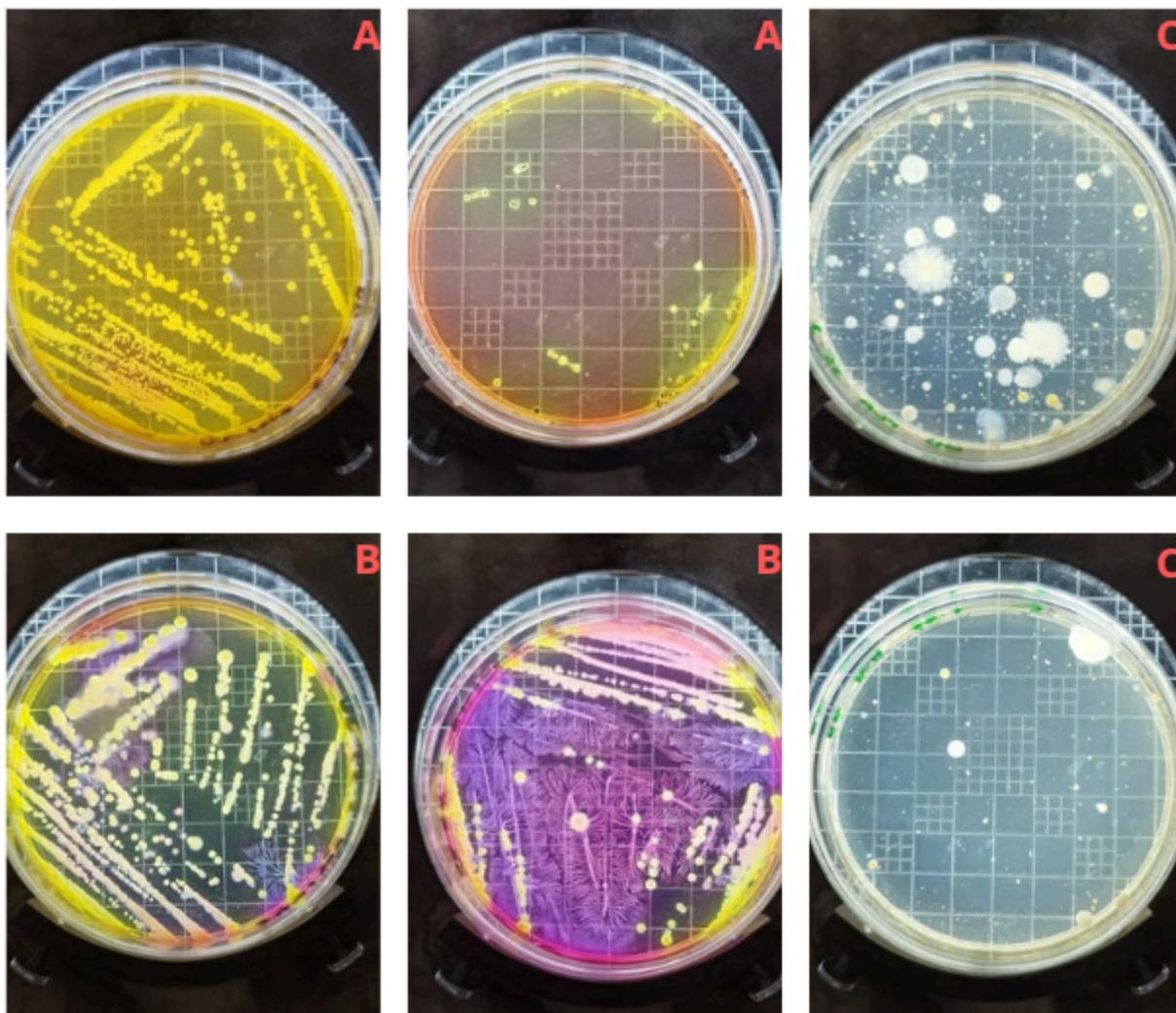


Figura 3 - Meios de cultura após incubação: XLD (A), BPLS (B) e PCA (C)

4.1.4. Delineamento experimental

A hipótese a ser testada é que as carcaças que apresentam contaminação gastrointestinal na superfície externa possuem maiores contagens de microrganismos mesófilos aeróbios e *E. coli*, além da maior probabilidade de encontrar a bactéria *Salmonella* spp., quando em comparação com aquelas sem contaminação gastrointestinal visível.

O ensaio das análises foi conduzido no delineamento em blocos casualizados, com dois tratamentos e seis blocos (cada semana de amostragem foi considerada como um bloco) com 30 repetições de uma carcaça cada e em cada semana eram coletadas 5 repetições (carcaças). Foi realizada a transformação dos

dados para a contagem de microrganismos mesófilos aeróbios e *E. coli* através da transformação logarítmica (\log_{10}). As análises estatísticas das contagens de microrganismos mesófilos aeróbios e *E. coli* foi realizada através de ANOVA, utilizando o teste F com nível de significância de 5%. Para a comparação da chance de ocorrência de *Salmonella* spp. foi utilizado o teste qui-quadrado. Microsoft Excel foi utilizado para a realização de ambas as análises.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Contagens de microrganismos mesófilos aeróbios e *E. coli*

A tabela a seguir apresenta a média e os desvios-padrões, após transformação logarítmica, das contagens de microrganismos mesófilos aeróbios e *E. coli* das carcaças de frango de corte sem e com contaminação gastrintestinal visível na superfície externa.

Tabela 2: Médias e desvio padrão das contagens de microrganismos mesófilos aeróbios e *E. coli*, após transformação logarítmica ($\text{Log}_{10} \text{UFC.g}^{-1}$), das carcaças de frangos de corte com e sem contaminação gastrintestinal visível coletadas logo após a evisceração automatizada.

	Microrganismos mesófilos aeróbios	
		<i>E. coli</i>
Carcaças sem contaminação gastrintestinal visível	5,42 ± 0,40 ^a	3,74 ± 0,68 ^a
Carcaças com contaminação gastrintestinal visível	6,01 ± 0,61 ^b	4,70 ± 0,62 ^b

Médias seguidas de letras distintas na coluna, diferem entre si pelo teste de Fisher ($p < 0,05$).

Para as contagens de microrganismos mesófilos aeróbios e *E. coli*, a hipótese inicial do trabalho se mostrou verdadeira ($p < 0,05$). As carcaças de frango de corte com contaminação gastrintestinal visível na superfície externa apresentaram maiores

contagens dessas bactérias quando comparadas com aquelas sem contaminação gastrointestinal visível na superfície externa. Tal resultado está coerente, já que como os microrganismos mesófilos aeróbios são bons indicadores de higiene do processo, era esperado que carcaças de frango de corte visivelmente contaminadas por conteúdo fecal apresentassem contagens mais elevadas desses microrganismos, levando-se em consideração que a contaminação por conteúdo gastrointestinal é uma das principais fontes de contaminação da carcaça de frango durante o processo de evisceração, apesar de existirem outras fontes de contaminação como a água, ar, manipuladores e superfícies, que podem contribuir para a contaminação das carcaças de frango por esses microrganismos. A maior contagem de *E. coli* observada em carcaças com contaminação gastrointestinal visível era também esperada, uma vez que tal microrganismo é encontrado abundantemente no trato gastrointestinal dos frangos de corte. Apesar de as carcaças com contaminação gastrointestinal visível apresentarem maiores contagens, as carcaças sem contaminação visível apresentaram elevadas contagens tanto para *E. coli* como para *Enterobacteriaceae* reforçando a importância da contaminação cruzada nas operações de abate de aves de corte.

Diferentemente dos resultados apresentados, Bilgili *et al.* (2002) não encontraram diferenças significativas nas contagens de microrganismos mesófilos aeróbios e *E. coli* em carcaças com ou sem a presença visível de contaminação por ingesta (conteúdo proveniente do papo, proventrículo e moela); porém, há que se levar em consideração que o objetivo dos autores foi avaliar o efeito apenas da contaminação por ingesta, enquanto que, no presente trabalho, pesquisou-se o efeito da contaminação por todos os tipos de conteúdos gastrointestinais, exceto bile.

Jimenez *et al.* (2003) também observaram diferença significativa nas contagens de *E. coli* entre carcaças com e sem contaminação gastrointestinal visível logo após o processo de evisceração, possuindo maiores contagens aquelas carcaças com contaminação gastrointestinal visível. Além de *E. coli*, tal estudo comparou também as contagens de *Enterobacteriaceae* e de coliformes totais entre os dois grupos (com e sem contaminação gastrointestinal visível), porém, apenas a *E. coli* apresentou diferença significativa. As contagens de *Enterobacteriaceae* e de coliformes totais também são utilizadas como indicadores de higiene do processo,

portanto, essa não observância da diferença entre os dois grupos pode ser explicada por uma extensa contaminação das carcaças de ambos os grupos durante os processos produtivos, não causando diferença nas contagens entre os dois grupos.

