



Universidade Federal
do Espírito Santo

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO TECNOLÓGICO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AMBIENTAL

.

**RASTREAMENTO E PREVALÊNCIA DE *SALMONELLA* SP. NA CADEIA PRODUTIVA DA
PIMENTA-DO-REINO (*Piper nigrum*) NO ESPÍRITO SANTO.**

Vitória – ES

2024



Universidade Federal
do Espírito Santo

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO TECNOLÓGICO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AMBIENTAL

**RASTREAMENTO E PREVALÊNCIA DE *SALMONELLA* SP. NA CADEIA PRODUTIVA DA
PIMENTA-DO-REINO (*Piper nigrum*) NO ESPÍRITO SANTO.**

MARIANA BARBOZA VINHA

Tese apresentada ao programa de Pós-graduação em Engenharia Ambiental, do Centro Tecnológico da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito para obtenção do título de Doutor em Engenharia Ambiental.

Orientador: Prof. Dr. Sérgio Túlio Alves Cassini

Coorientadora: Prof.^a Dra. Maristela da Silva do Nascimento

Vitória – ES

2024

Ficha catalográfica disponibilizada pelo Sistema Integrado de Bibliotecas - SIBI/UFES e elaborada pelo autor

V766r Vinha, Mariana Barboza, 1984-
RASTREAMENTO E PREVALÊNCIA DE SALMONELLA
SP. NA CADEIA PRODUTIVA DA PIMENTA-DO-REINO
(Piper nigrum) NO ESPÍRITO SANTO. / Mariana Barboza
Vinha. - 2024.
90 p. : il.

Orientador: Sérgio Túlio Alves Cassini.
Coorientadora: Maristela da Silva do Nascimento.
Tese (Doutorado em Engenharia Ambiental) - Universidade
Federal do Espírito Santo, Centro Tecnológico.

1. Contaminação ambiental. 2. Especiarias. 3. Secagem. 4.
Especiarias. 5. Boas práticas agrícolas. 6. Segurança de
alimentos. I. Cassini, Sérgio Túlio Alves. II. Nascimento,
Maristela da Silva do. III. Universidade Federal do Espírito
Santo. Centro Tecnológico. IV. Título.

CDU: 628

MARIANA BARBOZA VINHA

**RASTREAMENTO E PREVALÊNCIA DE *SALMONELLA* SP. NA CADEIA PRODUTIVA DA
PIMENTA-DO-REINO (*Piper nigrum*) NO ESPÍRITO SANTO.**

Tese apresentada ao programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para a obtenção do título de doutorado em Engenharia Ambiental na área de Saneamento.

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. Sérvio Túlio A. Cassini
Universidade Federal do Espírito Santo
Orientador

Profa. Dra. Regina de Pinho Keller
Universidade Federal do Espírito Santo
Examinador Interno

Profa. Dra. Daniele Damasceno Silveira
Universidade Federal do Espírito Santo
Examinador Interno

Prof. Dr. Jairo Pinto de Oliveira
Universidade Federal do Espírito Santo
Examinador Externo

Dr. José Aires Ventura
Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural
Examinador Externo

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, que se fez presente em todos os momentos da minha vida transmitindo-me a segurança e a força necessária para percorrer o meu caminho.

A minha Família, em especial ao meu esposo Bruno Borges Lima, por todo apoio e compreensão durante este período, compreendendo minha ausência e apoiando essa conquista.

À Fapes pelo financiamento da pesquisa

À Secretaria de Estado da Agricultura, Abastecimento, Aquicultura e Pesca e ao Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência técnica e Extensão Rural pela confiança e pela oportunidade de realizar este trabalho.

Aos Professores Dr. Sérgio Túlio A. Cassini e Dra. Maristela da Silva do Nascimento pela orientação e compartilhamento dos conhecimentos.

Aos pesquisadores Dra. Larissa Moro Bernadino e Dr. Inorbert de Melo Lima pela amizade, parceria, esforço e conhecimento compartilhado que tornaram este trabalho possível.

Ao pesquisador Dr. José Aires Ventura pelo incentivo em buscar o aperfeiçoamento profissional por meio do doutorado.

Aos professores Dra. Regina de Pinho Keller e Dr. Jairo Pinto de Oliveira pela colaboração no desenvolvimento da pesquisa e revisão dos artigos.

A Secretaria da Ciência, Tecnologia, Inovação e Educação Profissional, que através do Centro de Pesquisa, Inovação e Desenvolvimento (CPID) disponibilizou toda infraestrutura de laboratórios para o desenvolvimento da pesquisa (LACAR).

Aos colegas do Incaper, em especial a Rachel Quandt Dias e Ana Maria Mendes Penteados pela colaboração e apoio dado diante dos desafios.

Os extensionistas dos escritórios locais de desenvolvimento rural do Incaper pela realização do diagnóstico e entrevistas com os agricultores.

Aos produtores de pimenta-do-reino e responsáveis pelas empresas de exportação pela colaboração e participação neste trabalho.

Aos bolsistas que colaboraram no desenvolvimento da pesquisa, em especial à Giovanna Pires pelo apoio nas análises estatísticas, e aos colegas do LACAR pelo apoio e companheirismo.

E, finalmente, a todos que de forma direta ou indireta contribuíram para o desenvolvimento desta pesquisa.

“Temos que continuar aprendendo. Temos que estar abertos. E temos que estar prontos para espalhar nosso conhecimento a fim de chegar a uma compreensão mais elevada da realidade.” (Thich Nhat Hanh)

Dedico este trabalho à minha família, meu esposo Bruno e minhas filhas Sophia e Antônia

Resumo

A contaminação da pimenta-do-reino por *Salmonella* é um problema frequente no varejo e em remessas importadas. No entanto, são escassas as informações sobre a prevalência desse patógeno nas fases iniciais da produção da pimenta-do-reino. Este estudo buscou preencher essa lacuna na pesquisa, determinando a prevalência, quantificando, rastreando e identificando os principais sorovares de *Salmonella* presentes na pimenta-do-reino e nos ambientes de produção agrícola e beneficiamento do Espírito Santo. Amostras de pimenta preta ($n=233$) e ambientais ($n=175$) foram coletadas em fazendas ($n=354$) e plantas de processamento ($n=54$) na Região Norte do Espírito Santo, Brasil. O patógeno foi detectado no solo (16,7%), resíduos de secagem (20,4%), frutos caídos (3,7%), frutos debulhados (14,3%) e grãos de pimenta secos (22,2%) coletados em propriedades rurais avaliadas neste estudo. A *Salmonella* também foi detectada em amostras de matérias-primas (11,1%), produtos de exportação (16,7%) e resíduos de processamento (16,7%) coletados em unidades de beneficiamento que realizam a exportação da pimenta-do-reino. Foram identificados 12 sorotipos entre os 54 isolados de *Salmonella* obtidos, com maior prevalência de *Salmonella* Javiana (38,8%). De acordo com os resultados, as contaminações podem ocorrer durante a colheita da pimenta-do-reino, aumentar ou persistir ao longo da pós-colheita e permanecer nos grãos armazenados. O processamento realizado nas empresas exportadoras não foi capaz de eliminar ou reduzir essas contaminações a nível seguro, resultando na contaminação do produto destinado à exportação. A presença do patógeno no ambiente favorece a contaminação dos frutos e dos grãos ao longo do processamento, no entanto as contaminações podem ser mitigadas com a melhoria das condições de higiene durante o processamento e com a implantação das Boas Práticas Agrícolas e de Fabricação (BPA/ BPF). Mudanças no processo produtivo atual são necessárias para incluir tratamentos que possibilitem a redução e o controle dessas contaminações com objetivo de garantir a segurança do produto. A criação de políticas públicas capazes de melhorar o saneamento rural, difundir a implantação das boas práticas agrícolas e aprimorar as tecnologias de processamento são fundamentais para promover as mudanças necessárias que resultarão na segurança da pimenta-do-reino produzida no Espírito Santo.

Palavras-chave: Especiarias, contaminação ambiental, secagem, boas práticas agrícolas e segurança de alimentos.

Abstract

Contamination of black pepper with *Salmonella* is a frequent problem in retail and imported shipments. However, there is scarce information about the prevalence of the pathogen in the initial stages of black pepper production chain. This study sought to bridge this gap in research by determining the prevalence, as well as quantifying, and identifying the main *Salmonella* serovars present during black pepper primary production and processing. Black pepper (233) and environmental (175) samples were collected from farms (354) and processing plants (54) in Espírito Santo, Brazil. The pathogen was detected in soil (16.7%), drying waste (20.4%), fallen berries (3.7%), threshed berries (14.3%), and dried peppercorns (22.2%) collected from farms. *Salmonella* was also detected in samples of raw material (11.1%), export products (16.7%), and processing waste (16.7%) collected from processing plants. A total of 12 serotypes were identified, and *Salmonella* Javiana showed the highest prevalence (38.8%). According to the results, contaminations can occur during black pepper harvest and post-harvest, increase or persist throughout post-harvest and remain in the grains produced on rural properties. The processing performed by exporting companies did not eliminate or reduce these contaminations to a safe level, resulting in contamination of the product intended for export. The presence of the pathogen in the environment increases the risk of contamination of the fruits and pepper grains during processing. However, this risk can be reduced by improving hygiene practices during processing and by adopting Good Agricultural Practices (GAP) and Good Manufacturing Practices (GMP). To ensure product safety, it is essential to prevent contaminations and to make changes to the current production process, including the implementation of treatments that reduce and control contamination. Public policies aimed at improving rural sanitation, promoting the adoption of GAP, and advancing processing technologies are crucial for driving the necessary changes that will ensure the safety of black pepper produced in Espírito Santo.

