



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Araçatuba

ANTONIO CARLOS DE QUEIROZ

Ocorrência da *Salmonella* spp. na cadeia de frango de corte

**ARAÇATUBA
2020**

ANTONIO CARLOS DE QUEIROZ

Ocorrência da *Salmonella* spp. na cadeia de frango de corte

Dissertação de Mestrado apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba da Universidade Estadual Paulista “Júlio Mesquita Filho” – UNESP, junto ao curso de Pós-graduação em Ciência Animal, área de Medicina Veterinária Preventiva, como parte dos requisitos para a obtenção do título de mestre.

Orientadora: Profa. Dra. Cáris Maroni Nunes

ARAÇATUBA

2020

Q3o

Queiroz, Antonio Carlos de

Ocorrência da Salmonella spp. na cadeia de frango de corte /
Antonio Carlos de Queiroz. -- Araçatuba, 2020

46 p. : il., tabs., mapas

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Medicina Veterinária, Araçatuba

Orientadora: Cáriss Maroni Nunes

1. Salmonelose. 2. Frango de corte. 3. Doenças Transmitidas por
alimentos. 4. Análise de alimentos. 5. Abatedouro. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de
Medicina Veterinária, Araçatuba. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Araçatuba

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Título: Ocorrência da Salmonella spp. na cadeia de frango de corte

AUTOR: ANTONIO CARLOS DE QUEIROZ

ORIENTADORA: CÁRIS MARONI NUNES

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em CIÊNCIA ANIMAL, área: Medicina Veterinária Preventiva e Produção Animal pela Comissão Examinadora:

Prof. Dra. CÁRIS MARONI NUNES

Aposentada da Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/Unesp

Prof. Dra. ELISA HELENA GIGLIO PONSANO

Departamento de Produção e Saúde Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/Unesp

Dra. CRISTINA MARA TEIXEIRA

Doutora em Ciência Animal pela Universidade Federal de Minas Gerais

Araçatuba, 04 de agosto de 2020.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Araçatuba

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Título: Ocorrência da Salmonella spp. na cadeia de frango de corte

AUTOR: ANTONIO CARLOS DE QUEIROZ

ORIENTADORA: CÁRIS MARONI NUNES

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em CIÊNCIA
ANIMAL, área: Medicina Veterinária Preventiva e Produção Animal pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. CÁRIS MARONI NUNES

Aposentada da Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/Unesp

Profa. Dra. ELISA HELENA GIGLIO PONSANO

Departamento de Produção e Saúde Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/Unesp

Dra. CRISTINA MARA TEIXEIRA

Doutora em Ciência Animal pela Universidade Federal de Minas Gerais

Araçatuba, 04 de agosto de 2020.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Araçatuba

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Título: Ocorrência da Salmonella spp. na cadeia de frango de corte

AUTOR: ANTONIO CARLOS DE QUEIROZ

ORIENTADORA: CÁRIS MARONI NUNES

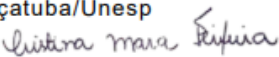
Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em CIÊNCIA ANIMAL, área: Medicina Veterinária Preventiva e Produção Animal pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. CÁRIS MARONI NUNES

Aposentada da Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/Unesp

Profa. Dra. ELISA HELENA GIGLIO PONSANO

Departamento de Produção e Saúde Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/Unesp


Dra. CRISTINA MARA TEIXEIRA

Doutora em Ciência Animal pela Universidade Federal de Minas Gerais

Araçatuba, 04 de agosto de 2020.

Aos meus pais, Antonio da Cunha Queiroz (*in memoriam*)
e Wilma Rossi Queiroz, que me ensinaram o valor real da
vida e da família. Aos meus filhos Alice, Isabela e
Gabriel por tê-los em minha vida e serem minha
inspiração para a busca da sabedoria. A meu
amor Claudia Regina pela oportunidade de
escrevermos juntos as páginas de nossas
vidas.

AGRADECIMENTOS

Ao Grande Arquiteto do Universo, pela Luz divina que habita e ilumina os homens e os induz à busca da verdade e da sabedoria de sua criação.

À minha orientadora, Profa. Dra. Cárís Maroni Nunes, pelo apoio e dedicação ao meu projeto de pesquisa, à minha formação e ao desenvolvimento de novas áreas do saber científico. Ao Dr. Marco Milanesi pelo apoio na análise estatística dos resultados.

À Profa Dra. Luzia Helena Queiroz, irmã querida que sempre me inspirou pelo seu comprometimento, responsabilidade no ensino e pesquisa na Medicina Veterinária, pela sua carreira acadêmica e científica impecável.

À Dra Lenira M. Queiroz Mauad, irmã querida e excepcional profissional da Medicina, que sempre confiou e me apoiou em todos os momentos de minha vida.

Ao corpo docente da Pós-Graduação da FMVA -UNESP pelo profissionalismo, dedicação e compromisso com a ciência e a verdade.

Ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento e seus profissionais que têm o grande compromisso e responsabilidade com a saúde e alimentação humana, dos animais e do meio ambiente.

À Escola Nacional de Agricultura pela oportunidade de aprimorar meus conhecimentos, a confiança a mim depositada e a oportunidade de retribuir à sociedade os conhecimentos adquiridos.

À Agência de Defesa Agropecuária do Paraná e aos colegas Luciana Regina Riboldi Monteiro e Rafael Gonçalves Dias, pelo apoio na pesquisa e pelo fornecimento dos dados do Estado do Paraná.

*“Bem-aventurado é o Homem que encontra
a sabedoria e adquiri o conhecimento,
porque melhor é a sua mercadoria do que a
prata e sua renda do que o ouro mais fino”.*

Provérbios de Salomão 3-13 a 14
(Bíblia Sagrada)

QUEIROZ, A.C. **Ocorrência da *Salmonella* spp. na cadeia de frango de corte.** 2020. 46 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2020.

RESUMO

A salmonelose é uma importante zoonose transmitida por água e alimentos contaminados por bactérias do gênero *Salmonella*, as quais são encontradas no trato intestinal de aves, suínos, bovinos e outros animais domésticos, podendo contaminar diferentes pontos da cadeia produtiva dos produtos obtidos desses animais. O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), por meio da Instrução Normativa Nº 20 de 2016, ampliou o controle e o monitoramento de *Salmonella* spp. nos estabelecimentos avícolas, por meio de análises de suabe de cama, e nos estabelecimentos de abate de frangos e de perus de corte, por meio de programa de colheita de carcaças nas unidades frigoríficas com inscrição no Serviço de Inspeção Federal (SIF) do Brasil. Esta pesquisa objetivou analisar os dados constantes de relatórios do Programa de Controle e Monitoramento da *Salmonella* spp. do MAPA, referentes aos estabelecimentos avícolas comerciais de frangos e perus de corte (núcleos de criação), bem como os dados dos estabelecimentos de abate de frangos, galinhas, perus de corte e de reprodução de sete unidades frigoríficas da região Oeste do estado do Paraná, no período de março de 2017 a fevereiro de 2019. A presença de *Salmonella* spp. foi observada em 5,9 % (19/319) das amostras de suabe de cama de frango e em 23,5 % (73/319) das carcaças de frango. O sorovar mais frequentemente isolado nas carcaças foi *Salmonella* Heidelberg com 85,3%. Em 58% das amostras de suabe da cama com presença da bactéria observou-se também a positividade para *Salmonella* spp. na carcaça. Houve diferença significativa na positividade das carcaças para *Salmonella* spp. entre as amostras colhidas no primeiro e no segundo turno de abate indicando a possibilidade de contaminação das carcaças durante o abate.

Palavras-chave: Salmonelose. Frango de corte. Doenças transmitidas por alimentos. Análise de alimentos. Abatedouro.

QUEIROZ, A.C. **Occurrence of *Salmonella* spp. in the broiler chain. 2020.** 46 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2020.

ABSTRACT

Salmonellosis is an important zoonosis transmitted by water and food contaminated by bacteria of the genus *Salmonella*, which are observed in the intestinal tract of birds, swine, cattle and other domestic animals, and can contaminate different points of the productive chain of these animals' products. The Ministry of Agriculture, Livestock and Supply (MAPA), through the Normative Instruction N°. 20 of 2016, expanded the control and monitoring of *Salmonella* spp. in poultry establishments, by recommending the analysis of broiler litter, and at the slaughterhouses registered with the Federal Inspection Service (SIF) in Brazil, by analyzing broilers and turkeys carcasses. This research aimed to analyze the data from MAPA reports on *Salmonella* spp., referring to commercial poultry establishments for broilers and turkeys as well as the data on broiler, chicken and turkey of seven slaughterhouses in the western region of the state of Paraná, from March 2017 to February 2019. The presence of *Salmonella* spp. was observed in 5.9% (19/319) of the swab samples of broiler litter and in 23.5% (73/319) of the chicken carcasses. The most frequently serovar isolated in the carcasses was *Salmonella* Heidelberg with 85.3%. The concomitant presence of *Salmonella* spp. in broiler litter and chicken carcasses of the same batch occurred in 58% of the positive sample. There was a significant difference in carcass positivity for *Salmonella* spp. between samples taken in the first and the second slaughter rounds indicating the possibility of contamination of the carcasses during slaughter.