Cibin e colaboradores (2014), ao analisarem amostras de pele de pescoço de carcaças de frango de corte provenientes de abatedouros que utilizam o método de evisceração automática, também encontraram contagens maiores de *E. coli* e *Enterobacteriaceae* em carcaças que apresentavam contaminação gastrointestinal visível do que naquelas sem contaminação gastrointestinal visível.

Giombelli e Glória (2014), utilizando a técnica de enxágue das carcaças de frango de corte, pesquisaram as contagens de *E. coli*, coliformes totais e *Enterobacteriaceae* em carcaças com e sem contaminação gastrointestinal visível logo após a evisceração e também em carcaças com contaminação gastrointestinal visível após a toaleta realizada pela inspeção *post mortem* e não encontraram diferenças significativas nas contagens em todos os grupos pesquisados.

Stefani *et al.* (2014), com o objetivo de analisarem o efeito da toaleta e da lavagem de carcaças de frango de corte logo após a evisceração automática, compararam as contagens de microrganismos mesófilos aerófilos e *E. coli* entre carcaças com e sem contaminação gastrointestinal visível antes de receberem qualquer um dos tratamentos para remoção das contaminações, não encontrando diferença significativa. No estudo foi feito uso da técnica de enxágue das carcaças. Segundo os autores, as carcaças de frango são intensamente contaminadas, porém, aquelas visivelmente contaminadas podem não ter contagens maiores do que carcaças sem contaminação visível.

Em suas conclusões, Bilgili *et al.* (2002) afirmam que, apesar de a prevenção da contaminação das carcaças de frango de corte por conteúdo do TGI deve ser um importante objetivo durante o processamento, os dados gerados por seu estudo indicam que a contaminação não tem valor preditivo para a estimativa da qualidade microbiológica da carcaça. Cibin *et al.* (2014) também concluíram de modo semelhante, afirmando que não há correlação direta entre a presença de contaminação fecal visível nas carcaças e a contaminação por *E. coli*.

Portanto, não há um consenso entre os trabalhos avaliados sobre o efeito da presença de contaminação gastrointestinal visível na superfície de carcaças de frango de corte nas contagens de *E. coli* e de diferentes indicadores de higiene do processo, como *Enterobacteriaceae*, mesófilos aeróbios ou coliformes. São necessárias mais pesquisas para se identificar potenciais fontes de variação causando tais divergências, como os diferentes métodos de coleta e pesquisa microbiológica das carcaças e os diferentes maquinários utilizados durante a evisceração automática, de forma a possibilitar avaliar a real interferência na qualidade microbiológica das carcaças pela presença de carcaças com contaminação gastrointestinal visível.

É importante ressaltar que há vários fatores que podem impactar na ocorrência de contaminação durante as etapas da evisceração, como, por exemplo, o peso ao abate e o tempo de jejum dos animais (Cibin *et al.*, 2014; Brizio *et al.*, 2016). Isso dificulta a comparação direta entre estudos realizados em plantas frigoríficas diferentes, com realidades distintas. As diferenças nos métodos de lavagem de carcaça também podem ser uma fonte de variação que dificulta a comparação de números absolutos de microrganismos observados entre diferentes trabalhos. Também deve ser levado em consideração que alguns trabalhos utilizam a coleta de pele do pescoço para se realizar as análises microbiológicas, porém, esse local pode não ter a mesma frequência de presença de contaminação gastrointestinal de outras partes da carcaça, o que pode dificultar a comparação entre diferentes estudos que utilizam outros métodos, como por exemplo, o enxágue das carcaças. Por fim, deve ser avaliado o papel das outras fontes de contaminação da carcaça de frango, como a água, o ar, os manipuladores, e as superfícies, que podem ter papel diferente em diferentes indústrias, de acordo com os equipamentos e os processos produtivos executados em cada uma.

Apesar da maioria dos estudos encontrados comparando a qualidade microbiológica entre carcaças com e sem contaminação visível avaliarem as contagens de *E. coli* e *Enterobacteriaceae*, o presente estudo se baseou na legislação brasileira que, apesar de não determinar contagens máximas para qualquer microrganismo ou grupo de microrganismos para as carcaças ainda em produção, ela estipula, através da IN nº 161 (Brasil, 2022a) e a Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 724/2022 (Brasil, 2022b), padrões microbiológicos para

para diversos alimentos prontos para consumo. No caso da carne de frango, são estipulados apenas padrões para mesófilos aeróbios, *E. coli* e *Salmonella* Enteritidis e Typhimurium, sendo, portanto esses os microrganismos testados (Brasil, 2022a).

As tabelas 3, 4, 5 e 6 apresentam o número de carcaças, por semana amostrada, segundo critério de qualidade microbiológico estipulado na IN 161 de 2022 da ANVISA (Brasil, 2022a), para microrganismos mesófilos aeróbios e *E. coli*; assim como a média das contagens de mesófilos aeróbios e *E. coli*, por semana amostrada, e a respectiva classificação do lote amostrado, segundo IN 161 de 2022, considerando a quantidade de carcaças que foi classificada em cada categoria.

Tabela 3: Quantidade e classificação das carcaças sem contaminação gastrointestinal visível amostradas em cada semana segundo o critério microbiológico para microrganismo mesófilo aeróbio estipulado pela IN 161 de 2022; média da contagem de mesófilos aeróbios de cada semana amostrada e classificação de qualidade do lote segundo critério estipulado na IN 161/2022 (Brasil, 2022a)

Microrganismos mesófilos aeróbios - Sem contaminação gastrointestinal visível					
	Qualidade aceitável	Qualidade intermediária	Qualidade e inaceitável	Média das contagens*	Classificação segundo IN 161
Semana 1	0	3	2	$1,18 \times 10^6$	Insatisfatório
Semana 2	0	5	0	$4,88 \times 10^5$	Insatisfatório
Semana 3	0	5	0	$3,49 \times 10^5$	Insatisfatório
Semana 4	1	4	0	$1,32 \times 10^5$	Insatisfatório
Semana 5	0	5	0	$1,66 \times 10^5$	Insatisfatório
Semana 6	2	3	0	$1,50 \times 10^5$	Satisfatório (intermediário)

*UFC.g⁻¹

Qualidade intermediária: entre 1×10^5 e 1×10^6 UFC.g⁻¹ (Brasil, 2022a)

Qualidade inaceitável: acima 1×10^6 UFC.g⁻¹ (Brasil, 2022a)

Tabela 4: Quantidade e classificação das carcaças com contaminação gastrointestinal visível amostradas em cada semana segundo o critério microbiológico para microrganismo mesófilo aeróbio estipulado pela IN 161 de 2022; média da contagem de mesófilos aeróbios de cada semana amostrada e classificação de qualidade do lote segundo critério estipulado na IN 161/2022 (Brasil, 2022a)

Microrganismos mesófilos aeróbios - Com contaminação gastrintestinal visível					
	Qualidade			Média das contagens*	Classificação segundo IN 161
	Qualidade aceitável	Qualidade intermediária	Qualidade inaceitável		
Semana 1	0	0	5	$1,66 \times 10^7$	Insatisfatório
Semana 2	0	5	0	$4,80 \times 10^5$	Insatisfatório
Semana 3	0	2	3	$3,19 \times 10^6$	Insatisfatório
Semana 4	0	5	0	$4,70 \times 10^5$	Insatisfatório
Semana 5	0	4	1	$7,32 \times 10^5$	Insatisfatório
Semana 6	0	4	1	$1,08 \times 10^6$	Insatisfatório

*UFC.g⁻¹

Qualidade intermediária: entre 1×10^5 e 1×10^6 UFC.g⁻¹ (Brasil, 2022a)

Qualidade inaceitável: acima 1×10^6 UFC.g⁻¹ (Brasil, 2022a)

Tabela 5: Quantidade e classificação das carcaças sem contaminação gastrointestinal visível amostradas em cada semana segundo o critério microbiológico para *E. coli* estipulado pela IN 161 de 2022; média da contagem de mesófilos aeróbios de cada semana amostrada e classificação de qualidade do lote segundo critério estipulado na IN 161/2022 (Brasil, 2022a)