Keywords: spices, environmental contamination, drying, good practices and food safety

Lista de Figuras:

Figura 1. Fluxograma de produção da pimenta-do-reino e os principais agentes da cadeia de produção no Espírito Santo.....	19
Figura 2. Relação entre ambiente agrícola e hospedeiros na ecologia de Salmonella.....	25
Figura 3. Produção anual de pimenta-do-reino (t) e número de notificações no sistema de Alerta Rápido para Alimentos e Rações (RASFF) pela presença de Salmonella emitidas para pimenta-do-reino brasileira entre 2012 e 2024.	38
Figura 4. Ocorrência dos principais sorotipos de Salmonella em pimenta-do-reino brasileira importada por países da União Europeia por ano de notificação (2019 - 2022)	40
Figura 5. Localização das propriedades rurais no Estado do Espírito Santo monitoradas no estudo.....	45
Figura 6. Resumo da metodologia adotada na coleta das amostras de pimenta-do-reino e ambientais para rastreio das contaminações por Salmonella.	46
Figura 7. Colônias de Salmonella em ágar XLD e resultado de teste bioquímicos para dois isolados distintos (a) Colônias típicas, (b) Colônias com baixa produção de H ₂ S, (c) Colônias atípicas, (d) Perfil bioquímico de Salmonella	48
Figura 8. Contagem de E. coli e coliformes em Petrifilm EC 6404 (3M, Minnesota, EUA), E. coli: colônias azuis com gás, coliforme totais: colônias vermelhas e azuis com gás.....	49
Figura 9. Analisador de atividade de água (Labswift, Novasina, Suíça).....	50
Figura 10. Frequência de propriedades por produção anual de pimenta-do-reino (t/ ano).....	51
Figura 11. Destinação dos resíduos nas propriedades rurais. (a) Acúmulo de resíduos sólidos nas proximidades das áreas de secagem, (b) Despejo de esgoto doméstico a céu aberto com risco de contaminação da água de irrigação.	52
Figura 12. Frequência de uso de adubo orgânico em lavouras de pimenta-do-reino	52
Figura 13. Irrigação de lavouras de pimenta-do-reino. (a) Captação superficial de água para uso agrícola (irrigação e pulverização), (b) Sistema de irrigação por microjet implantado em lavoura de pimenta-do-reino	53
Figura 14. Colheita da pimenta-do-reino. (a) Colheita manual dos frutos na planta, (b) Utensílios utilizados na colheita, (c) Frutos maduros caídos sob o solo, (d) Frutos secos e maduros coletados no solo das lavouras, (e) presença de animais no campo no período da colheita	54
Figura 15. Debulha da pimenta-do-reino. (a) Pimenta-do-reino armazenada para ser debulhada, (b) Equipamento utilizado para debulhar a pimenta-do-reino	55
Figura 16. Sistemas de secagem da pimenta-do-reino adotado no norte do Espírito Santo, (a) secagem em terreiro, (b) secagem em estufa e (c) secagem em secador de aquecimento direto.	55
Figura 17. Equipamentos em condições impróprias de higiene, com acúmulo de pimenta-do-reino de processamentos anteriores ou de resíduos de secagem.	56
Figura 18. Condições de armazenamento dos grãos de pimenta-do-reino nas propriedades rurais	57
Figura 19. Origem das amostras conforme o sistema de secagem adotada.	58
Figura 20. Valores de $p < 0,05$ indicam que há diferença significativa entre a ocorrência de Salmonella nos grupos confrontados pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis e Dunn.	60

Figura 21. Resultados da análise de componentes principais por kernel (Kernel PCA) aplicada à ocorrência de Salmonella em amostras de pimenta-do-reino e ambientais (matriz) separados por tipo de secagem.	62
Figura 22. Resultados da análise de componentes principais por kernel (Kernel PCA) aplicada à ocorrência de Salmonella em amostras de pimenta-do-reino e ambientais (matriz) separados por produtor.	63
Figura 23. Atividade de água (aw) de grãos de pimenta-do-reino provenientes de diferentes métodos de secagem.	64

Lista de tabelas

Tabela 1: Prevalência de Salmonella em água de irrigação em diferentes países no período de 2014 a 2024.....	29
Tabela 2. Prevalência de Salmonella em solos modificados e não modificados com base em estudos realizados em diferentes regiões entre 2014 – 2024	32
Tabela 3. Identificação dos sorotipos de Salmonella presentes em remessas de pimenta-do-reino brasileira importada por países da União Europeia entre 2019 e 2022.....	39
Tabela 4. Prevalência de Salmonella especiarias comercializadas em diferentes países com base em estudos realizados entre 2009 e 2024.	41
Tabela 5. Prevalência de Salmonella em pimenta-do-reino importada e comercializada em diferentes países (2009 - 2023)	42
Tabela 6. Prevalência, contagem e sorotipos de Salmonella em diferentes etapas da produção primária e ambiente de produção da pimenta-do-reino.	59
Tabela 7. Prevalência e contagem de Salmonella no ambiente agrícola e na pós-colheita da pimenta-do-reino em propriedades rurais que adotam diferentes métodos de secagem.	61
Tabela 8. Origem da captação, percentual de ocorrência, percentual de amostras impróprias para irrigação e quantificação de <i>E. coli</i> em água de irrigação oriunda das nove propriedades estudadas.....	64
Tabela 9. Tipo de secagem, Percentual de ocorrência, percentual de amostras impróprias para o consumo e quantificação de <i>E. coli</i> em pimenta-do-reino em grão oriunda das nove propriedades estudadas.....	65
Tabela 10. Ocorrência e contagem de Salmonella matéria-prima, produto e resíduo do beneficiamento da pimenta-do-reino destinada à exportação	66
Tabela 11. Ocorrência e contagem de <i>E. coli</i> em matéria-prima e pimenta-do-reino destinada à exportação.....	66

Sumário

Sumário

1. INTRODUÇÃO	14
2. DEFINIÇÃO DO PROBLEMA CIENTÍFICO	16
3. OBJETIVOS	17
3.1. Objetivos específicos	17
4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
4.1. Produção de pimenta-do-reino	18
4.2. Surtos de salmonelose associados a consumo de especiarias	21
4.3. <i>Salmonella enterica</i>	22
4.4. Contaminações na pré-colheita	25
4.4.1. Presença de animais em campos agrícolas.....	26
4.4.2. Contaminação da água de irrigação.....	28
4.4.3. Irrigação com águas residuais.....	31
4.4.4. Contaminação do solo agrícola.....	31
4.5. Contaminação na pós-colheita e beneficiamento	34
4.6. <i>Salmonella</i> em especiarias importadas e no mercado varejista	37
5. METODOLOGIA	44
5.1. Caracterização do estudo	44
5.2. Caracterização da produção, triagem e seleção das propriedades	44
5.3. Monitoramento de <i>Salmonella</i>	44
5.3.1. Monitoramento das contaminações nas propriedades rurais.....	44
5.3.2. Monitoramento das contaminações nas unidades de beneficiamento.....	45
5.4. Detecção, quantificação e tipificação de <i>Salmonella</i>	47
5.5. Detecção e quantificação de <i>Escherichia coli</i>	49
5.6. Determinação da atividade de água	50
5.7. Análise estatística	50
6. RESULTADOS	51
6.1. Caracterização da produção, triagem e seleção das propriedades	51
6.1.1. Caracterização da produção.....	51
6.1.2. Destinação dos resíduos gerados na propriedade.....	51
6.1.3. Práticas agrícolas adotadas no cultivo da pimenta-do-reino.....	52
6.1.4. Triagem e seleção das propriedades.....	58
6.2. Monitoramento da <i>Salmonella</i> no ambiente de produção agrícola	58
6.2.1. Monitoramento do patógeno nas propriedades rurais.....	59

6.2.2. Monitoramento do patógeno no beneficiamento	65
7. DISCUSSÃO	67
8. CONCLUSÕES.....	74
REFERÊNCIAS	75
APÊNDICE A - Questionário utilizado para realização do diagnóstico nas propriedades	88

1. INTRODUÇÃO

A contaminação de especiarias por microrganismos patogênicos é relatada em diversas partes no mundo (OGUR, 2022; SAGOO et al., 2009; ZHANG, G. et al., 2017). A pimenta-do-reino é a especiaria mais utilizada no mundo e, embora consumida em pequena quantidade, apresenta grande relevância para saúde pública por estar presente em diversos alimentos com ampla distribuição geográfica (SZŰCS et al., 2018; ZWEIFEL; STEPHAN, 2012). A presença de *Salmonella* sp na pimenta-do-reino seca foi constatada nos Estados Unidos (Van Doren et al., 2013; Zhang et al., 2015), Reino Unido (SAGOO et al., 2009), Turquia (HAMPIKYAN et al., 2009; KARA et al., 2015; OGUR, 2022), Romênia (GYÖRGY et al., 2021), Japão (HARA-KUDO et al., 2006) e Brasil (COSTA et al., 2020; MATOSINHOS et al., 2020; MOREIRA et al., 2009; VASCONCELOS NETO et al., 2009). Essas contaminações representam risco à saúde pública, caso o produto não receba tratamento adequado, e trazem prejuízos econômicos que refletem em toda cadeia produtiva (KELLER et al., 2013; SAGOO et al., 2009).