Keywords: Salmonellosis. Broiler. Foodborne diseases. Food analysis. Slaughterhouse.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Concentração de aves alojadas, distribuídas pelo estado do Paraná conforme registro de unidades avícolas na Agência de Defesa Agropecuária (ADAPAR) no ano de 2017 15

Figura 2 – Distribuição dos dez principais agentes etiológicos em surtos de doenças transmitidas por alimentos no Brasil, 2003-2018..... 17

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Ocorrência de <i>Salmonella</i> spp. em carcaças e suabe de cama de frango em estabelecimentos avícolas da região Oeste do estado do Paraná, segundo o período de análise (2017-2019)	29
Tabela 2- Amostras de carcaças de frango positivas (n) para a presença de <i>Salmonella</i> , segundo o sorovar isolado em aves abatidas na região Oeste do estado do Paraná, no período entre março de 2017 e fevereiro de 2019.....	30
Tabela 3 - Número de amostras (n) de suabe de cama e de carcaça de frango em estabelecimentos avícolas da região Oeste do estado do Paraná, segundo a presença de <i>Salmonella</i> spp. (2017-2019)	31
Tabela 4- Carcaças de frango da região Oeste do estado do Paraná positivas para a presença de <i>Salmonella</i> spp. segundo o turno e o tempo do início do abate (2017-2019)	33

SUMÁRIO

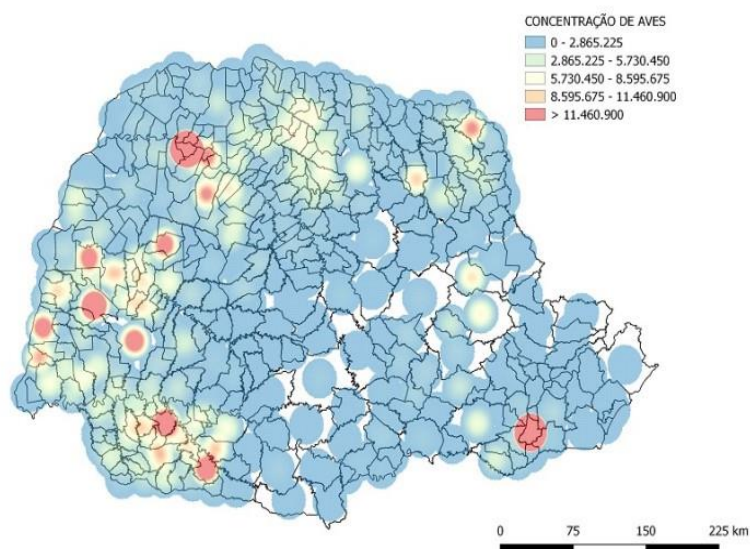
1 INTRODUÇÃO GERAL	15
1.1 Objetivo	22
2 CAPÍTULO 1- OCORRÊNCIA DA <i>Salmonella</i> spp. NA CADEIA DE FRANGO DE CORTE	23
2.1 Resumo	23
2.2 Abstract	24
2.3 Introdução	25
2.4 Material e Métodos	26
2.5 Resultados e Discussão	28
2.6 Conclusão	34
2.7 Agradecimentos	34
2.8 Referência bibliográfica	34
APÊNDICE A.....	38
ANEXO A	42
ANEXO B	43

1 INTRODUÇÃO GERAL

O Brasil é hoje o maior exportador mundial e o 3º maior produtor mundial de carne de frango sendo que, do total de sua produção, aproximadamente 32% é exportado e 68% é direcionado ao mercado interno, com consumo médio de 42 kg de carne de frango/habitante/ano no Brasil (ABPA, 2020). A carne de frango ocupa lugar de destaque na pauta de exportações brasileiras quer seja por seu preço mais acessível, pela mudança de hábitos de vida e alimentares ou pelo aumento da renda *per capita* da população, ocorrida nas últimas décadas em países como a China e a Índia, bem como pelos vários tratados internacionais de reconhecimento do *status* sanitário de nossos rebanhos e de nossas empresas.

A região Oeste do Paraná abriga um grande complexo produtivo de carne de frango, sendo considerada uma das maiores regiões produtoras e exportadoras do Brasil (Figura 1).

Figura 1. Concentração de aves alojadas, distribuídas pelo estado do Paraná conforme registro de unidades avícolas na Agência de Defesa Agropecuária (ADAPAR) no ano de 2017.



Fonte: ADAPAR (2017)

Sete empresas da região atuam em Sistema Integrado de produção de frango de corte, cada uma com unidade frigorífica própria, com capacidade de abate total instalada de dois milhões de aves por dia e 6.315 unidades avícolas de produção, sendo compostas por um ou mais galpões de alojamento de aves (ADAPAR, 2017). Do Oeste do Paraná saíram 22% das exportações brasileiras de frango de corte em 2018, com faturamento bruto de US\$ 2,2 milhões, com geração de empregos e renda ao produtor rural e agregação de valores aos produtos agrícolas brasileiros (SEAB, 2020)

A carne de frango brasileira é consumida em mais de 150 países, em mercados cada vez mais exigentes por produtos seguros e de qualidade. Um dos patógenos controlados em alimentos tem sido espécies de bactérias do gênero *Salmonella*, não sendo admitida, por exemplo, a presença de *Salmonella* Enteritidis e *S. Typhimurium* em carne de frango e seus derivados (BRASIL, 2019a).

A ingestão de alimentos contaminados por algumas espécies de *Salmonella*. pode causar gastroenterites em humanos, tanto em países desenvolvidos como naqueles em desenvolvimento sendo que, a cada ano, uma em cada 10 pessoas adoece e 33 milhões de anos de vida são perdidos devido a doenças transmissíveis por alimentos. Quinhentos e cinquenta milhões de pessoas adoecem por ano, em decorrência de doenças diarreicas resultante da ingestão de alimentos inseguros e contaminados e, desse total, 220 milhões são crianças com menos de 5 anos, sendo *Salmonella* spp. uma das quatro principais causas globais dessa enfermidade (WHO, 2018).

A taxa de mortalidade por gastroenterites diminuiu quase 1 milhão entre 2000 e 2016, mas ainda causou 1,4 milhões de mortes em 2016, sendo a 2ª maior taxa de mortalidade em países com baixa renda *per capita*, atingindo 60 mortes para cada 100.000 habitantes. Os países em desenvolvimento e de renda *per capita* média, contabilizaram 30 mortes em cada 100.000 habitantes, ocupando a 6ª maior causa de mortes (WHO, 2018).

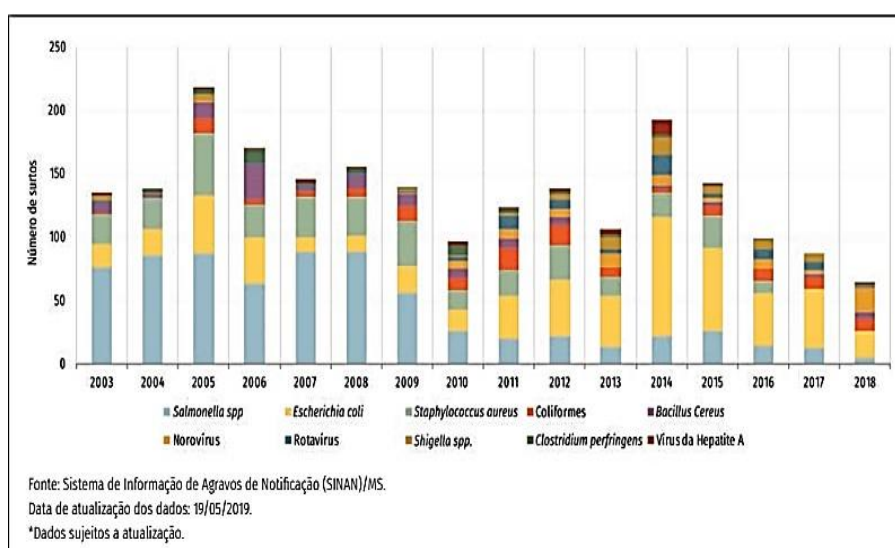
A infecção por *Salmonella* spp. causa gastroenterites primárias em humanos, com sintomas de diarreia, dor abdominal, febre branda e calafrios e, algumas vezes, vômitos, dor de cabeça, fraqueza e náusea. As bactérias do gênero *Salmonella* são encontradas no trato intestinal de aves, suínos, bovinos e outros animais domésticos, resultando, assim, na possibilidade de contaminação dos alimentos em diferentes pontos da cadeia produtiva (FORSYTHE, 2002). Considera-se que, além da

importância em saúde pública, bactérias do gênero *Salmonella* tem grande importância econômica na produção avícola, uma vez que a avicultura brasileira representa uma enorme fonte de renda para o setor agrícola (GALDINO et al., 2013).

Nas últimas duas décadas, vários programas mundiais de melhoria de qualidade dos alimentos foram implantados por ações conjuntas entre a Organização Mundial de Saúde (OMS/WHO), os países produtores de alimentos e os países de baixa e média renda *per capita*. Foram montadas equipes e programas multidisciplinares, visando atingir toda a cadeia produtiva de alimentos até o consumidor, em uma nova abordagem denominada Saúde Única, que representa um novo modelo para projetar e implementar programas, políticas, legislação e pesquisa nas quais vários setores e diferentes áreas profissionais se comunicam e trabalham juntos para alcançar melhores resultados em saúde pública (WHO, 2020).

Embora tenha havido decréscimo no número de surtos ocasionados por *Salmonella* spp. no Brasil, no período de 2003 a 2018 (Figura 2), as espécies de *Salmonella* ainda são consideradas causas de contaminação de alimentos e de diarreias em humanos, onde a carne de frango crua, ovos e seus derivados são as principais fontes de contaminação em surtos (BRASIL, 2019b).

Figura 2. Distribuição dos dez principais agentes etiológicos em surtos de doenças transmitidas por alimentos no Brasil, 2003-2018.



Fonte: BRASIL (2019b)

As bactérias do gênero *Salmonella* têm a forma de bastonetes, são Gram-negativas, anaeróbias facultativas e oxidase negativas, a maioria possui flagelos peritríquios, com exceção de *S. Gallinarum* e *S. Pullorum*, que são imóveis. Pertencem à família Enterobacteriaceae, Gênero *Salmonella* o qual é dividido em duas espécies: *Salmonella enterica* e *Salmonella bongori*. A *S. enterica* é subdividida em seis subespécies: *S. enterica* subsp. *enterica*, *S. enterica* subsp. *salamae*, *S. enterica* subsp. *arizonae*, *S. enterica* subsp. *diarizonae*, *S. enterica* subsp. *houtanae* e *S. enterica* subsp. *indica* (PERIN, 2017).