<i>E. coli</i> - Sem contaminação gastrintestinal visível					
	Qualidade			Média das contagens*	Classificação segundo IN 161
	Qualidade aceitável	Qualidade intermediária	Qualidade inaceitável		
Semana 1	0	0	5	$6,90 \times 10^4$	Insatisfatório
Semana 2	0	4	1	$3,70 \times 10^3$	Insatisfatório
Semana 3	3	2	0	$1,04 \times 10^3$	Insatisfatório
Semana 4	0	1	4	$1,25 \times 10^4$	Satisfatório

4					(intermediário)
Semana					
5	0	4	1	2,62 x 10 ³	Insatisfatório
Semana					
6	0	1	4	1,27 x 10 ⁴	Insatisfatório

*UFC.g⁻¹

Qualidade intermediária: entre 5 x 10² e 5 x 10³ UFC.g⁻¹ (Brasil, 2022a)

Qualidade inaceitável: acima 5 x 10³ UFC.g⁻¹ (Brasil, 2022a)

Tabela 6: Quantidade e classificação das carcaças com contaminação gastrointestinal visível amostradas em cada semana segundo o critério microbiológico para *E. coli* estipulado pela IN 161 de 2022; média da contagem de mesófilos aeróbios de cada semana amostrada e classificação de qualidade do lote segundo critério estipulado na IN 161/2022 (Brasil, 2022a)

<i>E. coli</i> - Com contaminação gastrintestinal visível					
	Qualidade aceitável	Qualidade intermediária	Qualidade inaceitável	Média das contagens	Classificação segundo IN 161
Semana					
1	0	0	5	2,22 x 10 ⁵	Insatisfatório
Semana					
2	0	2	3	2,67 x 10 ⁴	Insatisfatório
Semana					
3	0	0	5	2,06 x 10 ⁵	Insatisfatório
Semana					
4	0	0	5	9,22 x 10 ⁴	Insatisfatório
Semana					
5	0	0	5	8,24 x 10 ⁴	Insatisfatório
Semana					
6	0	0	5	8,76 x 10 ⁴	Insatisfatório

*UFC.g⁻¹

Qualidade intermediária: entre 5 x 10² e 5 x 10³ UFC.g⁻¹ (Brasil, 2022a)

Qualidade inaceitável: acima 5 x 10³ UFC.g⁻¹ (Brasil, 2022a)

A IN 161 de 2022 estabelece três níveis de qualidade biológica para os alimentos: satisfatório com qualidade aceitável, satisfatório com qualidade intermediária e insatisfatório com qualidade inaceitável. Serão considerados satisfatórios com qualidade aceitável, quando o resultado observado em todas as unidades amostrais for menor ou igual ao limite que, em um plano de três classes,

separa unidades amostrais de "Qualidade Aceitável" daquelas de "Qualidade Intermediária". Quando o resultado observado possuir unidades amostrais entre "Qualidade Aceitável" e "Qualidade Intermediária" dentro do limite permitido pela legislação, ele será considerado satisfatório com qualidade intermediária. Os produtos serão insatisfatórios com qualidade inaceitável quando o número de unidades amostrais entre "Qualidade Aceitável" e "Qualidade Intermediária" for maior do que o permitido, ou caso apresente um ou mais resultado acima daquele e estipulado como limite para "Qualidade Inaceitável".

Dessa forma, observa-se que, em todas as semanas, as carcaças amostradas apresentaram qualidade satisfatória com qualidade intermediária ou qualidade insatisfatória com qualidade inaceitável. Isso demonstra a intensa contaminação dessas carcaças tanto por microrganismos mesófilos aeróbios como por *E. coli*, podendo representar um risco ao consumidor. Porém, como tais limites são determinados para alimentos, eles não se aplicam a carcaças ainda em produção, dessa forma, há que se levar em consideração as etapas futuras de processamento que podem impactar na qualidade microbiológica dessas carcaças, como por exemplo, a manipulação durante a embalagem e também o processamento das mesmas durante a produção dos diversos cortes e produtos derivados da carne de frango. Os manipuladores, o ar, a água, os equipamentos e superfícies são possíveis causas de contaminação nessas carcaças após o resfriamento e podem piorar a qualidade microbiológica das mesmas. O resfriamento das carcaças de frango após a evisceração é comumente realizada no Brasil através da imersão em resfriadores contínuos com água hipoclorada. Diversos trabalhos relatam a eficiência desse método na redução da carga microbiana das carcaças de frango de corte (Simas *et al.*, 2013; Pissaia *et al.*, 2018; Sousa *et al.*, 2019).

Essa comparação entre os níveis de contaminação encontrados nas carcaças de frango de corte, ainda na evisceração, com os níveis microbiológicos desejados no produto final demonstra a importância dos programas de controle de riscos que devem ser realizados tanto pelas empresas produtoras de alimentos como pelos órgãos oficiais de fiscalização. Os resultados encontrados demonstram que as carcaças durante as operações possuem níveis de contaminação intermediários ou inaceitáveis conforme a legislação brasileira, mostrando a importância de se

desenvolver novos métodos e a aprimorar aqueles existentes que visem controlar os níveis de contaminação.

Os resultados de contagens microbianas em carcaças de frango de corte encontrados no presente estudo sugerem a importância da contaminação cruzada como fonte de contaminação das carcaças durante as etapas da evisceração no abate de frango de corte, tendo em vista a detecção de quantidade elevada de microrganismos também nas carcaças que não apresentavam contaminação visível. O processo de evisceração das carcaças de frango envolve etapas nas quais se realiza o corte em regiões sensíveis. Uma delas é a extração da cloaca, feita por lâminas que realizam corte na região, de forma a expor a parte final do reto dos animais. Desajustes na regulação do maquinário podem promover cortes em partes do TGI, levando a contaminação das carcaças e dos equipamentos. Outra etapa é a abertura abdominal, na qual se realiza o corte da pele até a base do peito do animal, novamente ocorrendo a chance de corte de alças intestinais durante o processo. Por último, o processo de eventração, no qual um braço mecânico adentra na cavidade celomática das carcaças, prende o esôfago e realiza a tração de todo o pacote de vísceras pode causar a ruptura de partes do TGI, também causando contaminação das carcaças e equipamentos.

Existem várias abordagens possíveis para se diminuir a ocorrência de contaminação das carcaças de frango. Uma delas é a busca pela melhoria da uniformidade dos lotes de forma a que a maioria dos frangos sejam abatidos no peso adequado de carcaça, levando a uma diminuição da contaminação das carcaças (Cibin *et al.*, 2014; Brizio *et al.*, 2016). Além disso, a diminuição das falhas tecnológicas durante o processo de evisceração pode diminuir o número de cortes e rompimentos do TGI das carcaças, causando menor contaminação das carcaças e das superfícies, o que poderá contribuir para a qualidade geral das carcaças. A presença de rupturas intestinais durante o abate afeta significativamente a quantidade de *E. coli* presente nas carcaças logo após a evisceração (Cibin *et al.*, 2014)

Outra abordagem possível é aprimorar a detecção das carcaças de frango de corte que foram contaminadas durante o processo produtivo. Cibin *et al.* (2014) estudaram a relação entre as carcaças classificadas como contaminadas pelos

veterinários oficiais e a contagens de *E. coli* e *Enterobacteriaceae* presentes nas carcaças, encontrando como resultado que, embora as carcaças classificadas como contaminadas possuíam de fato maior contagens desses microrganismos, os veterinários oficiais foram incapazes de classificar corretamente as carcaças apresentavam altas contagens microbianas por microrganismos indicadores, tendo sido estimado que a probabilidade de acerto é menor que 13%, quando a contagem bacteriana da carcaça estava entre as 30% mais contaminadas. A baixa eficiência dos veterinários oficiais em corretamente identificar aquelas carcaças contendo elevados níveis de contaminação pode ser aprimorada utilizando sistemas de visão computacional. As altas velocidades praticadas nos abatedouros frigoríficos (até 12.000 frangos / hora) é um fator limitante na capacidade de identificação das contaminações pelos veterinários oficiais (Itália, 2012). Sistemas informatizados podem ser capazes de identificar as contaminações mesmo a altas velocidades, alcançando maior eficiência do que o método tradicional realizado pela inspeção visual de cada carcaça de frango. Considerando os resultados do presente trabalho, tais sistemas podem contribuir para uma maior assertividade na detecção das carcaças com contaminação gastrointestinal, identificando aquelas que possuem contaminação visível, portanto, possuem maiores contagens de microrganismos indicadores, reduzindo a probabilidade de o produto final causar patologias nos consumidores e favorecendo a manutenção de altas velocidades de abate.

5.2. Avaliação da presença de *Salmonella* spp

A tabela a seguir apresenta os resultados das avaliações da presença de *Salmonella* spp., identificada através de MALDI-TOF, nas carcaças de frangos de corte com e sem contaminação gastrointestinal visível na superfície externa.