O Brasil é o segundo maior produtor mundial de pimenta-do-reino, responsável pela produção de 128 mil toneladas em 2022 (IBGE, 2023). O principal destino da produção é o comércio internacional, com um volume de exportação de 116,5 mil toneladas em 2023, gerando uma receita de 337 mil dólares (FAO, 2023; MDIC, 2022). Os principais destinos da pimenta-do-reino brasileira são os países da União Europeia, Vietnã e Estados Unidos (FAO, 2023; MDIC, 2022). O Espírito Santo é o maior produtor nacional de pimenta-do-reino com produção de 76,5 mil toneladas em 19,47 hectares de área colhida (IBGE, 2023). A produção da pimenta-do-reino desempenha um importante papel na ocupação da mão de obra, geração de renda e no desenvolvimento socioeconômico da região do Norte do Estado. É composta por pequenos e médios agricultores que comercializam sua produção para cooperativas ou empresas privadas, que por sua vez, comercializam o produto no mercado interacional. O alto rendimento por área possibilita a implantação do cultivo em pequenas propriedades, o que torna a cultura uma importante alternativa de renda para agricultores familiares da região. Estima-se que 80% da área de plantio encontra-se em propriedades rurais de base familiar, o que reforça a importância desta atividade para a distribuição da renda no meio rural (ESPÍRITO SANTO, 2023).

Surtos de salmonelose ocasionado pelo consumo de especiarias contaminadas foram relatados na União Europeia e Estados Unidos (VAN DOREN, J.; NEIL; et al., 2013; ZWEIFEL; STEPHAN, 2012). Para reduzir os riscos de introdução da *Salmonella* em seus territórios, esses países implantaram sistemas de monitoramento e controle da qualidade de alimentos importados, que incluem o monitoramento de *Salmonella* em remessas de especiarias importadas (RASFF, 2022; VAN DOREN, J.; KLEINMEIER; et al., 2013; ZHANG, G. et al., 2017). Contaminações por *Salmonella* identificadas com frequências em pimenta-do-reino brasileira exportada para União Europeia resultou na adoção de controles especiais para entrada do produto nos países membros em 2019. A persistente e elevada taxa de detecção do patógeno após a adoção desses controles demonstrou que a importação de pimenta-do-reino brasileira constitui um grave risco para a saúde humana, justificando o estabelecimento de controles ainda mais rigorosos para importação do produto em 2021 (EUROPEAN UNION, 2019, 2021, 2022).

Essas ações tiveram um grande impacto no destino das exportações de pimenta-do-reino, com redução das exportações para os países da União Europeia e aumento das exportações para o Vietnã, que é um mercado de menor valor agregado (MDIC, 2022).

Contaminações por *Salmonella* sp. em pimenta-do-reino podem ocorrer durante o cultivo e a pós-colheita nas propriedades rurais, no beneficiamento em empresas exportadoras e durante o transporte até o país de destino (KELLER et al., 2013). Podem ocorrer também no país importador, nos postos de importação, no processamento e armazenamento nas indústrias de alimentos e no comércio varejista (ZHANG, G. et al., 2017). *Salmonella* não é capaz de se multiplicar na pimenta-do-reino quando a atividade de água (a_w) é inferior a 0,96, mas pode sobreviver por longos períodos e provocar surtos (KELLER et al., 2013). Portanto, medidas para evitar e reduzir essas contaminações devem ser adotadas ao longo do processo do campo à mesa, disponibilizando produtos mais seguros ao consumo e reduzindo o número de surtos alimentares.

Estudos sobre a prevalência de *Salmonella* em remessas de pimenta-do-reino importadas e no varejo são frequentes na literatura, porém, há uma lacuna de conhecimento sobre a prevalência do patógeno nas etapas de pré e pós-colheita, no ambiente agrícola e no beneficiamento do produto destinado à exportação. Considerando a importância socioeconômica do cultivo da pimenta-do-reino para o Espírito Santo e o impacto econômico negativo das contaminações por *Salmonella* nesta cadeia produtiva, torna-se necessário avaliar a ocorrência do patógeno na pimenta-do-reino produzida e rastrear sua ocorrência nas diferentes etapas de produção para identificar a origem dessas contaminações de modo a fundamentar estratégias e políticas públicas direcionadas a prevenção, monitoramento e controle do patógeno em sistemas de produção da pimenta-do-reino no Brasil.

2. DEFINIÇÃO DO PROBLEMA CIENTÍFICO

Salmonella presente no ambiente de produção pode contaminar os frutos de pimenta-do-reino durante o cultivo e a pós-colheita e os grãos durante o beneficiamento, sobreviver ao processamento e permanecer viável nos grãos destinados à comercialização, mesmo quando os frutos são submetidos à diferentes processos de secagem?

Hipóteses:

A presença de *Salmonella* em água, solo e resíduos da secagem e beneficiamento aumenta a probabilidade de contaminação dos frutos e dos grãos de pimenta-do-reino após a colheita. A secagem em secador mecânico a temperaturas superiores a 100°C pode reduzir as contagens do patógeno durante o processamento obtendo-se menor frequência de detecção do patógeno em grãos oriundos de secadores quando comparado às frequências de detecção de *Salmonella* em grãos secos em terreiros e estufas.

3. OBJETIVOS

Determinar a prevalência de *Salmonella* spp. na pimenta-do-reino produzida no Espírito Santo, quantificar, rastrear e identificar os principais sorovares presentes na pimenta-do-reino e nos ambientes de produção agrícola e beneficiamento.

3.1. Objetivos específicos

- Caracterizar a produção e identificar as principais práticas adotadas na produção da pimenta-do-reino nas propriedades rurais,
- Determinar a ocorrência de *Salmonella* na pimenta-do-reino produzida no Espírito Santo
- Detectar e quantificar *Salmonella* spp. em amostras ambientais (água, solo e resíduos do processamento) e em pimenta-do-reino em diferentes etapas de produção,
- Identificar as principais espécies e sorovares isoladas da pimenta-do-reino e do seu ambiente de produção.
- Identificar a(s) etapa(s) em que ocorrem a maior probabilidade de contaminação da pimenta-do-reino.

4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1. Produção de pimenta-do-reino

A pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.) é uma das especiarias mais consumidas no mundo devido ao seu sabor e aroma diferenciados. Os principais produtores de pimenta-do-reino são Vietnã, Brasil, Indonésia e Índia, que juntos respondem por 72,2% da produção mundial. O Vietnã é o maior produtor, responsável por 36,1% da produção que equivale a 270 mil toneladas. O Brasil é o segundo maior produtor, responsável por 128 mil toneladas, que representam 15,3% da produção mundial (FAO, 2023; IBGE, 2023). Em 2023, o Brasil exportou cerca de 116,5 mil toneladas de pimenta-do-reino que geraram a receita de aproximadamente US\$ 337 milhões. Os principais destinos da pimenta-do-reino brasileira são a União Europeia, o Vietnã e os países da África. No cenário nacional, os principais estados produtores de pimenta-do-reino são Espírito Santo (59,6%), Pará (32,8%) e Bahia (6,5%), que juntos são responsáveis por 98,5% da produção nacional (IBGE, 2023; MDIC, 2022).

Atualmente, o Espírito Santo é o maior produtor nacional de pimenta-do-reino com produção de 76,5 mil toneladas em 19.447 hectares de área colhida, com um rendimento de 3.935 quilogramas por hectare, valor superior à média nacional (IBGE, 2023). A maior parte da pimenta produzida no Estado é destinada exportação, uma vez que o consumo interno dessa especiaria no Brasil é muito baixo. Em 2023, o Espírito Santo foi o estado com maior representatividade nacional na exportação de especiarias (62,8%), o que gerou uma receita de US\$ 212 milhões (MDIC, 2022). O alto rendimento por área possibilita a implantação do cultivo em pequenas propriedades, o que torna a cultura uma importante alternativa de renda para agricultores familiares da região. Estima-se que haja 11.500 produtores de pimenta-do-reino no estado e que 80% da área de plantio encontra-se em propriedades rurais de base familiar (SILVA, A.; SECUNDINO, 2016). Neste cenário, a pipericultura desempenha um importante papel no desenvolvimento socioeconômico da região do Norte do Estado, por proporcionar ocupação da mão de obra, geração e distribuição local da renda, melhoria da qualidade de vida e permanência das futuras gerações na propriedade familiar.

A introdução da pimenta-do-reino no Brasil ocorreu no século XVII no Estado da Bahia, seguida pelos estados da Paraíba, Maranhão e Pará. No entanto explorações comerciais só vieram a ocorrer em 1933, com a introdução da cultivar Cingapura na cidade de Tomé-Açu no Pará, e melhorias na tecnologia de produção como adubação e uso de tutores mortos. No Espírito Santo, mudas oriundas do Pará foram introduzidas em Linhares, no entanto, lavouras comerciais surgiram na década de 1970 em São Mateus, impulsionadas pela política de erradicação do café (MILANEZ; VENTURA; FANTON, 1987). Atualmente, lavouras comerciais são encontradas em 31 dos 78 municípios capixabas, com plantios concentrados nas regiões mais quentes no norte do Estado, com destaque para os municípios de São Mateus, Jaguaré, Vila Valério, Boa Esperança e Nova Venécia. A expansão das lavouras tem relação direta com o mercado internacional, pois a pimenta-do-reino é uma *commodity* e seu preço está atrelado ao dólar. O aumento expressivo da produção e da área cultivada ocorreu a partir de 2013

impulsionado aumento de preço do produto no mercado internacional, o que tornou a atividade altamente rentável aos produtores rurais e resultou em grande incremento tecnológico com expansão do uso da irrigação, melhoria de tratos culturais e melhoria do manejo fitossanitário (SILVA, A.; SECUNDINO, 2016).