As subespécies podem apresentar sorovares (sorotipos) que, historicamente, receberam diferentes nomes devido às diferenças nas características bioquímicas, na patogenicidade ou no habitat, sendo que essas diferenças podem se localizar no antígeno somático (O), flagelar (H) e/ou capsular (Vi). Existem aproximadamente 2.600 sorovares, todos considerados potencialmente patogênicos, sendo que, por convenção, podem ser identificados abreviadamente, como, por exemplo, *Salmonella* Enteritidis no caso de *Salmonella enterica* subsp. *enterica* sorovar Enteritidis (RYAN; O'DWYER; ADLEY, 2017).

Estes sorovares podem ser classificados em restritos, adaptados e não adaptados, conforme sua especificidade em relação aos hospedeiros que infectam. Como exemplo de restritos temos o *Salmonella Pullorum* e *Salmonella Gallinarum*, que infectam as aves; já *Salmonella Choleraesuis* infecta os suínos, mas pode causar infecção em humanos vulneráveis, sendo classificada no grupo das adaptadas. No grupo das não adaptadas temos as *Salmonella* spp. que não possuem hospedeiro específico, também conhecidas como as Salmonelas não paratíficas. Nesse grupo se encontra o maior número de sorovares e as salmonelas mais conhecidas, dentre elas a *Salmonella* Enteritidis e a *S. Typhimurium*, causadoras de gastroenterites severas em humanos (BRASIL, 2018).

As bactérias do gênero *Salmonella* são bem resistentes ao meio ambiente, podendo crescer em temperaturas entre 5°C e 46°C, sendo 37°C seu ideal de temperatura. São resistentes ao resfriamento de geladeira e podem resistir ao congelamento, mas são destruídas quando submetidas a temperaturas acima de 70°C e por processos de cozimento completo e pasteurização. O pH ótimo para seu crescimento varia entre 6,6 a 8,2, sendo geralmente bactericidas, valores abaixo de 3,8 e acima de 9,5 (RYAN; O'DWYER; ADLEY, 2017). Quanto à atividade de água, elas têm seu crescimento favorecido entre 0,94 e 0,99, podendo ocorrer variações

entre sorovares. Entretanto, são mais resistentes ao calor quando em alimentos com atividade de água baixa, particularmente os que têm alto teor de gordura (FORSYTHE, 2002).

As salmonelas não produzem esporos, mas possuem capacidade de formação de biofilmes em diferentes superfícies de contato, dando-lhes condições de sobrevivência fora do hospedeiro, em ambientes hostis, tais como as altas e baixas temperaturas (geladeira) e até congelados (sorvetes) (BRASIL, 2011), bem como detergentes e desinfetantes usados nos frigoríficos e nas instalações das granjas avícolas. Biofilme são comunidades complexas de organismos celulares da mesma espécie ou de diferentes espécies aderidos a diferentes tipos de superfície bióticas ou abióticas, com formação de celulose e fímbrias enoveladas que lhes conferem adesão e proteção. Nessa condição, ocorre maior facilidade de cooperação e transferência intracelular de DNA, como as características de resistência aos antimicrobianos e desinfetantes, para as futuras gerações (BORGES et al., 2018).

Há vários anos, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) vem implementando legislações, monitoramento e fiscalização em todos os elos da cadeia de produção da carne de frango de corte e aves de postura, que possam resultar na produção de carne, ovos e derivados com redução de contaminação por patógenos. Em 1994, foi instituído o Programa Nacional de Sanidade Avícola (PNSA), por meio da Portaria Nº 193, com o objetivo de estabelecer metodologias de controle e erradicação de doenças que acometem as aves, dentre elas a salmonelose, sendo que os sorovares envolvidos no programa foram *Salmonella* Pullorum, *Salmonella* Gallinarum, *Salmonella* Enteritidis e *Salmonella* Typhimurium (BRASIL, 1994).

O MAPA, por meio de seu Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal (DIPOA), também instituiu o Programa de Redução de Patógenos (PNCP) através da Instrução Normativa Nº 70 de 2003 (BRASIL, 2003), visando os estabelecimentos com registro no Serviço de Inspeção Federal (SIF) que passaram a realizar monitoramento da *Salmonella* spp. por meio do sorteio e análise laboratorial de carcaças de frango e perus in natura.

Ampliando as determinações da IN-70 o MAPA, por meio da Instrução Normativa Nº 20 (IN-20), de 21 de outubro de 2016 (BRASIL, 2016), instituiu o Programa de Controle e Monitoramento de *Salmonella* spp. nos estabelecimentos avícolas 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 o objetivo de reduzir a prevalência desse agente e estabelecer um nível adequado de proteção ao consumidor. Implementada em março de 2017, a IN-20/2016 institui medidas que abrangem desde a granja até o abatedouro frigorífico, visando reduzir a prevalência deste patógeno e contribuir para a saúde pública, garantindo maior qualidade e rastreabilidade na produção de alimentos, uma vez que 80% da carne de frango consumida no Brasil, em 2017, teve origem nos frigoríficos fiscalizados pelo SIF/MAPA (BRASIL, 2018).

Assim, foi implantada a obrigatoriedade de colheita e análise de amostras de cama dos galpões aviários, por meio da realização do suabe de cama (suabe de arrasto ou propés) ou fezes de aves, para presença ou ausência da *Salmonella* spp., realizada pela equipe técnica e Responsável Técnico (RT), com subsequente envio aos laboratórios oficiais ou credenciados junto ao MAPA, devendo os resultados, ser determinados em tempo hábil, antes do lote de aves ir para o abate.

A IN-20/2016 estabeleceu um programa oficial de colheita de carcaças, realizada por sorteio e efetuada por servidores federais do MAPA lotados nos frigoríficos, com envio aos laboratórios oficiais para análise da presença de *Salmonella* spp., de acordo com as determinações da Coordenação-Geral de Laboratórios Agropecuários (CGAL/MAPA). Além do controle oficial, a IN-20/2016 também instituiu a obrigatoriedade das empresas integradoras incluírem um programa de autocontrole e monitoramento da *Salmonella* spp. nos seus programas de Controle de Qualidade (CQ), com colheita de carcaças em maior número e em intervalo de tempo menor, além do controle e monitoramento da *Salmonella* spp., desde a obtenção da matéria prima até o produto final da produção de carne de frango e perus.

A área final da linha de gotejamento, antes do início da embalagem primária, indicada na IN-20/2016 como o ponto de colheita das amostras de carcaças, foi considerada o ponto crítico de controle biológico de melhor resultado por Von Ruckert et al. (2009), pois reflete a eficiência dos demais pontos localizados anteriormente, possibilitando a correção de eventuais falhas que possam estar ocorrendo dentro da linha de abate. Por esta razão, Oliveira et al. (2012), afirmaram que o programas de Boas Práticas de Fabricação (BPF), Procedimento Padrão de Higiene Operacional (PPHO) e Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) são ferramentas importantes para a garantia dos processos e para melhoria da qualidade do produto final.

Stefani et al. (2014) avaliaram a redução da contaminação bacteriana em carcaças lavadas, com ou sem manipulação (refile) e com ou sem presença de material fecal, após a evisceração, e observaram redução na contagem de bactérias e na contaminação fecal em carcaças ambos os métodos avaliados. Entretanto, os autores mencionam que, aparentemente, os chuveiros não diminuíram o efeito do contato das fezes com as carcaças, resultando, muitas vezes, em cargas altas de *Salmonella* spp. sendo detectadas nos pontos críticos de controle, tais como a água de *chiller* e após a lavagem das carcaças nos chuveiros, levando assim a bactéria aos tanques de pré-resfriamento e resfriamento.

Isolan et al. (2019), acompanharam a introdução dos sistemas de lavagem em cinco frigoríficos com SIF na região sul do Brasil, com análises de carcaças realizadas antes e após a implantação dos sistemas e não observaram redução da contaminação por *Salmonella* spp. em nenhum dos estabelecimentos, concluindo que a diminuição deva estar associada à vazão/volume de água, visto que o aumento da pressão de água no sistema não foi suficiente para reduzir a carga do patógeno nas carcaças amostradas. Oliveira et al. (2012), já haviam relatado que a lavagem de carcaça não substitui a utilização de boas práticas de higiene durante as etapas de processamento, já que a carga microbiana das carcaças, depois de lavada, depende do número de microrganismos presentes antes da lavagem.

Devido à capacidade de formação de biofilme, há grande dificuldade no controle da contaminação das aves dentro das linhas de abate, bem como no controle de alguns sorovares resistentes, em instalações e equipamentos nas unidades avícolas. A *Salmonella* Heidelberg tem sido descrita com um sorovar com grande capacidade de formação de biofilme e de desenvolvimento de resistência a desinfetantes utilizados nas granjas e abatedouros, tais como, clorexidina e amônia quaternária, hipoclorito e glutaraldeído (STEFANI et al., 2018).

Colla et al. (2012) avaliaram amostras de carcaça colhidas em diferentes pontos críticos de controle e observaram diferença de resistência de *S. Heidelberg* frente à amônia quaternária e clorexidina, com diferentes tempos de exposição.