Tabela 7: Quantidade de carcaças de frango de corte nas quais foram identificadas uma ou mais colônias de *Salmonella* spp. por MALDI-TOF, em cada tratamento realizado

<i>Salmonella</i> spp.		
	Positivo	Negativo
Sem contaminação visível	13 (21,7%)	17 (28,3%)
Com contaminação visível	10 (16,7%)	20 (33,3%)

Total	23 (38,4%)	37 (61,6%)
--------------	-------------------	-------------------

612 colônias, no total, foram selecionadas e enviadas para identificação através de MALDI-TOF, provenientes de cada placa de Petri contendo os meios BPLS e XLD utilizados durante os procedimentos para isolamento de *Salmonella* spp.; sendo que 50 dessas amostras foram positivas para *Salmonella* spp. Dentre as 60 amostras de carcaças de frango analisadas, 37 (61,7%) apresentaram resultados negativos para a presença de *Salmonella* spp. e 23 (38,3%) estavam contaminadas por este microrganismo. Segundo o último anuário divulgado pelo MAPA em 2022 (Brasil, 2022d), das 2.953 amostra oficiais de carcaças de frango de corte para pesquisa de presença de *Salmonella* spp. coletadas de 140 diferentes estabelecimentos de abate, com objetivo de atendimento ao programa oficial de controle de *Salmonella*, houve detecção do patógeno em 13,85%. Tal diferença na frequência de carcaças positivas para o patógeno pode ser explicada pela diferença no ponto de coleta das carcaças. Enquanto que a coleta realizada para cumprimento do programa oficial é feita após o processo de resfriamento das carcaças, no presente estudo ela foi realizada logo após a evisceração, ou seja, não havia o efeito das etapas posteriores à evisceração, principalmente a lavagem das carcaças e o resfriamento das mesmas, sugerindo novamente o importante efeito das etapas posteriores à evisceração para reduzir o risco microbiológico dos produtos, conforme relatado por Cibin *et al.* (2014) e Bilgili *et al.* (2002). Importante destacar que as análises oficiais para pesquisa de *Salmonella* spp. são realizadas utilizando métodos moleculares, enquanto que, no presente trabalho, a pesquisa pelo patógeno foi realizada através do uso da espectrometria de massas (MALDI-TOF).

Não foi realizada a tipificação das salmonelas identificadas no presente estudo, não sendo possível afirmar se elas estão entre os sorotipos que devem estar ausentes nos produtos prontos para consumo de carne de frango, segundo a legislação brasileira (*S. Enteritidis* e *S. Typhimurium*). As colônias isoladas no cultivo foram confirmadas por meio de espectrometria de massas MALDI-TOF, que realiza, no caso de *Salmonella* spp. a identificação apenas a nível de gênero.

Não houve diferença estatística ($p > 0,05$) na incidência desse microrganismo entre as carcaças de frango de corte com ou sem contaminação gastrointestinal

visível na superfície externa. Tal resultado está em acordo com os achados de Jimenez *et al.* (2022) que também não identificaram diferenças na incidência de *Salmonella* spp. quando comparadas carcaças com e sem contaminação gastrointestinal. Considerando os resultados apresentados pelo presente estudo que demonstraram que as carcaças sem contaminação visível também apresentam contagens elevadas de microrganismos indicadores de higiene operacional, é de se esperar que a chance de se isolar *Salmonella* spp. seja também elevada, pois tal microrganismo faz parte da microbiota normal do TGI das aves. A intensa contaminação cruzada das carcaças durante o processo de abate, causado principalmente pelo extravasamento de conteúdo do TGI das aves nas carcaças, superfícies, maquinários e manipuladores, favorece a contaminação das carcaças pela *Salmonella*, estejam elas ou não com contaminação gastrointestinal visível.

Estudos já demonstraram que a *Salmonella* possui capacidade de persistir na pele das aves durante o processamento das carcaças de aves devido a sua particular habilidade de se aderir à pele e permanecer nas camadas mais profundas da pele (Notermans e Kampelmacher, 1975; McMeekin *et al.*, 1984; Lillard, 1986; Zhang *et al.*, 2013; Salehi *et al.*, 2016), portanto, a diferença no método de obtenção das amostras podem ter capacidades diferentes de recuperar essas bactérias firmemente aderidas, dificultando a identificação desse microrganismo, dessa forma, tanto os resultados aqui apresentados, como por outros autores, e também os resultados das amostras oficiais realizadas pelo MAPA podem estar subestimados, a depender da técnica utilizada para obtenção das amostras (enxágue, swab e etc).

5.3. **Microrganismos identificados na análise proteômica por espectrometria de massas MALDI-TOF**

A identificação proteômica dos microrganismos isolados, por espectrometria de massas MALDI-TOF é apresentada na tabela 6. Tal tabela representa a frequência da presença de cada microrganismo nas carcaças de frango de corte, tanto as que apresentavam contaminação gastrointestinal visível, como aquelas que

não apresentavam a contaminação visível, amostradas durante o experimento e o meio de cultura do qual a colônia enviada para identificação por espectrometria de massas (MALDI-TOF) foi proveniente.

Tabela 8: Frequência da presença dos microrganismos provenientes dos meios de cultura PCA e BPLS ou XLD identificados por MALDI-TOF por carcaça de frango de corte analisada

PCA	%	BPLS / XLD	%
<i>Escherichia coli</i>	95,00	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	85,00
<i>Acinetobacter baumannii</i>	21,67	<i>Citrobacter freundii</i>	81,70
<i>Staphylococcus aureus</i>	16,67	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	76,70
<i>Aeromonas veronii</i>	15,00	<i>Enterobacter kobei</i>	53,30
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	15,00	<i>Salmonella</i>	38,30
<i>Staphylococcus chromogenes</i>	15,00	<i>Enterobacter cloacae</i>	35,00
<i>Lactococcus garvieae</i>	13,33	<i>Citrobacter</i>	31,70
<i>Macrococcus caseolyticus</i>	5,00	<i>Enterobacter</i>	28,30
<i>Acinetobacter junii</i>	3,33	<i>Escherichia coli</i>	28,30
<i>Comamonas aquatica</i>	3,33	<i>Proteus mirabilis</i>	25,00
<i>Acinetobacter johnsonii</i>	1,67	<i>Enterobacter absuriae</i>	18,30
<i>Enterococcus faecium</i>	1,67	<i>Citrobacter amalonaticus</i>	8,30
<i>Proteus mirabilis</i>	1,67	<i>Shewanella algae</i>	8,30
<i>Rothia endophytica</i>	1,67	<i>Klebsiella</i>	6,70
<i>Streptococcus uberis</i>	1,67	<i>Acinetobacter baumannii</i>	5,00
		<i>Citrobacter braakii</i>	5,00
		<i>Citrobacter koseri</i>	5,00
		<i>Escherichia</i>	5,00
		<i>Pseudomonas</i>	5,00
		<i>Shewanella putrefaciens</i>	5,00
		<i>Proteus</i>	3,30
		<i>Comamonas kerstersii</i>	1,70
		<i>Cronobacter sakazakii</i>	1,70
		<i>Cronobacter</i>	1,70
		<i>Providencia rettgeri</i>	1,70
		<i>Shewanella</i>	1,70

Foram enviados para identificação por MALDI-TOF 1220 colônias selecionadas entre os diversos meios de cultura, provenientes de todas as carcaças amostradas. Os resultados apresentados abrangem aqueles microrganismos que foram identificados a nível de espécie, de acordo com as recomendações do fabricante (escore acima de 2.000 pontos), assim como colônias que obtiveram scores intermediários (entre 1.700 e 2.000) sendo identificadas apenas a nível de gênero. A identificação da *Salmonella* spp. é realizada apenas a nível de gênero pelo método utilizado.

Entre as bactérias mais frequentes, apenas a *Pseudomonas aeruginosa* não faz parte da família *Enterobacteriaceae*. *E. coli* (95%), *K. pneumoniae* (85%) e *C. freundii* (81,7%), são as três mais frequentes. Para a análise desses resultados, deve-se levar em consideração os meios utilizados para cultivo. Como foram usados três meios de culturas diferentes, sendo dois deles meios seletivos para alguns gêneros de *Enterobacteriaceae* (XLD e BPLS) e um meio utilizado para contagem de aeróbios, era esperado que essas fizessem parte da maioria dos isolamentos realizados. Além disso, é importante também destacar que não houve uma avaliação quantitativa, não sendo possível afirmar quais desses microrganismos estão presentes em maior ou menor número. Tal resultado sugere a importância que microrganismos presentes na microbiota do trato gastrintestinal das aves possuem na contaminação das carcaças durante as operações de abate, independente se estão ou não contaminadas visivelmente.