A cadeia produtiva da pimenta-do-reino é composta por lojas de revenda de insumos para produção, porém a presença de fornecedores locais de tecnologia (genética e de inovação), máquinas e equipamentos ainda é incipiente. O plantio e o beneficiamento ocorrem em pequenas e médias propriedades e, em menor grau, em grandes propriedades. A agregação de valor à produção é baixa, na região não há indústrias químicas, farmacêuticas e cosméticas que utilizem a pimenta-do-reino e seus derivados como matéria-prima. A industrialização do produto fica a cargo da indústria de alimentos e de condimentos, com maior relevância das empresas responsáveis pela secagem e comercialização da pimenta-do-reino em grão. Os agentes comerciais e de mercado são bem presentes na cadeia, especialmente representados pelas *trades* de exportação (ESPÍRITO SANTO, 2023).

O fruto da pimenteira-do-reino pode ser beneficiado de forma a obter três tipos diferentes de pimenta: a pimenta preta, a pimenta branca e pimenta verde, conservada em salmoura ou liofilizada. No Brasil, a maior parte da produção é de pimenta-do-reino preta, também conhecida como pimenta-do-reino em grão (SERRANO; NOVAK; LIMA, 2008). A Figura 1 representa o fluxograma das principais etapas da produção da pimenta-do-reino em grão e os agentes envolvidos na produção e comercialização do produto destinado a exportação.

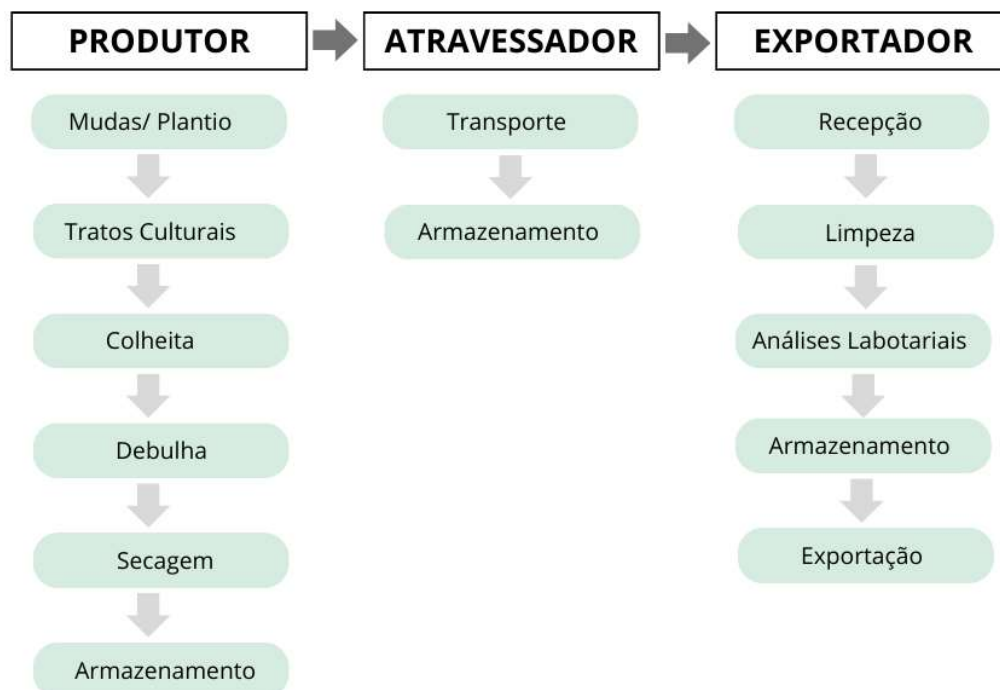


Figura 1. Fluxograma de produção da pimenta-do-reino e os principais agentes da cadeia de produção no Espírito Santo

Fonte: elaborada pela autora

Em 2006, as principais cultivares plantadas eram Bragantina, Içará, Cingapura, Guajarina e Kottanadan (SERRANO; LIMA; MARTINS, 2006), mas atualmente prevalece a Bragantina e em menor quantidade a Kottanadan. A florada da pimenteira ocorre a partir da estação chuvosa, momento em que cada nova folha dos ramos plagiotrópicos é seguida de um cacho que se apresenta no mesmo plano que a folha, porém em lado oposto. O pico da florada ocorre entre janeiro e março e a maturação dos cachos ocorre entre oito e seis meses após a florada (SERRANO; LIMA; MARTINS, 2006). Mudanças das condições climáticas tem alterado as o pico de colheita, que acontecia dentre outubro e novembro, mas ocorreram entre maio e agosto nas safras de 2022 e 2023.

A colheita da pimenta-do-reino é realizada quando os frutos estão completamente desenvolvidos, apresentando coloração verde clara, amarelo ou vermelha. A colheita é realizada manualmente e os cachos colhidos são colocados em baldes ou sacos de aniagem. A pimenta-do-reino em grão é obtida a partir de frutos completamente desenvolvidos, nos estádios de maturação “de vez” e maduro (SERRANO; LIMA; MARTINS, 2006). Após a colheita, os frutos ficam armazenados nos sacos até serem debulhadas e este tempo de armazenamento pode comprometer a qualidade do produto caso haja multiplicação de fungos e bactérias. O processo de debulha ocorre em debulhadora mecânica, que separa os grãos da espiguetta através de uma chapa perfuradora, separando também sujidades maiores (SERRANO; NOVAK; LIMA, 2008).

A secagem da pimenta pode ocorrer por processo natural ou mecânico. A secagem natural ocorre em terreiros ou estufas e o tempo de secagem dependem das condições climáticas. Nos terreiros, a pimenta é espalhada em camadas finas e permanece exposta ao sol durante 3 a 5 dias, conforme as condições climáticas. Durante a noite, a pimenta-do-reino é aglomerada em montes que são cobertos por lona para evitar absorção de umidade. A secagem em estufa é semelhante à secagem em terreiro, no entanto a pimenta-do-reino é seca sob uma estrutura plásticas que retém o calor e protege o produto de chuva e orvalho. A secagem mecânica é realizada em equipamentos onde o ar quente, oriundo de uma fonte de calor, é forçado a passar pela massa de grãos, removendo a sua umidade. O tipo de secador varia conforme o tipo de fornalha, que pode ser de aquecimento direto ou indireto (VINHA; LIMA; SECUNDINO, 2017).

A secagem mecânica tem a vantagem de reduzir o tempo de secagem, viabilizar a secagem em regiões úmidas ou períodos de chuvas e reduzir a interferência de condições climáticas sobre o processo. O uso de secador de tambor rotativo, adaptado da secagem café, é comum na região, principalmente em propriedades com grandes volumes produção. Quanto ao tipo de fornalha, os secadores podem ser do tipo “fogo direto” ou “fogo indireto”. Os secadores de “fogo direto” trabalham com temperaturas em torno de 180°C e gastam cerca de 25 horas para secagem de 12 toneladas do produto. Já os secadores de “fogo indireto” trabalham a temperaturas menores, em torno de 100°C, e levam cerca de 36 horas para secagem (SERRANO; NOVAK; LIMA, 2008; SOUSA et al., 2024). Os secadores de “fogo direto” permitem menor tempo de secagem e não dependem das condições climáticas, no entanto, as altas

temperaturas adotadas podem acarretar perda de compostos voláteis e impregnação de odor de fumaça no produto (VIEIRA et al., 2022).

Os pimenta-do-reino em grão é acondicionada em sacarias e armazenadas nas propriedades rurais onde permanecem até a comercialização. Os atravessadores compram a pimenta-do-reino dos produtores e comercializam para as empresas de exportação. As empresas de exportação adquirem a pimenta-do-reino em grãos dos atravessadores ou direto dos agricultores, realizam limpeza, padronização e classificação do produto para então comercializá-lo no mercado internacional (ESPÍRITO SANTO, 2023). Nessas empresas a matéria-prima passa por avaliação de umidade e peso em hectolitro e posteriormente é submetida ao processo de limpeza mecânica para retirada das impurezas. Depois de limpa a pimenta-do-reino é classificada e acondicionadas em sacos de ráfia ou bags, que são separados por lotes submetidos a análises laboratoriais para controle da qualidade. O produto é então armazenado e comercializado no mercado internacional (SERRANO; NOVAK; LIMA, 2008).

4.2. Surtos de salmonelose associados a consumo de especiarias

As doenças de origem alimentar configuram importante causa de morbidade, mortalidade e dificultam o desenvolvimento socioeconômico em todo o mundo. Apesar de muitos esforços para prevenir e controlar a salmonelose transmitida por alimentos, o patógeno continua sendo uma das principais causas de gastroenterite humana. *Salmonella enterica* não tifoide é um patógeno emergente e uma grande preocupação em diferentes regiões do mundo (WHO, 2015). Nos Estados Unidos, *Salmonella* foi o principal agente etiológico de surtos alimentares ocorridos entre 2016 e 2021. Em 2021, foi responsável por 16 surtos multiestaduais, com 1.611 indivíduos doentes, 408 hospitalizações e quatro óbitos (CDC, 2023). Na Europa, *Salmonella* foi a segunda principal agente etiológico causador de gastroenterite de origem alimentar, com 65.208 casos, 11.297 hospitalizações e taxa de letalidade de 0,22%. A tendência geral das infecções por *Salmonella* manteve-se estável na Europa no período 2018 a 2022 (EFSA, 2022). No Brasil, foram notificados 250 surtos causados por bactérias do gênero *Salmonella* entre 2010 e 2019, incluindo sorotipos tifoïdes e não tifoïdes (ANVISA, 2020).