Voss-Rech et al. (2017) descreveram a permanência da *Salmonella* Heidelberg sob diferentes manejos da cama reutilizada em aviários e observaram que a bactéria permaneceu viável na cama e foi detectada em aves sentinelas de todos os tratamentos. Em outro estudo, estes mesmos autores (VOSS-RECH et al., 2019) analisaram 422 amostras de suabe de cama, com acompanhamento desde a

introdução da cama nova e após suas reutilizações, em nove aviários de três diferentes empresas no sul do Brasil e observaram 28,4% de amostras com presença de *Salmonella* spp., sendo que das amostras em que se conseguiu identificar o sorovar, *S. Heidelberg* ocorreu em 87,5% (35/40) delas.

Pandini et al. (2015), analisando as salmonelas isoladas de cama de aviários do estado do Paraná observaram 12,8% de frequência de isolamento de *S. Heidelberg* e características de multirresistência aos antimicrobianos como a ampicilina, ácido nalidíxico e tetraciclina, sendo que *S. Heidelberg* foi a única resistente ao cloranfenicol, revelando uma grande preocupação e perigo para a saúde pública.

Há o entendimento pelos órgãos internacionais, Organização Mundial de Saúde Animal (OIE) e a Organização Mundial de Saúde (OMS/WHO), de que não existem garantias para obtenção de carne de aves totalmente livres da presença de salmonelas. Por esse motivo foram instituídos programas e ações para mitigar o risco ao consumidor e conscientizar a população para a correta manipulação e preparo dos alimentos antes de chegar ao prato, evitando consumo de carnes cruas e de origem duvidosa (BRASIL, 2018).

As 6.315 unidades avícolas integradas da região Oeste do Paraná estão inscritas no Serviço Veterinário Estadual (SVE), que fica a cargo da Agência de Defesa Agropecuária do Paraná (ADAPAR). Como parte das medidas de monitoramento da presença de *Salmonella* spp. nas unidades avícolas e nos abatedouros são realizadas colheitas periódicas de amostras de cama dos galpões aviários e das carcaças de frangos abatidos. A hipótese de que a análise contínua dos dados obtidos por meio deste monitoramento pode levar à adoção rápida de medidas tanto nas unidades avícolas quanto nos frigoríficos nos levou a estabelecer os objetivos desta pesquisa.

1.1 Objetivo

Analisar os dados referentes à presença de *Salmonella* spp. em carcaças de frango de corte, bem como de suabes das camas de estabelecimentos avícolas comerciais de frangos da região Oeste do estado do Paraná, durante o período de março de 2017 a fevereiro de 2019.

2 CAPÍTULO 1 - OCORRÊNCIA DA *Salmonella* spp. NA CADEIA DE FRANGO DE CORTE

2.1 Resumo

A carne de frango brasileira é consumida em mais de 150 países, em mercados exigentes com a qualidade e a produção de alimentos seguros, o que justifica o controle de patógenos nesse alimento, para assegurar tais requisitos. O presente estudo objetivou analisar os dados constantes dos relatórios do Programa de Controle e Monitoramento da *Salmonella* spp. do MAPA, realizado em sete unidades avícolas e frigoríficas, com Serviço de Inspeção Federal, da região Oeste do estado do Paraná, no período entre março 2017 a fevereiro de 2019. A análise dos dados revelou a presença de *Salmonella* spp. no suabe de cama de frango em 5,9% (19/319) dos lotes analisados e em 23,5% (75/319) das carcaças oriundas destes lotes. A presença concomitante de *Salmonella* spp. no suabe de cama e nas carcaças de frango do lote ocorreu em 58% das amostras positivas. O sorovar mais frequentemente isolado nas carcaças foi *Salmonella* Heidelberg (85,3%) seguido de *Salmonella* spp., com 10,6%. Durante o abate, observou-se diferença significativa ($p=0,047$) na positividade das carcaças para *Salmonella* spp. entre o primeiro (19,6%) e o segundo turno (29,4%). Os resultados indicam a possibilidade de contaminação das carcaças durante o abate e, portanto, a adoção de medidas mais rigorosas de higienização entre os turnos deve ser implementada a fim de mitigar a contaminação das carcaças.

Palavras-chave: Salmonelose. Frango de corte. Doenças transmitidas por alimentos. Análise de alimentos. Abatedouro.

OCCURRENCE OF *Salmonella* spp. IN THE BROILER CHAIN

2.2 Abstract

Brazilian chicken meat is consumed in more than 150 countries, in markets that demand quality and food safe. Thus, the control of pathogens present in food is relevant to guarantee these requirements. This study aims to evaluate the reports from the *Salmonella* spp. Control and Monitoring Program of the Ministry of Agriculture, Livestock and Food Supply carried out at seven slaughterhouses under the Federal Inspection Service from the West region of Paraná state, Brazil, from March 2017 to February 2019. The analysis revealed 5.9% (19/319) of the flocks with the presence of *Salmonella* spp. in the broilers litter swab and 23.5% (75/319) of positivity on the carcasses from these flocks. The concomitant presence of *Salmonella* spp. in the broilers litter swab and on chicken carcasses occurred in 58% of the positive samples. The most frequently isolated serovar in the carcasses was *Salmonella* Heidelberg (85.3%) followed by *Salmonella* spp. with 10.6%. During slaughter, there was a significant difference ($p=0.047$) at the carcasses' positivity by *Salmonella* spp. between the first (19.6%) and the second shifts (29.4%). The results alert for the possibility of carcass contamination during slaughtering, therefore, the adoption of more stringent hygiene measures between shifts must be implemented in order to mitigate the carcasses contamination.

Keywords: Salmonellosis. Broiler. Foodborne diseases. Food analysis. Slaughterhouse.

2.3 Introdução*

O Brasil é hoje o terceiro maior produtor mundial de carne de frango e maior exportador mundial sendo que, do total de sua produção, aproximadamente 32% é exportado e 68% é consumido no mercado interno (ABPA, 2020). A carne de frango tem sido a principal fonte de proteína animal da pauta de exportação brasileira nos últimos anos (Ferreira e Vieira Filho, 2019), sendo consumida em mais de 150 países, incluindo mercados cada vez mais exigentes em produtos de máxima qualidade e seguros. Assim, o controle de patógenos presentes nos alimentos, dentre eles a *Salmonella* spp., é de grande relevância, não sendo admitida a presença de *S. Enteritidis* e *S. Typhimurium* em carnes cruas de frango ou índices elevados de *Salmonella* spp. nos alimentos, uma vez que a salmonelose é a principal causa de gastroenterites em humanos, tanto em países desenvolvidos quanto nos países em desenvolvimento (WHO, 2018).

Nas últimas duas décadas, vários programas mundiais de melhoria de qualidade dos alimentos foram implantados no mundo por ações conjuntas entre a Organização Mundial da Saúde, os países produtores de alimentos e os países consumidores de baixa e média renda *per capita*, visando atingir toda a cadeia produtiva de alimentos até o consumidor, considerando o conceito de Saúde Única (WHO, 2020).

O MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento) vem, há vários anos, implementando legislação, monitoramento e fiscalização em todos os elos da cadeia do complexo frango de corte e peru, que possam resultar na produção de carne com redução de contaminação da *Salmonella* spp. Em 2003, o MAPA instituiu, por meio do Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal (DIPOA), o Programa de Redução de Patógenos (PNCP) para análise de *Salmonella* spp. nos estabelecimentos com Serviço de Inspeção Federal (SIF) mediante o sorteio dessas unidades, com colheita e análise específicas para contaminações bacterianas, dentre elas a *Salmonella* spp. (Brasil, 2003).

As ações do MAPA foram ampliadas e aprimoradas com a IN-20/2016, estabelecendo o controle e monitoramento de *Salmonella* spp. nos estabelecimentos

* De acordo com as normas da Revista Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia (ANEXO B)

avícolas de frangos e perus de corte, bem como nos estabelecimentos de abate de frangos, galinhas, perus de corte e reprodução, registrados no SIF, com o objetivo de reduzir a prevalência desse agente e estabelecer um nível adequado de proteção ao consumidor (Brasil, 2016).

A implementação da IN-20/2016, em março de 2017, trouxe grandes avanços no controle de *Salmonella* spp. em aves, desde a granja avícola, passando pelo abatedouro frigorífico e chegando ao consumidor final, garantindo, assim, mais qualidade e rastreabilidade na produção de frango e derivados. Em 2017, 80% da carne de frango consumida no Brasil teve origem nos frigoríficos fiscalizados pelo SIF do MAPA, totalizando 5 bilhões de aves (Brasil, 2018).

A região oeste do estado do Paraná abriga um grande complexo produtivo de carne de frango, sendo considerada uma das maiores regiões produtoras e exportadoras do Brasil. São sete empresas com Sistema Integrado de produção de frango de corte e cada uma delas conta com frigorífico próprio, com capacidade instalada de abate de mais de 2 milhões de aves diariamente. Da região oeste do Paraná saíram 22% das exportações brasileiras de frango de corte, em 2018, com faturamento bruto de US\$ 2,2 bilhões (SEAB, 2020).

Objetivou-se analisar os dados referentes aos resultados da presença de *Salmonella* spp. em carcaças colhidas em estabelecimentos de abate sob o Serviço de Inspeção Federal, da região oeste do estado do Paraná, bem como analisar os resultados de suabes das camas de estabelecimentos avícolas comerciais de frangos onde essas aves estiveram alojadas.

2.4 Material e Métodos

A área de estudo compreendeu 07 (sete) empresas da região Oeste do Paraná que atuam em Sistema Integrado de produção de frango de corte, cada uma com unidade frigorífica própria, com capacidade de abate total instalada de dois milhões de aves por dia e 6.315 unidades avícolas de produção, sendo compostas por um ou mais galpões de alojamento de aves (ADAPAR, 2017).