Jimenez *et al.* (2003) encontraram resultados semelhantes ao do presente estudo. Nesse estudo, foi realizada a identificação de microrganismos provenientes de amostras coletadas de carcaças de frango, após cultivo em ágar bile vermelho violeta, coletando 6 colônias de cada placa. *E. coli* foi a bactéria mais frequente, seguida do *E. cloacae* e *K. pneumoniae*.

Foi verificada a presença de vários microrganismos identificados como bactérias multirresistentes causadoras de patologias em humanos, como *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter kobei*, entre outras. Alguns dos microrganismos isolados são relatados

como envolvidos em processos de transferência de resistência a outros patógenos mais conhecidos, como *Acinetobacter baumannii* e *Acinetobacter veronii* e bactérias do gênero *Enterococcus*. A produção de aves de corte no Brasil utiliza antibióticos em níveis mínimos misturado à ração das aves, sendo considerados como “promotores de crescimento”, porém, é necessário o desenvolvimento de pesquisas capazes de avaliar se tal prática está favorecendo a ocorrência de resistência antimicrobiana na microbiota das aves de corte e se essa resistência está sendo transmitida a outras bactérias, inclusive bactérias patogênicas aos humanos envolvidas em infecções multirresistentes.

O trabalho também identificou alguns microrganismos que não têm relatos de presença em carne de frango, porém, são conhecidos patógenos de animais aquáticos, além de estarem bem distribuídos em meios aquáticos, sugerindo uma provável contaminação das carcaças pela água utilizada nos processos produtivos. Dentre eles podemos citar o *Lactococcus garviae*, que é um conhecido patógeno de peixes, *Comamonas aquatica*, *Comamonas kerstersii* e *Acinetobacter junii*. A água utilizada nos processos produtivos do abatedouro onde foram coletadas as carcaças é proveniente de poços artesianos, porém, além de ser tratada com cloro, são feitas análises físico-químicas e microbiológicas periódicas de forma a cumprir o atendimento a limites legais estabelecidos pela legislação brasileira, porém, as análises microbiológicas se resumem a pesquisas de *E. coli* e coliformes totais, não se sabendo portanto se os microrganismos aquáticos identificados no presente estudo estavam ou não presentes na água.

A tabela 7 abaixo apresenta os dados consolidados da identificação de cada microrganismo, por tratamento realizado:

Tabela 9: Quantidade de carcaças de frango de corte que apresentaram cada microrganismo, por tratamento realizado.

	Quantidade de carcaças	Quantidade de carcaças
Microrganismo isolado	Sem contaminação visível	Com contaminação visível
<i>Acinetobacter baumannii</i>	13	3
<i>Acinetobacter johnsonii</i>	1	0

<i>Acinetobacter junii</i>	1	1
<i>Aeromonas veronii</i>	6	3
<i>Citrobacter amalonaticus</i>	3	2
<i>Citrobacter braakii</i>	1	2
<i>Citrobacter freundii</i>	25	24
<i>Citrobacter koseri</i>	0	3
<i>Comamonas aquatica</i>	2	0
<i>Comamonas kerstersii</i>	0	1
<i>Cronobacter sakazakii</i>	0	1
<i>Enterobacter absuriae</i>	8	3
<i>Enterobacter cloacae</i>	11	10
<i>Enterobacter kobei</i>	18	14
<i>Enterococcus faecium</i>	0	1
<i>Escherichia coli</i>	29	30
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	26	28
<i>Lactococcus garvieae</i>	7	1
<i>Macrococcus caseolyticus</i>	3	0
<i>Proteus mirabilis</i>	8	8
<i>Providencia rettgeri</i>	0	1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	20	26
<i>Rothia endophytica</i>	0	1
<i>Shewanella algae</i>	2	3
<i>Shewanella putrefaciens</i>	2	1
<i>Staphylococcus aureus</i>	7	3
<i>Staphylococcus chromogenes</i>	8	1
<i>Streptococcus uberis</i>	0	1

Total de carcaças avaliadas: 60.

Foi realizado o teste qui-quadrado de Pearson para todas as bactérias identificadas, de forma a se verificar a hipótese de que as carcaças de frango de corte com contaminação gastrintestinal visível na superfície externa apresentam maior chance de estarem contaminadas pelos microrganismos identificados no presente estudo. Entre todas as bactérias identificadas, apenas *Acinetobacter*

baumannii, *Lactococcus garvieae* e *Staphylococcus chromogenes* apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$), ou seja, possuíram chances diferentes de estarem presentes nos dois grupos avaliados (carcaças com e sem contaminação gastrointestinal visível). No caso desses três microrganismos, eles tiveram maior prevalência ($p < 0,05$) nas carcaças sem contaminação gastrointestinal visível. Não foi possível identificar uma possível causa para esse dado observado.

Importante notar que, apesar de várias das bactérias identificadas serem reconhecidamente causadoras de doenças em humanos, como o *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae* e *Pseudomonas aeruginosa*, não foram encontradas pesquisas que classifica o risco que esses microrganismos representam ao consumidor final de produtos a base de carne de frango.

De forma geral, a presença de contaminação visível não alterou o perfil dos microrganismos presentes, exceto nos casos já citados, ou seja, as carcaças de frango de corte com e sem contaminação gastrointestinal visível apresentam os mesmos perigos microbiológicos.

No presente estudo, foram isolados 28 diferentes microrganismos provenientes dos meios PCA, BPLS e XLD. Tais meios permitem o crescimento de microrganismos mesófilos aeróbios (no caso do meio PCA), e *Enterobacteriaceae* (no caso dos meios BPLS e XLD); portanto, podem existir muitos outros microrganismos que fazem parte da microbiota normal do frango de corte e que podem estar presente nas carcaças de frango, conseqüentemente nos produtos de carne de frango, um exemplo claro dessa possibilidade é a não identificação de *Campylobacter* spp. que sabidamente faz parte da microbiota desses animais, é um grande causador de DTA, mas não foi identificado pelo estudo.

6. CONCLUSÃO

Carcaças contaminadas com conteúdo gastrointestinal visível em sua superfície externa possuíam maiores contagens de microrganismos mesófilos aeróbios e *E. coli* demonstrando um maior risco de transmissão de DTA para o consumidor.

Não foram observadas diferenças entre as carcaças que apresentavam ou não contaminação gastrointestinal visível para a prevalência de *Salmonella* spp.; porém, ainda não foi realizado o teste sorológico de identificação das bactérias encontradas.

O perfil dos microrganismos mesófilos aeróbios identificados nas carcaças com ou sem contaminação gastrointestinal visível foi semelhante.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABD-ELGHANY, S. M.; SALLAM, K. I.; ABD-ELKHALEK, A.; TAMURA, T. Occurrence, genetic characterization and antimicrobial resistance of *Salmonella* isolated from chicken meat and giblets. *Epidemiology and Infection*, v. 143, n. 5, p. 997–1003, 2014.

ADEYANJU, G. T.; ISHOLA, O. *Salmonella* and *Escherichia coli* contamination of poultry meat from a processing plant and retail markets in Ibadan, Oyo State, Nigeria. *SpringerPlus*, v. 3, n. 1, 2014.

ALLOCATI, N.; MASULLI, M.; ALEXEYEV, M. F.; DI ILIO, C. *Escherichia coli* in Europe: An Overview. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, v. 10, n. 12, p. 6235–6254, 2013.

ÁLVAREZ-ASTORGA, M.; CAPITA, R.; ALONSO-CALLEJA, C.; MORENO, B.; GARCIA-FERANDEZ, M. C. Microbiological quality of retail chicken by-products in Spain. *Meat Science*, v. 62, n. 1, p. 45–50, 2002.

ANTUNES, P.; MOURÃO, J.; CAMPOS, J.; PEIXE, J. Salmonellosis: the role of poultry meat. *Clinical Microbiology and Infection*, v. 22, n. 2, p. 110–121, 2016.

ARNOLD, J. W.; YATES, I. E. Interventions for control of *Salmonella*: Clearance of microbial growth from rubber picker fingers. *Poultry Science*, v. 88, n. 6, p. 1292–1298, 2009.

Associação Brasileira de Proteína Animal - ABPA. Relatório Anual 2024. Disponível em https://abpa-br.org/wp-content/uploads/2024/04/ABPA-Relatorio-Anual-_2024_capa_frango.pdf. Acesso em 01/05/2024.

Association of Official Agricultural Chemists (AOAC). AOAC 998.08-2002, Confirmed *Escherichia coli* counts in poultry. 2002.