Surtos de salmonelose relacionados ao consumo de especiarias acometeram mais de 1.700 indivíduos em países como Estados Unidos, Canadá, Noruega, Inglaterra, Dinamarca e Alemanha (VAN DOREN, J.; NEIL; et al., 2013; ZWEIFEL; STEPHAN, 2012). *Salmonella enterica* subespécie *enterica* foi responsável por 87% das doenças e 71% (10/14) dos surtos alimentos associados ao consumo de ervas e especiarias ocorridos entre 1973 a 2010 nos Estados Unidos. Pimenta-do-reino preta e branca, pimenta vermelha, páprica, curry, erva doce, sementes de anis e mistura de especiarias foram atribuídos aos surtos provocados pelos sorotipos: Senftenberg (2), Agona (1), Braenderup (1), Enteritidis (1), Javiana (1), Montevidéu (1), Oranienburg (1), Rissen (1), Rubislaw (1), Saintpaul (1), Typhimurium (1), Wandsworth (1) e Weltevreden (1). Pimenta-do-reino preta e branca foram responsáveis por metade dos surtos de Salmonelose relatados por VAN DOREN, J.; NEIL; et al., (2013).

O primeiro relato de surto provocado pelo consumo de especiarias foi atribuído ao consumo de pimenta-do-reino, ocorreu no Canadá entre dezembro de 1973 e maio de 1974 e acometeu 17 pessoas. O patógeno foi identificado como *Salmonella* Weltevreden isolada em amostras clínicas de pacientes e de pimentas coletadas em suas residências (WHO, 1974). O maior surto de salmonelose associado a especiarias ocorreu em 1993 na Alemanha, com mais de 1.000 casos e foi provocado pelo consumo de batatas fritas fabricadas com páprica contaminada com três sorotipos Saintpaul, Javiana e Rubislaw. Mesmo em baixas contagens (0,04-0,45 NMP/g), *Salmonella* pode provocar surtos em larga escala quando presente em produtos com baixa aw (LEHMACHER; BOCKEMUHL; ALEKSIC, 1995). Entre 2009 e 2010, nos Estados Unidos, um surto de salmonelose acometeu 272 indivíduos e provocou a hospitalização de 52, em 44 estados e no distrito de Columbia. O surto foi atribuído ao consumo de embutidos produzidos com pimenta-do-reino preta e pimenta vermelha contaminadas por *Salmonella* Montevideu, pela adição desses após a fermentação e cura (GIERALTOWSKI et al., 2013). Na Suécia, um dos maiores surtos de salmonelose ocorreu entre 2014 e 2015 e foi atribuído ao consumo de duas marcas de uma mistura de especiarias contaminadas por *Salmonella* Enteritidis (JERNBERG et al., 2015). Recentemente, suspeita-se que pimenta-do-reino seja o veículo de um surto provocado por *Salmonella* Schwarzengrund em países europeus (EFSA; ECDC, 2023).

Especiarias desidratadas apresentam baixa aw (< 0,85) e por esse motivo não suportam o crescimento de bactérias patogênicas, sendo consideradas seguras durante muitos anos. No entanto, essas bactérias são capazes de sobreviver nesses alimentos por longos períodos e provocar surtos à medida que são consumidos (LIU, S. et al., 2022). *Salmonella* é capaz de sobreviver por mais de 280 dias, possivelmente anos, em pimenta-do-reino com aw inferior a 0,97 armazenada a 25°C e 35°C (KELLER et al., 2013). Esta sobrevivência prolongada aumenta o risco de exposição, uma vez que especiarias possuem extensa vida de prateleira e podem ser consumidas ao longo deste tempo (COULOMBE; TAMBER, 2022). Contaminações em ingredientes secos geralmente ocorrem em baixas concentrações e são distribuídas de forma heterogênea, o que torna mais difícil a detecção dos patógenos (GIERALTOWSKI et al., 2013). Embora consumidas em pequenas quantidades, as especiarias são utilizadas em diversas preparações culinárias, produtos prontos para consumo e alimentos industrializados, alcançando muitos consumidores em várias regiões geográficas. Diante desses fatos as especiarias desempenham um papel relevante na transmissão de patógenos alimentares e sua segurança é de fundamental importância na avaliação de risco para ingestão de contaminantes e para proteção da saúde pública (SZÚCS et al., 2018).

4.3. *Salmonella enterica*

A *Salmonella* é uma bactéria Gram-negativa, móvel, em forma de bastonete e anaeróbia facultativa. A maioria delas fermentam a lactose, produzem sulfeto de hidrogênio, são oxidase negativa, catalase positiva, crescem em citrato como única fonte de carbono, descarboxilam a lisina e hidrolisam ureia (ANDINO; HANNING, 2015). O gênero *Salmonella*

pertence à família *Enterobacteriaceae* e engloba duas espécies: *Salmonella bongori* e *Salmonella enterica*. *Salmonella bongori* não possui subespécies e raramente é associada à infecção humana, já a *Salmonella enterica* possui seis subespécies: *S. enterica* subsp. *enterica* (I), *S. enterica* subsp. *salamae* (II), *S. enterica* subsp. *arizonae* (IIIa), *S. enterica* subsp. *diarizonae* (IIIb), *S. enterica* subsp. *housteane* (IV) e *S. enterica* subsp. *indica* (VI). A subespécie *enterica* (I) infecta principalmente animais de sangue quente, enquanto as demais subespécies (II-VI) são mais comuns em animais de sangue frio e no ambiente. Sorotipos da subespécie *enterica* (I) são associados a 99% das infecções por *Salmonella* em humanos (BRENNER et al., 2000). Até 2019, mais de 2.600 sorotipos de *Salmonella enterica* foram identificados, a maior parte deles (1.600) pertence a subespécie *enterica*. Embora a subespécie I apresente cerca de 1.600 sorotipos, apenas 20 deles são isolados com maior frequência e estão relacionados a 70% dos surtos de salmonelose (ELNEKAVE et al., 2020).

Bactérias do gênero *Salmonella* compartilham perfis bioquímicos comuns e um alto nível de similaridade genética, o que facilita a identificação do gênero, no entanto, a identificação das espécies e seus sorotipos requer recursos adicionais e conhecimentos especializados (AGBAJE et al., 2011). Identificar e nomear o sorotipo é necessário para gestão clínica dos casos e para prevenir e controlar surtos com a identificação de alimentos contaminados e das fontes e origem da contaminação (IBRAHIM; MORIN, 2018; YOSHIDA et al., 2016). É importante também para o controle das commodities agrícolas, alimentos e rações pela triagem de remessas contaminadas com sorotipos vinculados a surtos em humanos ou presentes no ambiente e em insumos utilizados em sua produção (GUARD, 2022). Portanto, a sorotipificação dos isolados de *Salmonella* desempenha um papel fundamental para a saúde pública e para garantir o abastecimento com alimentos seguros.

A nomenclatura e taxonomia da *Salmonella* é complexa e baseia-se na caracterização antigênica dos sorotipos conforme esquema de White–Kauffmann–Le Minor (KWS). O método tradicional de sorotipificação baseia-se no uso de anticorpos específicos para antígenos da parede celular (O) e dos flagelos de fase 1 e fase 2 (H), que combinados resultam na fórmula antigênica (O:H1:H2) característica de cada sorotipo (AGBAJE et al., 2011; CHATTAWAY; LANGRIDGE; WAIN, 2021). Os sorovares das espécies bacterianas são caracterizados apenas por sua fórmula antigênica, no entanto, os sorovares da subespécie *Salmonella enterica* subsp. *enterica* (subespécie I) são nomeados. O nome do gênero é mencionado e seguido pela palavra "sorovar" (abreviado como "sor.") e, em seguida, o nome do sorovar, por exemplo, *S. enterica* subsp. *enterica* sorovar (ou sor.) Panamá. Para evitar confusão entre sorovares e espécies os nomes dos sorovares não são escritos em itálico, iniciam-se com letra maiúscula e não deve ser precedido de abreviação do gênero (AGBAJE et al., 2011). O uso continuado de nomes históricos e a padronização dessa nomenclatura pelos Centros de Controle e Prevenção de Doenças de diferentes países são necessários para melhorar a comunicação internacional e a compreensão da associação biológica, clínica, de transmissão e de surtos de salmonelose provocados pelos sorovares da subespécie I.