Foram avaliados dados secundários constantes dos relatórios do Programa de Controle e Monitoramento da *Salmonella* spp. referentes à análise de *Salmonella* spp. de 319 amostras de suabes de cama (suabe de arrasto ou de propés) de estabelecimentos avícolas comerciais de frangos e perus de corte, bem como de 319 carcaças de frango colhidas nos estabelecimentos de abate. Esses dados foram

fornecidos pelo MAPA e se referem ao período de março de 2017 a fevereiro de 2019. As informações das carcaças quanto à origem, turno de abate, data e horário da colheita das amostras também foram analisadas. Os dados de localização foram preservados e mantidos sob sigilo para evitar a identificação dos produtores.

Todo o núcleo avícola é considerado positivo quando da presença de *Salmonella* spp. na análise da cama de frango, mesmo que esta ocorra somente em um dos galpões do núcleo.

A amostragem para a colheita de amostras de carcaças leva em consideração a classificação dos estabelecimentos segundo o volume de abate (P= abate diário < 50.000 frangos/galinhas ou 16.000 perus; M= abate diário 50.001 a 100.000 frangos/galinhas ou >16.001 perus; G= abate diário 100.001 a 200.000 frangos/galinhas; GG= abate diário > 200.001 frangos/galinhas), considerando-se prevalência de 20% e probabilidade de 80% (Brasil, 2016). Dentre os estabelecimentos analisados, 1 era M, 1 era G e 5 eram GG. Devido à grande relevância sanitária e importância econômica que representa a salmonelose para a cadeia avícola brasileira, foi firmado um termo de Confidencialidade e de Fidedignidade junto ao MAPA, para preservar e resguardar seus envolvidos. Desta forma, um sistema de letras de identificação para cada integradora foi criado (B-R-A-Z-I-L-S) e as análises foram realizadas sem identificação de produtor/localidade/empresa. Por se tratar de dados secundários e oriundos de aves abatidas de forma humanitária, seguindo-se as normas vigentes, esta pesquisa não foi submetida à Comissão de Ética no Uso de Animais (ANEXO A).

Os dados avaliados foram divididos em dois períodos sendo, o 1º período, compreendido entre março de 2017 a fevereiro de 2018 e o 2º período, entre março de 2018 a fevereiro de 2019. O intervalo entre as colheitas foi de duas semanas para seis unidades frigoríficas (B, R, A, Z, I e S) e de três semanas para uma unidade frigorífica (L).

As colheitas de carcaças são realizadas por servidores do Serviço de Inspeção Federal (SIF), de forma aleatória, sorteando-se a data, dia da semana, linha de abate e horário de abate, segundo as normas de colheita de material para análise oficial do MAPA (Brasil, 2016). A amostra constava de uma carcaça inteira, colhida na seção da linha de abate, imediatamente após a área de gotejamento da carcaça e antes da embalagem primária (Brasil, 2016). Uma vez colhidas, as carcaças devidamente acondicionadas e identificadas são encaminhadas aos laboratórios oficiais de escolha

da empresa, de acordo com as exigências da IN-20/2016 para serem analisadas de acordo com as metodologias preconizadas pela Coordenação Geral de Laboratórios (CGAL), órgão da Secretaria de Defesa Agropecuária do MAPA (Brasil, 2020).

Os dados foram tabulados em planilhas do programa Excel e as porcentagens foram calculadas. Para a avaliação do desempenho do suabe de cama como preditor da contaminação da carcaça, realizou-se uma análise de matriz de confusão, por meio do pacote "caret" (Kuhn, 2008), do software estatístico R (R Development Core Team, 2020). Em particular, foram avaliadas a acurácia de predição, o coeficiente de concordância (kappa) e a probabilidade de se obter uma acurácia igual ou superior ao acaso. Para a avaliação de associação entre as variáveis turno e/ou horário da colheita e a positividade para a presença de *Salmonella* spp., foi realizada análise de variância (ANOVA), utilizando-se *scripts* em ambiente R (R Development Core Team, 2020). Adotou-se nível de significância de 5%.

2. 5 Resultados e Discussão

A análise dos dados de suabes de cama revelou que em 5,9% (19/319) das amostras foi detectada a presença de *Salmonella* spp. (Tab. 1). Este resultado foi inferior ao observado por Pandini et al. (2015) que analisaram 342 amostras de suabes de cama, no período de 2010 a 2011, e observaram 11,4% de positividade para *Salmonella* enterica, sendo *Salmonella* Heidelberg o sorovar mais frequente no estado do Paraná. Da mesma forma, Silva (2019) também avaliou dados de coletas de suabe de cama no Paraná, entre os anos de 2017 e 2018, e observou 32,1% (78/243) de presença de *Salmonella* spp. em unidades avícolas não cadastradas na Agência de Defesa Agropecuária do Paraná (ADAPAR). A menor positividade observada em nossa pesquisa pode ser atribuída ao fato de todas as unidades avícolas serem registradas e avaliadas pelo Serviço Veterinário do Estado (SVE), o que pode resultar em melhor controle de *Salmonella* spp. nas unidades avícolas analisadas.

Dentre as amostras positivas no suabe de cama de frango, 73,7% (14/19) delas ocorreram em uma única empresa (I) em todo o período. Tal resultado pode estar relacionado ao sorovar *Salmonella* Heidelberg, visto que, conforme observado por Voss-Rech et al. (2017) em estudo de tratamentos de cama aviária frente a bactérias e vírus, nem todos os tratamentos são efetivos para o controle da *Salmonella* Heidelberg. Como nas amostras de suabe de cama não há exigência da tipificação do sorovar, tal hipótese não pôde ser comprovada.

Tabela 1. Ocorrência de *Salmonella* spp. em carcaças e suabe de cama de frango em estabelecimentos avícolas da região Oeste do estado do Paraná, segundo o período de análise (2017-2019)

	1º PERÍODO		2º PERÍODO		TOTAL GERAL	
	%	(positivo/total)	%	(positivo/total)	%	(positivo/total)
Empresa	suabe de cama	carcaça	suabe de cama	carcaça	suabe de cama	carcaça
B	0 (0/23)	0 (0/23)	0,00 (0/24)	8,33 (2/24)	0 (0/47)	4,25 (2/47)
R	0 (0/24)	20,83 (5/24)	18,75 (3/16)	18,75 (3/16)	7,50 (3/40)	20,00 (8/40)
A	0 (0/24)	50,00 (12/24)	0 (0/24)	37,50 (9/24)	0 (0/48)	43,75 (21/48)
Z	0 (0/24)	16,67 (4/24)	0 (0/24)	12,50 (3/24)	0 (0/48)	14,58 (7/48)
I	37,50 (9/24)	41,67 (10/24)	20,83 (5/24)	50,00 (12/24)	29,17 (14/48)	45,83 (22/48)
L	0 (0/16)	6,25 (1/16)	0 (0/24)	4,17 (1/24)	0 (0/40)	5,00 (2/40)
S	4,17 (1/24)	45,83 (11/24)	4,17 (1/24)	8,33 (2/24)	4,17 (2/48)	27,08 (13/48)
Total	6,29 (10/159)	27,04 (43/159)	5,62 (9/160)	20,00 (32/160)	5,96 (19/319)	23,51 (75/319)

1º período= março de 2017 a fevereiro de 2018; 2º período= março de 2018 a fevereiro de 2019.

Com relação às carcaças de frango, 76,5% (244/319) foram consideradas livres de *Salmonella* spp. e 23,5% (75/319) apresentaram presença de *Salmonella* spp. (Tab. 1). No primeiro período, 27% das amostras (43/159) foram positivas e, no segundo período, 20% (32/160). Ressalta-se que cinco empresas apresentaram queda no número de carcaças positivas no período (empresas R, A, Z, L e S) e duas apresentaram aumento do número de carcaças positivas (empresas B e I), sendo que em uma delas (empresa I), a positividade pode ter sido devido à presença de sorovar a positividade foi devido à presença de *S. Heidelberg*.

No âmbito nacional, no período avaliado, observa-se diminuição um pouco mais acentuada da presença de *Salmonella* spp. nas carcaças, de 18% (466/2.592) nos

anos de 2017 a 2018 (Brasil, 2018), para 12,7% (352/2791) nos anos de 2018 e 2019 (Brasil, 2019).

A positividade observada nas carcaças (23,5%) está acima daquela observada nos EUA, no ano de 2013, quando foi detectada a presença de *Salmonella* spp. em 3,9% de carcaças de frangos jovens (28 dias de idade) (Progress..., 2014). Resultado semelhante foi observado na União Europeia, no período de 2013 a 2017, onde 5,6% das unidades avícolas, de uma amostragem dos 25 países membros, foram positivas para presença de *Salmonella* spp. (EFSA e ECDC, 2018). Já no Canadá, pesquisa realizada em 2018 em 4.541 amostras de carcaças de frangos provenientes de várias regiões revelou prevalência que variou de 17,4% a 34,3% de positividade (National..., 2016), chamando a atenção para a grande complexidade do controle de *Salmonella* spp., mesmo em países desenvolvidos.

À análise dos resultados de tipificação dos sorovares de *Salmonella* isolados das carcaças colhidas nos sete abatedouros do oeste do estado do Paraná, observou-se que *Salmonella* Heidelberg foi o sorovar predominante, tendo sido identificado em 85,3% (64/75) das carcaças (Tab. 2). 10,66 % não foi possível a identificação do sorovar considerado dessa forma *Salmonella* spp., enquanto *Salmonella* Typhimurium, *S. Infantis* e *S. Minnessota* ocorreram em 1,3% das amostras (somente um caso cada) e nenhuma amostra apresentou *Salmonella* Enteritidis, *Salmonella* Pullorum ou *Salmonella* Gallinarum, sorovares importantes dentro dos programas de sanidade avícola nacional.