BARBUT, S. Past and future of poultry meat harvesting technologies. *World's Poultry Science Journal*, v. 66, n. 3, p. 399–410, 2010.

BARLOW, S. M.; BOOBIS, A. R.; BRIDGES, J.; COCKBURN, A.; DEKANT, W.; HEPBURN, P.; HOUBEN, G. F.; KONIG, J.; NAUTA, M. J.; SCHUERMANS, J.; BANATI, D.; The role of hazard- and risk-based approaches in ensuring food safety. *Trends in Food Science & Technology*, v. 46, n. 2, p. 176–188, 2015.

BILGILI, S. F.; WALDROUP, A. L.; ZELENKA, D.; MARION, J. E. Visible Ingesta on Prechill Carcasses Does Not Affect the Microbiological Quality of Broiler Carcasses after Immersion Chilling. *Journal of Applied Poultry Research*, v. 11, n. 3, p. 233–238, 2002.

BLAGOJEVIC, B.; NESBAKKEN, T.; ALVSEIKE, O.; VAGSHOLM, I.; ANTIC, D.; JOHLER, S.; HOUF, K.; MEEMKEN, D.; NASTASIJEVIC, I.; PINTO, M. V.; ANTUNOVIC, B.; GEORIEV, M.; ALBAN, L. Drivers, opportunities, and challenges of the European risk-based meat safety assurance system. *Food Control*, v. 124, p. 107870, 2021.

Brasil. Presidência da República. Lei nº 1283, de 18 de dezembro de 1950. Dispõe sobre a inspeção industrial e sanitária dos produtos de origem animal. 1950.

Brasil. Presidência da República. Decreto nº 30.691, de 29 de março de 1952. Aprova o novo Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. 1952.

Brasil. Conselho Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial - CONMETRO. Resolução 01 de 1980. Institui o Comitê do Codex Alimentarius do Brasil. 1980.

Brasil. Conselho Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial - CONMETRO. Resolução 07 de 1988. Alterar os itens 2, 3, 4 e 5 da Resolução 01/80. 1988.

Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 210, de 10 de novembro de 1998. Aprovar o Regulamento Técnico da Inspeção Tecnológica e Higiênico-Sanitária de Carne de Aves. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 26 nov. 1998.

Brasil. Associação Brasileira de Normas Técnicas. Microbiologia da cadeia produtiva de alimentos - Método horizontal para enumeração de microrganismos. Parte 1: Contagem de colônias a 30°C pela técnica *pour plate*. 2015

Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 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 abate de frangos, galinhas, perus de corte e reprodução, registrados no Serviço de Inspeção Federal (SIF), com objetivo de reduzir a prevalência desse agente e estabelecer um nível adequado de proteção ao consumidor. Brasília, 2016.

Brasil. Presidência da República. Decreto nº 9013, de 29 de março de 2017. Regulamenta a Lei nº 1.283, de 18 de dezembro de 1950, e a Lei nº 7.889, de 23 de novembro de 1989, que

dispõem sobre a inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 30 de março. 2017.

Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 74, de 07 de maio de 2019. Altera a Portaria nº 210, de 10 de novembro de 1998. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 26 nov. 1998. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 07 maio. 2019.

Brasil. Presidência da República. Decreto nº 10.468, de 18 de agosto de 2020. Altera o Decreto nº 9.013, de 29 de março de 2017, que regulamenta a Lei nº 1.283, de 18 de dezembro de 1950, e a Lei nº 7.889, de 23 de novembro de 1989, que dispõem sobre o regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal. 2020.

Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Instrução Normativa nº 161, de 1º de julho de 2022. Estabelece os padrões microbiológicos dos alimentos. Diário Oficial da União, 06 de julho. 2022a.

Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução - RDC nº 724, de 1º de julho de 2022. Dispõe sobre os padrões microbiológicos dos alimentos e sua aplicação. Diário Oficial da União, 06 de julho. 2022b.

Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 736, de 29 de dezembro de 2022. Aprova os Procedimentos para Adesão dos Abatedouros Frigoríficos registrados no Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal da Secretaria de Defesa Agropecuária do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento ao Sistema de Inspeção com Base em Risco aplicável aos frangos de corte. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 26 nov. 2022c.

Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Anuário dos Programas de Controle de Alimentos de Origem Animal do DIPOA. Volume 8, 2022. 2022d.

Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Aves: Manual de procedimentos de inspeção e fiscalização de aves e derivados em estabelecimentos sob inspeção federal (SIF). 2021. Disponível em <https://wikisda.agricultura.gov.br/pt-br/Inspeção-animal/manual-inspeção-aves>. Acesso em 03/08/2023.

Brasil. Ministério da Saúde. Surtos de Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar - Informe 2023. Disponível em <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/d/dtha/publicacoes/surtos-de-doencas-de-transmissao-hidrica-e-alimentar-no-brasil-informe-2023>. Acesso em 10/10/2023.

BRIZIO, A. P. D. R.; MARIN, G.; SCHITTLER, L.; PRENTICE, C. Visible contamination in broiler carcasses and its relation to the stages of evisceration in poultry slaughter. International Food Research Journal 22(1): 59-63 (2015). 2016.

CARVALHO, A. C. F. B.; CORTEZ, A. L. L.; SALOTTI, B. M.; BURGER, K. P.; VIDAL-MARTINS, A. M. C. Presença de Microrganismos Mesófilos, Psicrófilos e Coliformes em Diferentes Amostras de Produtos Avícolas. Arquivos do Instituto Biológico, v. 72, n. 3, p. 303-307, 2005.

CIBIN, V.; MANCIN, M.; PEDERSEN, K.; BARRUCI, F.; BELLUCO, S.; ROCCATO, A.; COCOLA, F.; FERRARINI, S.; SANDRI, A.; LAU BAGGESEN, D.; RICCI, A. Usefulness of Escherichia coli and Enterobacteriaceae as Process Hygiene Criteria in poultry: experimental study | EFSA. Disponível em: <<https://www.efsa.europa.eu/en/supporting/pub/en-635>>. Acesso em: 05/08/2023. 2014.

CINTRA, A. P. R.; ANDRADE, M. C. G.; LAZARINI, M. M.; ASSIS, D. C. S.; SILVA, G. R.; MENEZES, L. D. M.; ORNELLAS, C. B. D.; FIGUEIREDO, T. C.; CANÇADO, S. V. Influence of cutting room temperature on the microbiological quality of chicken breast meat. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 68, p. 814–820, 2016.

CHEN, H.-M.; WANG, Y.; SU, L-H.; CHIU, C-H. Nontyphoid Salmonella Infection: Microbiology, Clinical Features, and Antimicrobial Therapy. *Pediatrics & Neonatology*, v. 54, n. 3, p. 147–152, 2013.

CHEN, Y.; WANG, S. C. Poultry carcass visceral contour recognition method using image processing. *Journal of Applied Poultry Research*, v. 27, n. 3, p. 316–324, 2018.

CHEN, Y.; AI, H.; LI, S. Analysis of correlation between carcass and viscera for chicken eviscerating based on machine vision technology. *Journal of Food Process Engineering*, v. 44, n. 1, 2020.

CHEN, Y.; AI, H.; LI, S. Machine vision on the positioning accuracy evaluation of poultry viscera in the automatic evisceration robot system. *International Journal of Food Properties*, v. 24, n. 1, p. 933–943, 2021.

CHO, B.; KIM, M. S.; CHAO, K.; LAWRENCE, K.; PARK, B.; KIM, K. Detection of Fecal Residue on Poultry Carcasses by Laser-Induced Fluorescence Imaging. *Journal of Food Science*, v. 74, n. 3, p. E154–E159, 2009.

CRUMP, J. A.; SJOLUND-KARLSSON, M.; GORDON, M. A.; PARRY, C. M. Epidemiology, Clinical Presentation, Laboratory Diagnosis, Antimicrobial Resistance, and Antimicrobial Management of Invasive Salmonella Infections. *Clinical Microbiology Reviews*, v. 28, n. 4, p. 901–937, 2015.

DEMIROK, E.; VELUZ, G.; STUYVENBERG, W. V.; CASTANEDA, M. P.; BYRD, A.; ALVARADO, C. Z. Quality and safety of broiler meat in various chilling systems. *Poultry Science*, v. 92, n. 4, p. 1117–1126, 2013.

DONADO-GODOY, P.; BYRNE, B. A.; LEON, M.; CASTELLANOS, R.; VANEGAS, C.; CORAL, A.; AREVALO, A.; CLAVIJO, V.; VARGAS, M.; ZUNIGA, J. J. R.; TAFUR, M.; PEREZ-GUTIERREZ, E.; SMITH, W. A. Prevalence, Resistance Patterns, and Risk Factors for Antimicrobial Resistance in Bacteria from Retail Chicken Meat in Colombia. *Journal of Food Protection*, v. 78, n. 4, p. 751–759, 2015.