A tipagem baseada em métodos fenotípicos é um método eficiente, mas não permite avaliar a relação genética entre os sorovares, não fornecem uma perspectiva evolutiva e não diferencia sorovares polifiléticos, limitando seu uso no rastreamento das fontes de contaminação (ELNEKAVE et al., 2020). Essas limitações podem ser superadas com uso de métodos moleculares como tipagem de sequência multilocus (MLST) e sequenciamento do genoma completo (WGS). O WGS é o método molecular mais moderno, capaz de fornecer informações sobre identidade de espécies, sorotipo, virulência e genótipos de resistência antimicrobiana em uma única abordagem, o que aumenta sua eficiência na elucidação de surtos e atribuição de fontes de contaminação (ASHTON et al., 2016; ELNEKAVE et al., 2020). Métodos moleculares para determinação de sorotipos baseados nos genes *rfb*, responsáveis pela expressão fenotípica do antígeno O, e dos genes *fliC* e *fliB*, que expressam o antígeno H fases 1 e 2, permitem uma interface com o KWS e possibilita maior rapidez na tipagem de *Salmonella* (ZHANG, Shaokang et al., 2019). Essa ligação bem estabelecida entre os tipos de sequências e sorovares apresenta uma oportunidade de atualizar o esquema, incorporando dados de sequência filogeneticamente relevantes sem grandes modificações na nomenclatura já consolidada (CHATTAWAY; LANGRIDGE; WAIN, 2021). Há um interesse global na substituição gradual do método fenotípico pelo WGS para vigilância em saúde, com sistemas já estabelecidos em toda a Europa, Reino Unido, Canadá e EUA. Maior velocidade, melhor precisão e evolução das ferramentas de bioinformática favorecem sua implementação (TRAN et al., 2023). O custo do WGS supera o de alguns métodos convencionais de detecção fenotípica e molecular, no entanto o potencial do método em reduzir o número de casos, principalmente em surtos prolongados, implica na redução dos custos sociais gerados por surtos de salmonelose (FORD et al., 2021).

Do ponto de vista clínico, a principal diferenciação ocorre entre sorovares tifóides e não tifóides. Os sorotipos tifóides (*Salmonella* Typhi e *Salmonella* Paratyphi) são hospedeiros específicos de humanos e causam a febre entérica, forma invasiva da doença, que pode evoluir para septicemia e óbito. A salmonelose não tifóide é causada pelos demais sorotipos, caracteriza-se por gastroenterite aguda autolimitada veiculada pelo consumo de água e ou alimentos contaminados (KURTZ; GOGGINS; MCLACHLAN, 2017). Sorotipos invasivos não tifóides foram registrados na África Subsaariana, China e Índia, afetam principalmente indivíduos imunocomprometidos com taxas de letalidade média de 20,6%, mas que pode chegar a 72% em portadores do vírus da imunodeficiência humana (JACOB et al., 2022; PICCINI; MONTOMOLI, 2020; ZHAN et al., 2019).

A principal via de transmissão do patógeno para humanos é o consumo de alimentos contaminados. Animais infectados são reservatórios de *Salmonella* e tem a via fecal-oral como principal fonte de transmissão direta ou indireta para alimentos, ambiente e humanos (HALD, 2013). A relevância da *Salmonella* como patógeno de transmissão alimentar pode ser atribuída a duas características principais: sua notável diversidade genética e sua extraordinária capacidade de adaptação (GUILLÉN et al., 2021). Mudanças nas características da população, o comércio global de alimentos, mudanças na estrutura industrial e no comportamento dos consumidores são fatores que contribuem para disseminação e prevalência da *Salmonella* em

diversas cadeias de produção e distribuição de alimentos (HALD, 2013). Determinar como este patógeno interage com o ambiente, pessoas, animais e plantas é necessário para encontrar novas medidas de controle em cadeias de produção e distribuição de alimentos (GUARD, 2022).

4.4. Contaminações na pré-colheita

Casos de salmonelose relacionados ao consumo de produtos vegetais têm aumentado continuamente na Europa e Estados Unidos, no entanto, pouco se sabe sobre a ecologia de *Salmonella enterica* em sistemas agrícolas (SCHIERSTAEDT et al., 2020; ZWEIFEL; STEPHAN, 2012). O ambiente de produção agrícola é o primeiro ponto de contaminação desses produtos e compreender a ecologia e a epidemiologia da *Salmonella* nesse ambiente é fundamental para o desenvolvimento de estratégias capazes de reduzir sua ocorrência em alimentos e evitar surtos (BARDSLEY et al., 2021). A contaminação dos vegetais na fase pré-colheita está diretamente relacionada à presença do patógeno no sistema solo-água (Figura 2), que funciona como reservatório e fonte de transmissão de *Salmonella* para os vegetais durante o cultivo (IWU; OKOH, 2019). Essa transmissão pode ocorrer pelo contato direto com o solo-água contaminados com a fixação das células na superfície de raízes, folhas e frutos, ou pela internalização do patógeno e colonização dos tecidos vegetais (KLJUJEV et al., 2018).



Figura 2. Relação entre ambiente agrícola e hospedeiros na ecologia de *Salmonella*
Fonte: elaborada pela autora

O transporte de partículas pela ação de ventos e respingos de chuva ou da irrigação, também podem contribuir para transferência de *Salmonella* para folhas, flores e frutos (KUMAR et al., 2017; LEE, D. et al., 2019). A presença de poeira é onipresente no ambiente de cultivo de produtos e correntes de vento podem transportá-las do solo para os vegetais. Flores de tomate apresentaram percentual de contaminações por *Salmonella* Newport em 29% das amostras após contato com partículas de poeira, o que resultou na presença do patógeno em 66,6% dos frutos e 77,7% dos cálices (77,7%) desenvolvidos a partir dessas flores, indicando possibilidade de

internalização do patógeno (KUMAR et al., 2017). LEE, K. et al., (2020) evidenciaram a transmissão de *Salmonella* do solo para plantações através de respingos de partículas de solo gerados durante a irrigação ou chuva. O patógeno foi detectado nos respingos a altura de até 80 cm, indicando potencial de contaminações culturas com produção próximas ao solo, e o maior teor de umidade no solo foi relacionado a maiores contagens do patógeno no respingo.

Salmonella é capaz de persistir na filosfera da planta, escapar do sistema de defesa vegetal e alterar seu próprio metabolismo para se adaptar ao ambiente vegetal, possibilitando a colonização e multiplicação ao infectar a hospedeiro vegetal (ZARKANI; SCHIKORA, 2021). A internalização pode ocorrer via sistema radicular, com translocação do patógenos para folhas, flores e frutos, ou diretamente nas folhas e flores persistindo até o desenvolvimento dos frutos como observado em tomates (ZHENG et al., 2013). O estresse ambiental pode contribuir para a internalização, visto que nessas condições, populações sobreviventes tendem a migrar da filosfera da planta para os estômatos, internalizar e se multiplicar, resultando na contaminação de folhas como coentro e manjerição (LI, D.; UYTENDAELE, 2018). Sabe-se que a colonização de plantas depende da persistência e do nível de contaminação do patógeno no ambiente agrícola, das características genéticas da cepa bacteriana, do tipo e da variedade da cultura, das condições do sistema de defesa da planta e do período do ciclo em que a cultura é contaminada (GU et al., 2018; JECHALKE et al., 2019; ZARKANI; SCHIKORA, 2021).

A literatura carece de dados para avaliar o potencial endofítico da *Salmonella* em plantas de pimenta-do-reino ou de outras especiarias, portanto, não é possível estimar a contribuição deste mecanismo para contaminação dos frutos. Estratégias bem-sucedidas para a prevenção de surtos de doenças associadas aos alimentos terão de considerar a natureza da interação *Salmonella* planta-fruto uma vez que processos de redução microbiana podem ser menos efetivos na redução de patógenos internalizados (JECHALKE et al., 2019; ZARKANI; SCHIKORA, 2021).

4.4.1. Presença de animais em campos agrícolas

O principal nicho de *Salmonella* é o trato intestinal de humanos e animais de criação (OLUDAIRO et al., 2023). Alta ocorrência de *Salmonella* em órgãos (56,9%) e fezes (50,9%) de animais produtores de alimentos foi constatada em fazenda no sul da Itália, com maiores ocorrências em búfalos, aves e suínos, apesar da implementação de estratégias de controle do patógeno nesses sistemas de produção. Sorotipos associados a surtos na Europa e no sul da Itália foram detectadas nessas criações e apontam para necessidade de intervenções mais rigorosas no controle da produção primária (PERUZY et al., 2023). Após colonizar o trato gastrointestinal, *Salmonella* pode ser excretada nas fezes, e a partir daí ser transmitida por insetos e outros animais para o ambiente agrícola ou vegetais. *Salmonella* não é parte da microbiota endógena do ambiente agrícola e sua presença é decorrente de contaminação por fezes de animais (ANDINO; HANNING, 2015). Portanto o acesso de animais às áreas de produção, o uso inadequado de esterco e contaminações por esgoto doméstico podem

contaminar o solo e a água, contribuindo para estabelecimento, sobrevivência e multiplicação do patógeno no sistema água-solo-planta (THOMAS, G. A. et al., 2024).

Animais de vida selvagem também desempenham um importante papel como reservatórios hospedeiros com potencial transmissão para o ambiente, animais domésticos, alimentos e humanos (ANDINO; HANNING, 2015; OLUDAIRO et al., 2023). Em uma região desabitada do Baixo Amazonas, Brasil, foram isoladas 27 cepas de *Salmonella* em animais selvagens capturados. Sorotipos da subespécie I foram isolados de marsupial; roedores e pequenos répteis (LINS, 1970). Na região oeste da Amazônia, também no Brasil, *Salmonella* foi detectada em 24,1% das amostras de fezes de capivaras capturadas em áreas rurais e urbanas, com uma incidência do patógeno em onze dos 54 animais amostrados (20,4%) (FARIKOSKI et al., 2019). Roedores selvagens capturados em 13 fazendas localizadas no sul da Califórnia apresentaram *Salmonella* (2,9%), *Cryptosporidium* (26,0%) e *Giardia* (24,2%) em suas fezes, indicando possibilidade de disseminação desses patógenos no ambiente agrícola e em seus produtos (KILONZO et al., 2013). Esses trabalhos reforçam o papel dos animais selvagens como reservatórios naturais ao avaliar a epidemiologia da salmonelose. Animais silvestres são importantes na manutenção da fonte de infecção como portadores assintomáticos, causando casos esporádicos ou episódios locais da doença pela contaminação direta ou indireta dos alimentos (OLUDAIRO et al., 2023).