Tabela 2- Amostras de carcaças de frango positivas (n) para a presença de *Salmonella*, segundo o sorovar isolado em aves abatidas na região Oeste do estado do Paraná, no período entre março de 2017 e fevereiro de 2019

Sorovar	n	%
<i>Salmonella</i> Heidelberg	64	85,33
<i>Salmonella</i> spp.	8	10,66
<i>Salmonella</i> Infantis	1	1,33
<i>Salmonella</i> Minnessota	1	1,33
<i>Salmonella</i> Typhimurium	1	1,33

Salmonella Heidelberg é citada como o sorovar mais comumente isolado no sistema de produção de frango de corte nos Estados Unidos e Canadá, acarretando problemas de saúde pública. Este sorovar tem apresentado progressão de resistência a desinfetantes muito utilizados na indústria avícola, tais como clorexidina e amônia quaternária, característica esta transferida à cada geração (Colla *et al.*, 2012). Este é um fator que pode estar relacionado à presença da bactéria na linha de abate e mostra a necessidade de realização constante de testes de eficiência e alternância de princípios ativos para desinfecção. Pandini *et al.* (2015) observaram alta capacidade de resistência da *S. Heidelberg* à antibacterianos utilizados na indústria animal, constituindo-se assim, em grande risco à saúde pública. Adicionalmente, Borges *et al.* (2018), analisando a capacidade da *S. Heidelberg* na produção de biofilme em condições laboratoriais, observaram aumento na formação do biofilme de acordo com o aumento da temperatura (de 3°C para 37°C), observação de grande preocupação para indústrias de processamento de alimentos, pois essa característica favorece a sobrevivência desse patógeno em ambientes hostis como o de frigoríficos.

A presença concomitante de *Salmonella* nos suabes de cama e nas carcaças desses lotes foi identificada em 58% das amostras (Tab. 3).

Tabela 3: Número de amostras (n) de suabe de cama e de carcaça de frango em estabelecimentos avícolas da região Oeste do estado do Paraná, segundo a presença de *Salmonella* spp. (2017-2019)

	Carcaça	Carcaça	Total
Suabe de cama	Presença	Ausência	n
Presença	11	8	19
Sem presença	64	236	300
Total	75	244	319

A análise estatística (matriz de confusão) apontou que o suabe de cama possui uma acurácia de predição da contaminação da carcaça de 77,4% (IC= 72,4% a 81,9%), demonstrando a importância da análise prévia de suabe de cama para o controle e monitoramento da salmonelose. Desta forma, mediante resultado prévio

dos suabes de cama, conforme já previsto na IN-20/2016, pode-se desenvolver ações de tratamento e desinfecção da cama do aviário, estratégias de programação de abate de lotes positivos em final dos turnos de abate, ou até mesmo definir dias específicos para abate de lotes positivos, com o objetivo de prevenir e mitigar as contaminações na linha de abate e intensificar a higiene e a desinfecção de instalações e equipamentos.

Entretanto, como 74% (236/319) dos resultados tanto das amostras de suabe de cama como das de carcaça eram negativos, a acurácia desta análise pode ter sido superestimada na presente pesquisa. De fato, a análise de matriz de confusão indicou que a probabilidade de se obter acurácia melhor ao acaso é de 37,5%, sugerindo baixa concordância entre os resultados da análise de suabe de cama e de carcaças, ($\kappa = 0,15$). Assim, nossos resultados sugerem que (i) há baixa sensibilidade do suabe de cama para a detecção de *Salmonella* spp. em carcaças; (ii) uma fração importante dos casos positivos seja decorrente de contaminação no processo de abate.

Esta hipótese é reforçada pelo fato de que 85,3% (64/75) das amostras de carcaças positivas para *Salmonella* spp. não apresentaram positividade nos suabes de cama, sinalizando para o fato de que as carcaças possam ter sido contaminadas durante o abate e o processamento. Segundo Lopes *et al.* (2007) pesquisa realizada pelo serviço de Inspeção nos Estados Unidos (FSIS) mostrou que 5% das aves que chegavam ao abatedouro estavam contaminadas por *Salmonella* spp. e, ao final do processamento, a contaminação aumentou para 36% nas carcaças dos frangos.

A alta velocidade de abate, o uso de equipamentos desregulados, a desuniformidade no tamanho das aves, as temperaturas inadequadas no pré-resfriamento e no resfriamento e a cloração deficiente possibilitam a contaminação cruzada com enterobactérias, entre elas, *Salmonella* spp. Além destes fatores, o sistema de lavagem das carcaças após a evisceração das aves também pode influenciar na presença de *Salmonella* spp. (Isolan *et al*, 2019).

Em relação à ordem de colheita das carcaças para análise, 193 foram colhidas no primeiro turno do abate, resultando em 19,7% (38/193) de positividade e 126 no segundo turno, com 29,3% (37/126) de positividade (Tab. 4), resultando em diferença estatisticamente significativa na positividade entre os turnos (ANOVA, $p=0,047$).

Tabela 4- Carcaças de frango da região Oeste do estado do Paraná positivas para a presença de *Salmonella* spp. segundo o turno e o tempo do início do abate (2017-2019)

Turno de abate	até 4 horas início abate		após 5 horas início abate			Positivas/ total carcaça	
	carcaças avaliadas	Positivas n %	carcaças avaliadas	Positivas n %		n %	
Primeiro	99	16 16,2	94	22 23,4		38/193	19,68
Segundo	59	16 27,1	67	21 31,3		37/126	29,36
Total	158	32 20,2	161	43 26,4		75/319	23,50

Considerando-se cada um dos turnos separadamente, das 193 carcaças colhidas no 1º turno, 99 foram colhidas até 4 horas do início do abate, resultando em 16,2% de positividade e 94 após 5 horas do início, com positividade de 23,4%. Dentre as 126 carcaças colhidas no 2º turno do abate, 59 foram colhidas até 4 horas, com 27,1% de positividade e 67, após 5 horas, resultando em 31,3% de positividade. Considerando-se os turnos e o tempo decorrido do início do abate para as colheitas das carcaças não se observou diferença estatisticamente significativa ($p>0,05$) na positividade. Entretanto, observa-se aumento da positividade com relação ao primeiro e segundo turnos e em relação ao início e final de cada turno, resultados sugestivos de contaminação cruzada durante o processamento no frigorífico.

A análise dos dados de colheita de carcaças em relação ao dia da semana e horário do turno permitiu observar que 43,6% (139/319) das colheitas ocorreram às segundas-feiras, sendo que 62,6% (87/139) destas foram colhidas nas primeiras horas dos turnos de abate, o que pode ter influenciado os resultados, constituindo-se assim em um viés de amostragem. Além disto, em uma das empresas (R) foi possível observar que 100% das colheitas ocorreram nas primeiras horas do primeiro turno e, em outra empresa (B), 72,5% das colheitas foram realizadas às segundas-feiras (dados não apresentados), em desacordo com o Art. 45 da IN-20/2016. Ênfase maior deveria ser dada à questão do sorteio para a colheita das amostras, objetivando diminuir as tendências observadas.

Os resultados indicam a possibilidade de contaminação das carcaças durante o abate, hipótese de resistência da *S. Heidelberg* frente a produtos utilizados na

higiene e desinfecção das instalações. Portanto a adoção de medidas mais rigorosas de higienização e desinfecção entre os turnos, deve ser implementada a fim de mitigar a contaminação das carcaças, tais como, troca de água dos tanques de resfriamento entre turnos, maior atenção a limpeza e higienização dos equipamentos, alternância de princípios ativos e comprovadamente mais eficazes, ênfase maior na análise das Boas Práticas de Fabricação (BPF), Procedimento Padrão de Higiene Operacional (PPHO) e Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) pela indústria.

2.6 Conclusão

Concluiu-se que havia contaminação por *Salmonella* spp. nas carcaças de frango abatidos nos frigoríficos avaliados bem como nas unidades avícolas da região Oeste do estado do Paraná, no período analisado, tendo-se observado diferença na positividade entre os turnos de trabalho. Houve positividade concomitante para carcaças e cama de frango nos estabelecimentos avícolas, e *Salmonella* Heidelberg foi o sorovar predominante nas carcaças avaliadas.

2.7 Agradecimentos

Ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento pela cessão dos dados analisados neste estudo; aos Drs. Marco Milanesi e Yuri Tani Utsonomiya, pelas análises estatísticas.

2.8 Referências bibliográficas

ABPA - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL. Relatório Anual 2020. Disponível em: <http://abpa-br.org/wpcontent/uploads/2020/05/abpa_relatorio_anual_2020_portugues_web.pdf>. Acessado em: 24 mai. 2020

ADAPAR- AGÊNCIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA DO PARANÁ - *Relatório Anual Gerência de Saúde Animal- 2017*. Disponível em: http://www.adapar.pr.gov.br/arquivos/File/RELATORIO_GSA_2017.pdf. Acessado em: 15 mai. 2020.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº

70 de 06 de outubro de 2003. Institui o Programa de Controle de Patógenos-Monitoramento Microbiológico e Controle de *Salmonella* spp. em carcaças de Frangos e Perus. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 06 out. 2003. Seção 1, p.09.

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). *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 21 out. 2016. Seção 1, p.13.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Anuário dos programas de controle de alimentos de origem animal do DIPOA*. vol. 4, 2018. Disponível em: <animal/arquivospublicacoes-dipoa/anuario-dipoa-v4/view>. Acessado em: 13 mar. 2020.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Anuário dos programas de controle de alimentos de origem animal do DIPOA*. vol. 5, 2019. Disponível em: <<http://antigo.agricultura.gov.br/assuntos/inspecao/produtos-animal/arquivospublicacoes-dipoa/anuario-v-5-2019-versao-final-aprovada.pdf/view>>. Acessado em: 12 mai. 2020.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Manual de Coleta de Amostras de Produtos de Origem Animal*, versão 4, março/2020. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-animal/arquivospublicacoes-dipoa/manual-de-coleta-versao-04-marco_2020.pdf/view> Acessado em: 12 mai. 2020.