DONGARE, A. D.; KHARDE, R. R.; KACHARE, A. D. Introduction to Artificial Neural Network. *International Journal of Engineering and Innovative Technology (IJEIT) Volume 2, Issue 1, July 2012*. 2012

EMANOWICZ, M.; MEADE, J.; BOLTON, D.; GOLDEN, O.; GUTIERREZ, M.; BYRNE, W.; EGAN, J.; LYNCH, H.; O'CONNOR, L.; COFFEY, A.; LUCEY, B.; WHYTE, P. The impact of key processing stages and flock variables on the prevalence and levels of *Campylobacter* on broiler carcasses. *Food Microbiology*, v. 95, p. 103688, 2021.

Estados Unidos da América. United States Department of Agriculture. Quantitative Analysis of Bacteria in Foods as Sanitary Indicators. MLG 3.02. 2015.

EYI, A.; ARSLAN, S. Prevalence of *Escherichia coli* in retail poultry meat, ground beef and beef. *Medycyna Weterynaryjna*, v. 68, n. 04, 2012.

França. Conselho da União Europeia. Regulamento (UE) 2017/625 de 15 de março de 2017. legislação em matéria de géneros alimentícios e alimentos para animais e das regras sobre saúde e bem-estar animal, fitossanidade e produtos fitofarmacêuticos, que altera os Regulamentos (CE) n. o 999/2001, (CE) n. o 396/2005, (CE) n. o 1069/2009, (CE) n. o 1107/2009, (UE) n. o 1151/2012, (UE) n. o 652/2014, (UE) 2016/429 e (UE) 2016/2031 do Parlamento Europeu e do Conselho, os Regulamentos (CE) n. o 1/2005 e (CE) n. o 1099/2009 do Conselho, e as Diretivas 98/58/CE, 1999/74/CE, 2007/43/CE, 2008/119/CE e 2008/120/CE do Conselho, e que revoga os Regulamentos (CE) n. o 854/2004 e (CE) n. o 882/2004 do Parlamento Europeu e do Conselho, as Diretivas 89/608/CEE, 89/662/CEE, 90/425/CEE, 91/496/CEE, 96/23/CE, 96/93/CE e 97/78/CE do Conselho e a Decisão 92/438/CEE do Conselho (Regulamento sobre os controlos oficiais). 2017

França. Comissão Europeia. Regulamento de Execução (UE) 2019/627 de 15 de março de 2019. Estabelece disposições práticas uniformes para a realização dos controlos oficiais de produtos de origem animal destinados ao consumo humano, em conformidade com o Regulamento (UE) 2017/625 do Parlamento Europeu e do Conselho, e que altera o Regulamento (CE) n.o 2074/2005 da Comissão no que se refere aos controlos oficiais. 2019

FIGUEIREDO, A. V. DE A.; MIRANDA, M. S. Análise de Risco aplicada aos alimentos no Brasil: perspectivas e desafios. *Ciência & Saúde Coletiva*, v. 16, n. 4, p. 2251–2262, 2011.

Forsythe S.J. *Microbiologia da segurança dos alimentos*. 2 ed. Ed. Artmed, 2013.

França. Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico. *Safety Evaluation of Foods Derived by Modern Biotechnology - Concepts and Principles*. 1993.

Franco, B. D. G. M.; Landgraf, M. *Microrganismos patogênicos de importância em alimentos. Microbiologia dos Alimentos*. Cap. 4. São Paulo: Editora Atheneu. 2008.

GONÇALVES-TENÓRIO, A.; SILVA, B. N.; RODRIGUES, V.; CADAVEZ, V.; GONZALEZ-BARRON, U. Prevalence of Pathogens in Poultry Meat: A Meta-Analysis of European Published Surveys. *Foods*, v. 7, n. 5, p. 69, 2018.

GIOMBELLI, A.; GLORIA, M. B. A. Prevalence of Salmonella and Campylobacter on Broiler Chickens from Farm to Slaughter and Efficiency of Methods To Remove Visible Fecal Contamination. *Journal of Food Protection*, v. 77, n. 11, p. 1851–1859, 2014.

HÖLL, L.; BEHR, J.; VOGEL, R. F. Identification and growth dynamics of meat spoilage microorganisms in modified atmosphere packaged poultry meat by MALDI-TOF MS. *Food Microbiology*, v. 60, p. 84–91, 2016.

Itália. Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura. *General Principles of Food Hygiene - CXC 1-1969*. 1969.

Itália. Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura. *Principles And Guidelines For The Establishment And Application Of Microbiological Criteria Related To Foods. CAC/GL 21 - 1997*. 1997

Itália. European Food Safety Authority. *Scientific Opinion on the public health hazards to be covered by inspection of meat (poultry)*. 2012.

Itália. European Food Safety Authority. *The European Union One Health 2021 Zoonoses Report*. 2022.

Jay, J. M.; Loessner, M. J.; Golden, D. A. *Modern Food Microbiology*. New York: Springer, 2005.

JIMENEZ, S. M.; SALSI, M. S.; TIBURZI, M. C.; PIROVANI, M. E. A comparison between broiler chicken carcasses with and without visible faecal contamination during the slaughtering process on hazard identification of *Salmonella* spp. *Journal of Applied Microbiology*, v. 93, n. 4, p. 593–598, 2002.

JIMÉNEZ S. M.; TIBURZI, M. C.; SALSI, M. S.; PIROVANI, M. E.; MONGUILEVSKY, M. A. The role of visible faecal material as a vehicle for generic *Escherichia coli*, coliform, and other enterobacteria contaminating poultry carcasses during slaughtering. v. 95, n. 3, p. 451–456, 2003.

KLAHARN, K. et al. Bacterial contamination of chicken meat in slaughterhouses and the associated risk factors: A nationwide study in Thailand. *PLOS ONE*, v. 17, n. 6, p. e0269416, 2022.

KRIZHEVSKY, A.; SUTSKEVER, I.; HINTON, G. E. ImageNet classification with deep convolutional neural networks. *Communications of the ACM*, v. 60, n. 6, p. 84–90, 2012.

LECUN, Y.; HAFFNER, P.; BENGIO, Y. Gradient-based learning applied to document recognition. *Proceedings of the IEEE*, v. 86, n. 11, p. 2278–2324, 1998.

LEE, G. Y.; JANG, H. I.; HWANG, I. G.; RHEE, M. S. Prevalence and classification of pathogenic *Escherichia coli* isolated from fresh beef, poultry, and pork in Korea. *International Journal of Food Microbiology*, v. 134, n. 3, p. 196–200, 2009.

LEE, H.; YOON, Y. Etiological Agents Implicated in Foodborne Illness World Wide. *Food Science of Animal Resources*, v. 41, n. 1, p. 1–7, 2021.

LIBERA, K.; LIPMAN, L.; BERENDS, B. R. Small Contaminations on Broiler Carcasses Are More a Quality Matter than a Food Safety Issue. *Foods*, v. 12, n. 3, p. 522, 2023.

LILLARD, H. S. Role of Fimbriae and Flagella in the Attachment of *Salmonella typhimurium* to Poultry Skin. *Journal of Food Science*, 51(1), 54–56.
doi:10.1111/j.1365-2621.1986.tb10834.x. 1986.

LINE, J. E.; OAKLEY, B. B.; STERN, N. J. Comparison of cumulative drip sampling with whole carcass rinses for estimation of *Campylobacter* species and quality indicator organisms associated with processed broiler chickens. *Poultry Science*, v. 92, n. 1, p. 218–224, 2013.

MARMION, M.; FERONE, M. T.; WHYTE, P.; SCANNEL, A. G. M. The changing microbiome of poultry meat; from farm to fridge. *Food Microbiology*, v. 99, p. 103823, 2021.

McMEEKIN, T. A., THOMAS, C. J., PENNINGTON, P. I. CONTAMINATION AND DECONTAMINATION OF POULTRY CARCASS NECK TISSUE. *Journal of Food Safety*, 6(2), 79–88. doi:10.1111/j.1745-4565.1984.tb00605.x. 1984.

MEAD, G. Microbiological quality of poultry meat: a review. *Revista Brasileira de Ciência Avícola*, v. 6, n. 3, p. 135–142, 2004.