A ecologia da *Salmonella* está diretamente relacionada à sua epidemiologia, que é influenciada positiva ou negativamente pelas partes vivas e não vivas do ambiente (OLUDAIRO et al., 2023). As baratas podem ser um importante reservatório e vetor mecânico de *Salmonella* pela transmissão direta, através das fezes, ou indireta, transportando o patógeno em seu corpo. *Salmonella* Typhimurium apresenta maior persistência no intestino de baratas do que em suas fezes, além disso, baratas são capazes de transmitir cepas resistentes a antibióticos para outras baratas, alimentos e água (DONKOR, 2020). O trânsito de baratas foi relacionado a contaminações cruzadas em casas, restaurantes e hospitais propagando surtos de salmonelose e outras doenças em diversos países. Também podem transmitir o patógeno para aves, anfíbios, répteis e roedores que se alimentam delas (DONKOR, 2020; OLUDAIRO et al., 2023).

O levantamento bibliográfico realizado por PEES et al., (2023) concluiu que ocorrência de *Salmonella* em répteis foi maior em cobras (56,0%), lagartos (36,9%) e tartarugas terrestres (34,2%) e menor em tartarugas aquáticas (18,6%) e crocodilianos (9,0%), com predomínio da subespécie I (70,3%), seguida das subespécies IIIb (29,7%) e II (19,6%). Além disso, répteis criados em cativeiro foram mais propensos a eliminar o patógeno do que os de vida silvestre. Em campos agrícolas na Costa Central da Califórnia, *Salmonella* foi isolada de cobras (51,0%), lagartos (11,9%), pererecas (3,4%), sapos (0,6%) e na água coletada no ambiente onde os animais habitavam (12,6%). Os subtipos predominantes foram IIIa e IIIb, menos comuns em infecções humanas, mas a resistência a antibióticos identificada na maioria deles aponta para risco desses animais atuarem como reservatórios de genes de resistência a antibióticos. Cepas da subespécie I foram isoladas com menor frequência, em animais e no ambiente, o que indica

risco, mesmo que baixo, de contaminação dos produtos nos campos agrícolas, resultando em *recalls* e surtos (GORSKI et al., 2013).

Compreender a ecologia da *Salmonella* em populações de pássaros selvagens que habitam áreas próximas aos campos de produção de alimentos é importante para avaliar os riscos de transmissão do patógeno para os cultivos. Na Califórnia, patógenos alimentares foram detectados em oito das 60 espécies de aves estudadas (13,3%), no entanto a ocorrência de *Salmonella* (0,5%) nas fezes desses animais foi baixa (NAVARRO-GONZALEZ et al., 2024). Os autores também detectaram sorotipos patogênicos de *Salmonella* em lagarto, coelho e porco selvagem que habitavam os campos agrícolas e a detecção do mesmo sorotipo em duas espécies animais distintas sugere disseminação do patógeno no ambiente. Estudos conduzidos por SMITH et al., (2020, 2022) também constataram baixa prevalência de *Salmonella* em aves selvagens presentes no ambiente agrícola e identificaram que pássaros que habitavam regiões próximas a confinamentos foram mais propensos a transportar patógenos. FONSECA et al., (2020) sugerem que o impacto da presença de pássaros locais na contaminação de alimentos nos campos é mínimo, e indica necessidade avaliar a ocorrência desses patógenos em água estagnada utilizada para irrigação, principalmente em áreas de refúgio para pássaros migratórios. Mesmo diante da baixa prevalência de *Salmonella* em fezes de pássaros silvestres, os riscos podem ser aumentados em bandos muito populosos ou que produzam grande quantidade de material fecal ou influenciados por fatores sazonais, persistência do patógeno no ambiente e padrões migratórios (NAVARRO-GONZALEZ et al., 2024).

4.4.2. Contaminação da água de irrigação

A água de irrigação é uma das principais rotas de transmissão de patógenos para vegetais e solos agrícolas. A literatura carece de informações sobre a prevalência de *Salmonella* no sistema água-solo em propriedades rurais produtoras de especiarias, portanto o levantamento bibliográfico considerou a prevalência do patógeno na água de irrigação utilizada em produções agrícolas em geral. Estudos que contataram ocorrência de *Salmonella* em água agrícola foram selecionados e a prevalência do patógeno em cada um deles foi calculada com base na relação entre o número de amostras positiva e o total de amostras analisadas. Esses cálculos, em conjunto com outras informações relevantes sobre o estudo foram organizados e apresentados na Tabela 1. A partir dessa avaliação, constatou-se que a prevalência de *Salmonella* pode variar entre 2,7 e 88,9% e que o patógeno pode ser detectado em sistemas de captação subterrâneos (poços) e superficiais (rios, córregos e lagoas). Maiores percentuais de detecção foram observados em sistemas de captação superficial e em água de reuso, quando comparado à águas subterrâneas.

Tabela 1: Prevalência de *Salmonella* em água de irrigação em diferentes países no período de 2014 a 2024.

País/ Região	Origem da água agrícola	Amostras (n)	Ocorrência (n)	Prevalência (%) (intervalo de Confiança 95%)	Referência
Bolívia, La paz	Água superficial (rio)	36	32	88,9 (78,6 - 99,2)	POMA; MAMANI; IÑIGUEZ, (2016)
Marrocos, Meknes,	Água superficial/ água de reuso	17	12	70,6 (48,9 – 92,2)	HASSANI; GHAZI; LAZIRI, (2023)
Vietnã, Ho Chi Minh	Água superficial (rio)	61	42	68,9 (57,2 - 80,5)	NGUYEN et al., (2021)
EUA., Maryland	Água superficial	188	122	64,9 (58,1 - 71,7)	ACHEAMFOUR et al., (2021)
EUA., Meio-Atlântico	Água superficial	196	123	62,8 (56,0 – 69,5)	KIM et al., (2023)
EUA., Meio-Atlântico	Água superficial/ água de reuso	168	84	50,0 (42,4 – 57,6)	SHARMA et al., (2020)
EUA	Água superficial (lagoa)	107	52	48,6 (39,1 - 58,1)	HARRIS et al., (2018)
México, Noroeste	Água superficial (rio)	143	65	45,5 (37,3 - 53,6)	GONZÁLEZ-LÓPEZ et al., (2022)
EUA., diferentes estados	Água superficial	107	48	44,9 (35,4 - 54,3)	PARTYKA et al., (2016)
Espanha, Sudeste	Água superficial	113	49	43,4 (34,2 – 52,5)	TRUCHADO et al., (2018)
EUA., Georgia	Água superficial (lagoa)	507	217	42,8 (38,5 - 47,1)	LEE, D. et al., (2018)
EUA, Sudeste	Água superficial (lagoa)	340	127	37,4 (32,2 - 42,5)	LUO et al., (2015)
Jordânia	Água superficial	90	29	32,2 (22,6 - 41,9)	BURJAQ; ABU-ROMMAN, (2020)
EUA, Oeste	Água superficial	666	203	30,5 (27,0 – 34,0)	PARTYKA et al., (2018)
EUA, Sudeste	Água superficial	170	50	29,4 (22,6 – 36,3)	LI, B. et al., (2014)
EUA, Virgínia	Água superficial	490	100	20,4 (16,8 – 24,0)	GU et al., (2019)
EUA, Virgínia	Água subterrânea	400	13	3,3 (1,5 – 5,0)	GU et al., (2019)
Burkina Faso, África	Não identificada	56	16	28,6 (16,7 - 40,4)	SOMDA et al., (2021)
Chile, Região Central	Água superficial (rio)	1.080	303	28,1 (25,4 – 30,7)	TORO et al., (2022)
EUA, Virgínia	Água superficial	120	26	21,7 (14,3 – 29,0)	MURPHY; WELLER; STRAWN, (2023)
EUA., Meio-Atlântico	Água superficial	1990	421	21,2 (19,4 – 23,0)	ACHEAMFOUR; PARVEEN; HASHEM, (2024)
EUA., diferentes estados	Água superficial e subterrânea	39	8	20,5 (7,8 - 33,2)	RAMOS et al., (2021)
Itália, sudeste	Água superficial	313	64	20,4 (16,0 – 24,9)	PERUZY et al., (2023)
Singapura	Água superficial (reservatório)	50	10	20,0 (8,9 – 31,1)	THAM; ZWE; LI, (2021)
Brasil	Água superficial	53	10	19,0 (8,4 – 29,6)	CEUPPENS et al., (2014)
Nigéria	Água superficial	84	15	17,9 (9,7 – 26,0)	ABAKPA et al., (2015)
Jordânia	Água superficial	50	8	16,0 (5,8 – 26,2)	TARAZI; AL DWEKAT; ISMAIL, (2021)
Canadá	Água superficial	907	101	11,1 (9,1 – 13,2)	JOKINEN et al., (2015)
China	Água superficial e subterrânea	117	11	9,4 (4,1 – 14,7)	YANG et al., (2024)
EUA, Pensilvânia	Água superficial	153	5	3,3 (0,5 – 6,1)	DRAPER et al., (2016)
Itália, Apúlia	Água subterrânea	364	10	2,7 (1,1 - 4,4)	DE GIGLIO et al., (2017)

Nos Estados Unidos, surtos de salmonelose relacionados ao consumo de tomates e pimentões Serrano e Jalapeño foram atribuídos ao uso de água contaminada durante a irrigação das culturas após uma investigação apontar similaridade genética entre estipes bacterianas isoladas de lagoas de irrigação e estirpes atribuídas aos surtos (GREENE et al., 2008; KLONTZ et al., 2010). Na Itália, PERUZY et al., (2023) constatam alta diversidade de sorotipos na água de irrigação, com maior prevalência do sorotipo Napoli, que está entre os principais causadores de surtos de salmonelose na Itália. Na região central do México, constatou-se que águas superficiais atuam como reservatórios de sorovares de *S. enterica* relevantes para saúde pública, após detecção de sorovares clínicos em água de irrigação, vegetais e animais. A análise filogenética desses isolados evidenciou proximidade genética entre eles e as cepas envolvidas em surtos ocorridos nos Estados Unidos e Canadá. Embora não haja relação epidemiológica entre esses isolados, a proximidade genética identificada sugere que a contaminação das águas superficiais são um risco à saúde pública e possuem um papel importante na disseminação de patógenos em cadeias agroalimentares (BALLESTEROS-NOVA et al., 2022).