BORGES, K.A.; FURIAN, T.Q.; SOUZA, S.N et al. Biofilm formation capacity of *Salmonella* serotypes at different temperature conditions. *Pesq. Vet. Bras.*, v.38, n.1, p.71-76, 2018.

COLLA, F. L.; RODRIGUES L.B.; BORSOI A. et al. Isolamento de *Salmonella* Heidelberg em diferentes pontos da tecnologia de abate de frangos de corte. *Arq. Inst. Biol.*, v. 79, n.4, p.603-606, 2012.

EFSA (European Food Safety Authority) and ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control). The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2017. *EFSA Journal* v.16, n.12, p. 5500, 262 pp. 2018.

FERREIRA, M.D.P.; VIEIRA FILHO, J.E.R. Inserção no mercado internacional e a produção de carnes no Brasil. Texto para Discussão 2479. Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada, Ministério da Economia. Rio de Janeiro, junho de 2019. Disponível em:

<https://www.ipea.gov.br/portal/images/stories/PDFs/TDs/td_2479.pdf> Acessado em: 13 mar. 2020.

ISOLAN L.W.; PERDONCINI G.; TODESCHINI B. et al Sistema de lavagem de carcaças e controle de *Salmonella* spp. em abatedouros de frangos de corte. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.71, n. 1, p.252-258, 2019.

KUHN, M. Building predictive models in R using the caret package. *J. Stat Softw*, v. 28, n. 5, p.1-26, 2008.

LOPES M.; GALHARDO J.A.; OLIVEIRA J.T. et al. Research of *Salmonella* spp. and indicators microorganisms in poultry carcasses and chilling tanks water in poultry slaughterhouse. *Semina: Ciênc. Agr.*, v.28, n.3, p.465-476, 2007.

NATIONAL microbiological baseline study in broiler chicken December 2012 – December 2013. CFIA - Canadian Food Inspection Agency. 2016. Disponível em: <https://www.inspection.gc.ca/DAM/DAM-food-aliments/STAGING/texttexte/chem_testing_report_20122013_broiler_chicken_1471382238248_eng.pdf>. Acessado em: 25 mai. 2020.

PANDINI, J.A.; PINTO F.G.S.; MULLER J.M. et al. Ocorrência e perfil de resistência antimicrobiana de sorotipos de *Salmonella* spp. isolados de aviários do Paraná, Brasil. *Arq. Inst. Biol.*, v. 82, p.1-6, 2015.

PROGRESS report on *Salmonella* and *Campylobacter* testing of raw meat and poultry products, CY 1998-2014. United States Department Agriculture, Food Safety and Inspection Service. 2014. Disponível em: <<https://www.fsis.usda.gov/wps/wcm/connect/7b9ba8cdde004d8d8cf77cfbe24236f7/>>

Progress-Report-SalmonellaCampylobacterCY2014.pdf?MOD=AJPERES>.

Acessado em: 25 mai. 2020.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing [online]. Vienna: R Foundation for Statistical Computing; 2020. Disponível em: <<http://www.r-project.org/>>. Acessado em: 20 mai. 2020.

SEAB – SECRETARIA DE AGRICULTURA E ABASTECIMENTO DO PARANÁ. Levantamento da Produção Agropecuária. Pecuária - Comparativo Paraná Brasil. Números da pecuária paranaense – Ano 2020. Disponível em: <http://www.agricultura.pr.gov.br/sites/default/arquivos_restritos/files/documento/2020-01/nppr_24_janeiro_2020.pdf>. Acessado em: 13 mai. 2020.

SILVA, N. D. Salmonelas paratíficas: epidemiologia na avicultura de corte do Estado do Paraná. 2019. 100p. Dissertação (Mestrado em Patologia Veterinária) - Setor Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

VOSS-RECH, D.; TREVISOL I.M.; BRENTANO L. et al. – Efeito de tratamento de cama de aviária sobre a infectividade de vírus e bactérias. *A Revista do AviSite*. n.115, p. 28-30, 2017. Disponível em: <[://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/166724/1/final8594.pdf](http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/166724/1/final8594.pdf)> Acessado em: 25 mai. 2020

WHO – WORLD HEALTH ORGANIZATION, Food Safety – Key facts 2020, Disponível em: <<https://www.who.int/NEWS-ROOM/FACT-SHEETS/DETAIL/FOOD-SAFETY>>. Acessado em: 23 jul. 2020.

WHO – WORLD HEALTH ORGANIZATION, *Salmonella* (non-typhoidal)–key facts, 2018. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/Salmonella>>. Acessado em: 12 fev. 2020.

APÊNDICE A – REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO GERAL

ABPA - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL. **Relatório Anual 2020**. Disponível em: <http://abpa-br.org/wp-content/uploads/2020/05/abpa_relatorio_anual_2020_portugues_web.pdf>. Acesso em: 24 mai. 2020.

ADAPAR- AGÊNCIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA DO PARANÁ- **Relatório Anual Gerência de Saúde Animal- 2017**. Disponível em: http://www.adapar.pr.gov.br/arquivos/File/RELATORIO_GSA_2017.pdf. Acessado em 15 mai. 2020.

BORGES, K.A.; FURIAN, T.Q.; SOUZA, S.N. et al. Biofilm formation capacity of *Salmonella* serotypes at different temperature conditions. **Pesq. Vet. Bras.**, v. 38, n. 1, p. 71-76, 2018.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria Nº 193, de 19 de setembro de 1994. Instituiu o Programa Nacional de Sanidade Avícola, no âmbito do Departamento de Sanidades Animal (DAS) e cria o Comitê Consultivo do Programa de Sanidade Avícola. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF. 19 set. 1994. Seção 1.

BRASIL, Ministério Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria Nº 210 de 10 de novembro de 1998 - Regulamento Técnico da Inspeção Tecnológica e Higiênico-Sanitária de carne de aves. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF. 10 nov. 1998. Seção 1.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 70 de 06 de outubro de 2003. Institui o Programa Nacional de Controle de Patógenos-Monitoramento Microbiológico e Controle de *Salmonella* spp. em carcaças de Frangos e Perus. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 06 out. 2003. Seção 1.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Apoio à Gestão de Vigilância em Saúde. Coordenação-Geral de Laboratórios de Saúde Pública. **Manual técnico de diagnóstico**

laboratorial de *Salmonella* spp.: diagnóstico laboratorial do gênero *Salmonella*. Brasília; Ministério da Saúde; 2011. 60 p.

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). **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 21 out. 2016. Seção 1.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto Lei Nº 9013 de 29 de março de 2017- Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 30 mar. 2017. Seção 1.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Nota Técnica - Entenda melhor – *Salmonella* em carne de frango. 2018. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtosanimal/arquivospublicacoes-dipoa/entenda-melhor-salmonella-em-carne-de-frango/view>>. Acesso em: 24 mai. 2020

BRASIL. Ministério da Saúde - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Instrução normativa nº 60, de 23 de dezembro de 2019 - Estabelece as listas de padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 26 dez. 2019. Seção 1. [2019a].

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Vigilância em saúde no Brasil 2003/2019: da criação da Secretaria de Vigilância em Saúde aos dias atuais. **Bol. Epidemiol.** v. 50, n. (esp.), p.19-20. 2019. [2019b]. Disponível em: <https://www.ghc.com.br/files/boletim-especial-21ago19-web.pdf>. Acesso em: 18 jul. 2020.

COLLA, F. L.; RODRIGUES L.B.; BORSOI A. et al. Isolamento de *Salmonella* Heidelberg em diferentes pontos da tecnologia de abate de frangos de corte. **Arq. Inst. Biol.**, v. 79, n.4, p.603-606, 2012.

FORSYTHE, S.J. - **Microbiologia da Segurança Alimentar**. 2. ed. Porto Alegre: Editora Artmed, 2002. 602 p.

GALDINO, V. M. C. A.; MELO, R. T. DE; OLIVEIRA, R. P. et al. Virulência de *Salmonella* spp. de origem avícola e resistência a antimicrobianos. **Biosci. J.**, v. 29, n. 4, p. 932-939, 2013.

ISOLAN, L.W.; GUAHYBA, G.P.; DEPNER, R. et al. Sistema de lavagem de carcaças e controle de *Salmonella* spp em abatedouros de frangos de corte. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 71, p. 252-258, 2019.

OLIVEIRA, A.L.; SOLA, M. C.; FEISTEL, J. C. et al. *Salmonella* sp. e o abate de frangos: pontos críticos de controle. **Encicl. Biosf.**, Centro Científico Conhecer, v. 8, n. 14, p. 865-875, 2012.

PANDINI, J.A.; PINTO, F.G.S.; MULLER, J.M. et al. Ocorrência e perfil de resistência antimicrobiana de sorotipos de *Salmonella* spp. isolados de aviários do Paraná, Brasil. **Arq. Inst. Biol.**, v. 82, p. 1-6, 2015.

PERIN, A.P. **Ocorrência e quantificação de *Salmonella* spp. em cortes de frango congelados: levantamento epidemiológico no estado do Paraná e perfil de suscetibilidade a antimicrobianos**. 2017. 107 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) Setor de Palotina, Universidade Federal do Paraná, Palotina, 2017.

RYAN, M.P, O'DWYER, J.; ADLEY, C.C. Evaluation of the complex nomenclature of the clinically and veterinary significant pathogen *Salmonella*. **Biomed. Res. Int.** e:378218, Epub 2017 Apr 30, 2017. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5429938/>. Acesso em: 25 mai. 2020.

SEAB – Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Paraná. Levantamento da Produção Agropecuária. Pecuária - Comparativo Paraná Brasil. **Números da pecuária paranaense – Ano 2020**. Disponível em:

<http://www.agricultura.pr.gov.br/sites/default/arquivos_restritos/files/documento/2020-01/nppr_24_janeiro_2020.pdf>. Acesso em: 13 mai. 2020.