MEDEIROS, M. A. N.; OLIVEIRA, D. C. N.; RODRIGUES, D. P.; FREITAS, D. R. C.. Prevalence and antimicrobial resistance of *Salmonella* in chicken carcasses at retail in 15 Brazilian cities. *Revista Panamericana de Salud Pública*, v. 30, p. 555–560, 2011.

MENEZES, L.D.M. ; LIMA, A.L. ; PENA, E.C. ; SILVA, G. R. ; KLEIN, R.W.T. ; SILVA, C. A. ; ASSIS, D. C. S. ; FIGUEIREDO, T. C. ; CANÇADO, S. V. . Caracterização microbiológica de carcaças de frangos de corte produzidas no estado de Minas Gerais. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* (online), v. 70, p. 623-627, 2018.

NOTERMANS, S., KAMPELMACHER, E. H. Heat destruction of some bacterial strains attached to broiler skin. *British Poultry Science*, 16(4), 351–361. doi:10.1080/00071667508416199. 1974.

OLIVEIRA, A.V.B.; SILVA, R.A.; ARAÚJO, A.S. et al. Padrões microbiológicos da carne de frango de corte - referencial teórico. *Rev. Verde*, v.6, p.1-16, 2011.

OLUDAIRO, O. O., KWAGA, J. K. P., KABIR, J., ABDU, P. A., GITANJALI, A., PERRETS, A., CIBIN, V., LETTINI, A. A.; AIYEDUN, J. O. A Review on Salmonella Characteristics, Taxonomy, Nomenclature with Special Reference to Non-Typhoidal and Typhoidal Salmonellosis. *Zagazig Veterinary Journal*, Volume 50, Number 2. p. 161-176. 2022.

PARK, B.; LAWRENCE, K. C.; WINDHAM, W. R.; SMITH, D. P. Multispectral Imaging System for Fecal and Ingesta Detection on Poultry Carcasses. *Journal of Food Process Engineering*, v. 27, n. 5, p. 311–327, 2004.

PEREIRA, M. L. Frigoríficos testam procedimentos de modernização do abate de frangos. EMBRAPA. Disponível em <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/67686708/frigorificos-testam-procedimento-de-modernizacao-do-abate-de-frangos>. Acesso em 28/07/2023. 2022.

PISSAIA, M. A., et al. Avaliação microbiológica de carcaças de aves nas etapas de abate para estimar a eficiência higiênico-sanitária do processo. Disponível em <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1104012/avaliacao-microbiologica-de-carcacas-de-aves-nas-etapas-de-abate-para-estimar-a-eficiencia-higienico-sanitaria-do-processo>. Acesso em 17/10/2023. 2018

RIBEIRO, A. R.; KELLERMAN, A.; DOS SANTOS, L. R.; BESSA, M. C.; NASCIMENTO, V. P. Salmonella spp. in raw broiler parts: occurrence, antimicrobial resistance profile and phage typing of the Salmonella Enteritidis isolates. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 38, n. 2, p. 296–299, 2007.

RITCHIE, H.; SPOONER, F.; ROSER, M. Causes of death. Disponível em <https://ourworldindata.org/causes-of-death>. Acesso em 03/08/2023. 2019

ROUGER, A.; TRESSE, O.; ZAGOREC, M. Bacterial Contaminants of Poultry Meat: Sources, Species, and Dynamics. *Microorganisms*, v. 5, n. 3, p. 50, 2017.

RUSSELL, S.; WALKER, J. The effect of evisceration on visible contamination and the microbiological profile of fresh broiler chicken carcasses using the Nu-Tech Evisceration System or the conventional Streamlined Inspection System. *Poultry Science*, v. 76, n. 5, p. 780–784, 1997.

RUSSELL, S. The effect of airsacculitis on bird weights, uniformity, fecal contamination, processing errors, and populations of *Campylobacter* spp. and *Escherichia coli*. *Poultry Science*, v. 82, n. 8, p. 1326–1331, 2003.

SALEHI, S., HOWE, K., BROOKS, J., LAWRENCE, M. L., BAILEY, R. H., KARSİ, A. Identification of *Salmonella enterica* serovar Kentucky genes involved in attachment to chicken skin. *BMC Microbiology*, 16(1). doi:10.1186/s12866-016-0781-9. 2016.

SANDBERG, M.; GHIDINI, S.; ALBAN, L.; DONDONA, A. C.; BLAGOJEVIC, B.; BOUWKNEGT, M., LIPMAN, L.; DAM, J. S.; NASTASIJEVIC, I.; ANTIC, D. Applications of computer vision systems for meat safety assurance in abattoirs: A systematic review. *Food Control*, v. 150, p. 109768, 2023.

SELIWIORSTOW, T.; BARE, J.; BERKVEN, D.; VAN DAMME, I.; UYTENDAELE, M.; DE ZUTTER, L. Identification of risk factors for *Campylobacter* contamination levels on broiler carcasses during the slaughter process. *International Journal of Food Microbiology*, v. 226, p. 26–32, 2016.

STEFANI, L. M.; BACKES, R. G.; FARIA, G. A.; BIFFI, C. P.; ALMEIDA, J. M.; DA SILVA, H. K.; DAS NEVES, G. B.; LANGARO, A. Trimming and washing poultry carcass to reduce microbial contamination: A comparative study. *Poultry Science*, v. 93, n. 12, p. 3119–3122, 2014.

SIMAS, V. S. et al. "Pré-resfriamento na redução de coliformes em carcaças de frango de corte." *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 43, n. 9, p. 1618-1622, set, 2013.

SINGHAL, N.; KUMAR, M.; KANAUJIA, P. K.; VIRDI, J. S. MALDI-TOF mass spectrometry: an emerging technology for microbial identification and diagnosis. *Frontiers in Microbiology*, v. 6, n. 791, 2015.

SOUSA, M. L. dos R.; MACHADO, D. H. G. Avaliação da eficiência dos tanques chiller no controle do crescimento microbiano em carcaças de frango de corte em abatedouro no município de Patos de Minas – MG. *Animal em Foco*, vol. 1, n. 1, jul./dez. 2019.

Suíça. World Health Organization. Who Estimates Of The Global Burden Of Foodborne Diseases - Foodborne Disease Burden Epidemiology Reference Group 2007-2015. 2015.

THORSTEINSDOTTIR, T. R.; HARALDSSON, G.; FRIDIKSDOTTIR, V.; KRISTINSSON, K. G.; GUNNARSSON, E. Prevalence and Genetic Relatedness of Antimicrobial Resistant *Escherichia coli* Isolated From Animals, Foods and Humans in Iceland. *Zoonoses and Public Health*, v. 57, n. 3, p. 189–196, 2010.

VELUZ, G. A.; PITCHIAH, S.; ALVARADO, C. Z. Attachment of *Salmonella* serovars and *Listeria monocytogenes* to stainless steel and plastic conveyor belts. *Poultry Science*, v. 91, n. 8, p. 2004–2010, 2012.

VIHAVAINEN, E.; LUNDSTROM, H. S.; SUSILUOTO, T.; KOORT, J.; PAULIN, L.; AUVINEM, P.; BJORKROTH, K. J. Role of Broiler Carcasses and Processing Plant Air in Contamination of Modified-Atmosphere-Packaged Broiler Products with Psychrotrophic Lactic Acid Bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 73, n. 4, p. 1136–1145, 2007.

VON RUCKERT, D. A. S.; PINTO, P. S. A.; SANTOS, B. M.; MOREIRA, M. A. S. RODRIGUES, A. C. A.. Pontos críticos de controle de *Salmonella* spp. no abate de frangos. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* vol.61 no.2 Belo Horizonte Apr. 2009.

WANG, S. C. *Interdisciplinary Computing In Java Programming Language*. Springer Science+Business Media, LLC. 2003.

XIONG, Z.; SUN, D.; PU, H.; GAO, W.; DAI, Q. Applications of emerging imaging techniques for meat quality and safety detection and evaluation: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v. 57, n. 4, p. 755–768, 2017.

YANG, B.; XI, M.; WANG, X.; CUI, S.; YUE, T.; HAO, H.; WANG, Y.; CUI, Y.; ALALI, W. Q.; MENG, J.; WALLS, I.; LO FO WONG, D. M.; DOYLE, P. Prevalence of Salmonella on Raw Poultry at Retail Markets in China. *Journal of Food Protection*, v. 74, n. 10, p. 1724–1728, 2011.

ZHANG L., SINGH, P., LEE, H. C., KANG, I. Effect of hot water spray on broiler carcasses for reduction of loosely attached, intermediately attached, and tightly attached pathogenic (*Salmonella* and *Campylobacter*) and mesophilic aerobic bacteria. *Poultry Science*, 92(3), 804–810. doi:10.3382/ps.2012-02504. 2013.