STEFANI, L.M.; BACKES, R.G.; FARIA, G.A. et al. Trimming and washing poultry carcass to reduce microbial contamination: A comparative study. **Poult. Sci.**, v. 93, p. 3119-3122, 2014.

STEFANI, L.M.; NEVES, G.B.; BRISOLA, M.C. et al. *Salmonella* Heidelberg resistant to ceftiofur and disinfectants routinely used in poultry. **Semina: Ciênc. Agr.**, v. 39, n.3, p.1029-1036, 2018.

VOSS-RECH, D.; TREVISOL I.M.; BRENTANO L. et al. – Efeito de tratamento de cama de aviária sobre a infectividade de vírus e bactérias. **A Revista do AviSite**. v. 115, p. 28-30, 2017. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/166724/1/final8594.pdf>. Acesso em: 25 maio 2020.

VOSS-RECH, D.; KRAMER, B.; SILVA, V.S. et al. Longitudinal study reveals persistent environmental *Salmonella* Heidelberg in Brazilian broiler farms. **Vet. Microb.** v. 233, p.118-123, 2019.

VON RUCKERT, D.A.S.; PINTO, P.S.A.; SANTOS, B.M. et al. Pontos críticos de controle de *Salmonella* spp. no abate de frangos. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.** v. 61, n. 2, p.326-33, 2009.

WHO – World Health Organization, **Food Safety – Key facts**. 2020. Disponível em: <<https://www.who.int/NEWS-ROOM/FACT-SHEETS/DETAIL/FOOD-SAFETY>>. Acesso em: 23 jul. 2020.

WHO – World Health Organization. *Salmonella* (non-typhoidal). 2018. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>. Acesso em: 23 jul. 2020.

ANEXO A – Comissão de Ética no Uso de Animais

Os dados referentes à pesquisa são dados secundários e confidenciais das empresas inscritas no Serviço de Inspeção Federal (SIF), cujo uso na presente pesquisa foi autorizado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, mediante a assinatura de um Termo de Compromisso de Confidencialidade e Fidedignidade, a fim de garantir que a empresa, produtor ou localização das unidades avícolas não fosse identificada (Ofício Nº 2/2019/CRISC/CGPE/DIPOA/SDA/MAPA).

ANEXO B – Normas da Revista Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia

Artigo científico - É o relato completo de um trabalho experimental. Baseia-se na premissa de que os resultados são posteriores ao planejamento da pesquisa. Seções do texto: Title (português e inglês), Authors and Affiliation (somente na "Title Page" - Step 2), Resumo, Abstract, Introduction, Material and Methods, Results, Discussion (ou Results and Discussion), Conclusions, Acknowledgements (quando houver), e References.

É recomendado que o número de páginas não deve exceder a 15, incluindo tabelas, figuras e Referências e que o número de Referências não exceda a 30.

Formatação do texto: O texto não deve conter subitens em nenhuma das seções do artigo, deve ser apresentado em arquivo Microsoft Word e anexado como "Main Document" (Step 2), no formato A4, com margem de 3cm (superior, inferior, direita e esquerda), na fonte Times New Roman, no tamanho 12 e no espaçamento de entrelinhas 1,5, em todas as páginas e seções do artigo (do título às referências), com linhas numeradas. Seções de um artigo-

Title: Em português e em inglês. Deve contemplar a essência do artigo e não ultrapassar 50 palavras.

Authors and Affiliation: Os nomes dos autores são colocados abaixo do título, com o número do ORCID (de todos os autores) e com identificação da instituição a qual pertencem. O autor e o seu e-mail para correspondência devem ser indicados com asterisco somente no "Title Page" (Step 6), em arquivo Word.

Resumo e Abstract: Deve ser o mesmo apresentado no cadastro contendo até 200 palavras em um só parágrafo. Não repetir o título e não acrescentar revisão de literatura. Incluir os principais resultados numéricos, citando-os sem explicá-los, quando for o caso. Cada frase deve conter uma informação completa.

Palavras-chave e Keywords: No máximo cinco e no mínimo duas- na submissão usar somente o Keyword (Step 3) e no corpo do artigo constar tanto keyword (inglês) quanto palavra-chave (português), independente do idioma em que o artigo for submetido.

Introduction: Explicação concisa na qual os problemas serão estabelecidos, bem como a pertinência, a relevância e os objetivos do trabalho. Deve conter poucas referências, o suficiente para balizá-la.

Material and Methods: Citar o desenho experimental, o material envolvido, a descrição dos métodos usados ou referenciar corretamente os métodos já publicados. Nos trabalhos que envolvam animais e/ou organismos geneticamente modificados deverão constar obrigatoriamente o número do Certificado de Aprovação do CEUA. (verificar o Item Comitê de Ética).

Results: Apresentar clara e objetivamente os resultados encontrados.

Tabela. Conjunto de dados alfanuméricos ordenados em linhas e colunas. Usar linhas horizontais na separação dos cabeçalhos e no final da tabela. O título da tabela recebe inicialmente a palavra Tabela, seguida pelo número de ordem em algarismo arábico e ponto (ex.: Tabela 1.). No texto, a tabela deve ser referida como Tab seguida de ponto e do número de ordem (ex.: Tab. 1), mesmo quando referir-se a várias tabelas (ex.: Tab. 1, 2 e 3). Pode ser apresentada em espaçamento simples e fonte de tamanho menor que 12 (o menor tamanho aceito é oito). A legenda de tabela deve conter apenas o indispensável para o seu entendimento, mas deve ser completa o suficiente para ser entendida independente do texto principal. As tabelas devem ser obrigatoriamente inseridas no corpo do texto de preferência após a sua primeira citação.

Figura. Compreende qualquer ilustração que apresente linhas e pontos: desenho, fotografia, gráfico, fluxograma, esquema etc. A legenda recebe inicialmente a palavra Figura, seguida do número de ordem em algarismo arábico e ponto (ex.: Figura 1.) e é citada no texto como Fig seguida de ponto e do número de ordem (ex.: Fig.1), mesmo se citar mais de uma figura (ex.: Fig. 1, 2 e 3). Além de inseridas no corpo do texto, fotografias e desenhos devem também ser enviados no formato JPG com alta qualidade, em um arquivo zipado, anexado no campo próprio de submissão, na tela de registro do artigo. As figuras devem ser obrigatoriamente inseridas no corpo do texto de preferência após a sua primeira citação.

Nota: Toda tabela e/ou figura que já tenha sido publicada deve conter, abaixo da legenda, informação sobre a fonte (autor, autorização de uso, data) e a correspondente referência deve figurar nas Referências.

Discussion: Discutir somente os resultados obtidos no trabalho. (Obs.: As seções Resultados e Discussão poderão ser apresentadas em conjunto a juízo do autor, sem prejudicar qualquer uma das partes).

Conclusions: As conclusões devem apoiar-se nos resultados da pesquisa executada e serem apresentadas de forma objetiva, sem revisão de literatura, discussão, repetição de resultados e especulações.

Acknowledgements: Não obrigatório. Devem ser concisamente expressados.

References: As referências devem ser relacionadas em ordem alfabética, dando-se preferência a artigos publicados em revistas nacionais e internacionais, indexadas. Livros e teses devem ser referenciados o mínimo possível, portanto, somente quando indispensáveis. São adotadas as normas gerais da ABNT, adaptadas para o ABMVZ, conforme exemplos:

Citações no texto -A indicação da fonte entre parênteses sucede à citação para evitar interrupção na sequência do texto, conforme exemplos: autoria única: (Silva, 1971) ou Silva (1971); (Anuário..., 1987/88) ou Anuário...

(1987/88); dois autores: (Lopes e Moreno, 1974) ou Lopes e Moreno (1974); mais de dois autores: (Ferguson *et al.*, 1979) ou Ferguson *et al.* (1979); mais de um artigo citado: Dunne (1967); Silva (1971); Ferguson *et al.* (1979) ou (Dunne, 1967; Silva, 1971; Ferguson *et al.*, 1979), sempre em ordem cronológica ascendente e alfabética de autores para artigos do mesmo ano.

Citação de citação. Todo esforço deve ser empreendido para se consultar o documento original. Em situações excepcionais pode-se reproduzir a informação já citada por outros autores. No texto, citar o sobrenome do autor do documento não consultado com o ano de publicação, seguido da expressão citado por e o sobrenome do autor e ano do documento consultado. Nas Referências deve-se incluir apenas a fonte consultada.

Comunicação pessoal. Não faz parte das Referências. Na citação coloca-se o sobrenome do autor, a data da comunicação, nome da Instituição à qual o autor é vinculado.

Periódicos (até quatro autores citar todos. Acima de quatro autores citar três autores *et al.*):

ANUÁRIO ESTATÍSTICO DO BRASIL. v.48, p.351, 1987-88.

FERGUSON, J.A.; REEVES, W.C.; HARDY, J.L. Studies on immunity to alphaviruses in foals. *Am. J. Vet. Res.*, v.40, p.5-10, 1979.

HOLENWEGER, J.A.; TAGLE, R.; WASERMAN, A. et al. Anestesia general del canino. *Not. Med. Vet.*, n.1, p.13-20, 1984.

Documentos eletrônicos (até quatro autores citar todos. Acima de quatro autores citar três autores *et al.*):

QUALITY food from animals for a global market. Washington: Association of American Veterinary Medical College, 1995. Disponível em: <<http://www.org/critca16.htm>>.

Acessado em: 27 abr. 2000.

JONHNSON, T. Indigenous people are now more combative, organized. Miami Herald, 1994. Disponível em: <<http://www.summit.fiu.edu/MiamiHerld-SummitRelatedArticles/>>. Acessado em: 5 dez. 1994.