A contaminação da água decorre da introdução contínua ou pontual de material fecal oriundo de descargas de esgoto, escoamento de águas pluviais poluídas, práticas agropecuárias inadequadas e presença de fauna silvestre (GU et al., 2021; TORO et al., 2022). Córregos, rios e lagoas estão sujeitos a maior interferência de fatores antropológicos e ambientais, o que aumenta o risco de contaminação (TORO et al., 2022). A água subterrânea é naturalmente filtrada pelo solo e está menos exposta às intempéries, mas pode ter sua qualidade comprometida pela percolação de águas residuais contaminadas ou pela captação em baixa profundidade, próxima a latrinas e fossas sépticas (LIU, H.; WHITEHOUSE; LI, 2018). A prevalência de *Salmonella* em águas superficiais apresentou um comportamento sazonal, com maior detecção na primavera e verão, que pode estar relacionado ao aumento da temperatura ambiente e ocorrência de tempestades (BURJAK; ABU-ROMMAN, 2020; GONZÁLEZ-LÓPEZ et al., 2022; LUO et al., 2015; TORO et al., 2022). As mudanças climáticas, representada pelo aumento da temperatura ambiente, inundações, tempestades e ventos fortes, exercem grande impacto no ambiente agrícola e em sua microbiota. *Salmonella* pode ser transportada de fontes terrestres, como estrume e fezes de animais domésticos ou de vida selvagem, para águas superficiais e culturas alimentares durante tempestades e ventos fortes (CAVICCHIOLI et al., 2019; TORO et al., 2022).

A avaliação do risco de transmissão de *Salmonella* para os vegetais via água de irrigação requer informações sobre a prevalência do patógeno na água, o método utilizado para irrigação, o tipo de solo e o contato entre a água e as partes comestíveis das plantas (DE GIGLIO et al., 2017). A irrigação por gotejamento ou subterrânea limita o contato direto entre o tecido vegetal comestível e respingos de água, apresentando menor probabilidade de introduzir patógenos do que a irrigação por sulco ou por aspersão (LI, D.; UYTENDAELE, 2018).

4.4.3. Irrigação com águas residuais

A reutilização de águas residuais tratadas na agricultura apresenta uma solução promissora para a escassez de água em muitas regiões do mundo, no entanto, pode implicar em riscos à saúde, caso os tratamentos adotados não sejam capazes de reduzir a presença de contaminantes. A qualidade das águas residuais tratadas depende da origem da água, do tipo de utilização e da tecnologia usada no tratamento (BOULARBAH et al., 2024; OFORI et al., 2021). *Salmonella* e outros patógenos alimentares foram detectados em água de reuso na África do Sul, Arizona (Estados Unidos), Jordania e Nova Deli (Índia), demonstrando que essa prática pode implicar em riscos à saúde pública (AL-QURAAN; ABU-RUB; SALLAL, 2020; HAJARE; LABHASETWAR; NAGARNAIK, 2021; KGOPA; MASHELA; MANYEVERE, 2021; ZHU et al., 2019). Ovos de helmintos e vírus entéricos foram transmitidos para vegetais via irrigação com águas residuais em Gana e Portugal (ASIRIFI et al., 2021; FERNANDES et al., 2023). COSSIO et al. (2021) indicaram risco de contaminação por *Salmonella*, enterovírus e parasitas em alface irrigada com águas residuais na Bolívia, que foi atribuído ao baixo desempenho das estações de tratamento de efluentes.

O tratamento das águas residuais pode garantir sua segurança e viabilizar seu uso na irrigação. Na região Meio-Atlântico dos Estados Unidos, SHARMA et al., (2020) identificaram menor prevalência de *Salmonella* em lagoas de retenção de águas residuais (1,3%) quando comparada à prevalência em água de rios (54,5%). Na Bélgica, VANMARCKE et al., (2024), demonstraram que o armazenamento por até 32 dias da água residual tratada reduz a contaminação por *Salmonella* a níveis seguros e concluíram que o tratamento de desinfecção contribui para garantir sua segurança. Na Espanha, TRUCHADO et al., (2021) constataram conformidade com os padrões estabelecidos pela União Europeia para água de irrigação submetida a tratamentos avançados de desinfecção, possibilitando o uso seguro para irrigação. Diante destes fatos, a União Europeia e Estados Unidos promulgaram regulamentos e diretrizes para reutilização de águas residuais na agricultura com objetivo de permitir o uso e proteger a saúde pública (OFORI et al., 2021). No Brasil não há regulamentação para uso de águas residuais na agricultura, o que compromete a segurança de seu uso em termos de contaminações ambientais e de saúde pública (HANDAM et al., 2024).

4.4.4. Contaminação do solo agrícola

Salmonella pode ser introduzida no solo pela presença de animais nos campos de produção, pelo uso de corretivos biológicos mal compostados e pela irrigação com água contaminada (YANG et al., 2024). O risco de contaminação das culturas depende da ocorrência e da persistência do patógeno no solo, que é influenciada por características genotípicas da cepa, fatores hidrológicos e ambientais, práticas agrônômicas; microflora nativa, tipo de solo e nutrientes disponíveis (ALEGBELEYE; SANT'ANA, 2023; DIEKMAN et al., 2024; EMCH; MOHAMED; CUSIC, 2020). Cepas de *Salmonella* foram capazes de sobreviver por 216 dias em solo argiloso rico em matéria orgânica, mas apresentaram menor taxa de sobrevivência em solos arenosos (ALEGBELEYE; SANT'ANA, 2023). Solos argilosos apresentaram um acréscimo de 30

dias na sobrevivência de *Salmonella*, com sobrevivência de 84 a 210 dias, conforme a cepas, em solos irrigados. Maior persistência do patógeno (129 dias) foi observada em solos corrigidos com cama de frango, com sobrevivência média de 40 dias a mais do que em solos não corrigidos (BARDSLEY et al., 2021). A sobrevivência do patógeno no solo por tempo prolongado representa risco de contaminação de produtos agrícolas, especialmente quando ocorre contato direto entre as partes vegetais e o solo (DIAZ et al., 2022).

Dados sobre a prevalência de patógenos transmitidos por alimentos em solos agrícolas não alterados são relativamente limitados na literatura, portanto o levantamento bibliográfico incluiu também a ocorrência de *Salmonella* em solos modificados por irrigação, adubação orgânica e práticas de pastoreio (Tabela 2). Com base neste levantamento, constatou-se maior ocorrência de *Salmonella* em solos irrigados com águas contaminadas por esgoto doméstico, seguido de solos de lavouras integradas com pastoreio e solos com adubação com compostos de origem animal. Em geral, solos não tratados ou irrigados com água sem contaminação por esgoto doméstico apresentaram baixa ocorrência do patógeno.

Tabela 2. Prevalência de *Salmonella* em solos modificados e não modificados com base em estudos realizados em diferentes regiões entre 2014 – 2024

Pais, região	Tipo de tratamento dado ao solo	Amostras (n)	Amostras positivas (n)	Prevalência (%) (intervalo de confiança 95%)	Referência
Marrocos, Meknes,	Irrigação com água residual	11	6	54,5 (25,1 – 84,0)	HASSANI; GHAZI; LAZIRI, (2023)
Bolívia	Irrigação com água contaminada	12	4	33,3 (6,7 - 60,0)	POMA; MAMANI; IÑIGUEZ, (2016)
EUA, Oklahoma	Integração com pastoreio	60	19	30,5 (18,8 – 42,3)	DIAZ et al., (2022)
EUA, Oklahoma	Sem pastoreio	15	2	13,3 (-3,9 – 30,5)	DIAZ et al., (2022)
EUA, Virgínia	Uso de cama de aves	2.016	25	11,6 (7,3 - 15,8)	GU et al., (2019)
Nigéria	Uso de adubo orgânico	118	11	9,3 (4,1 - 14,6)	ABAKPA et al., (2015)
China	Irrigação	36	3	8,3 (0,0 - 17,4)	YANG et al., (2024)
Servia	Não tratado	959	67	7,0 (5,4 – 8,6)	ČUČAK et al., (2018)
EUA, Washington	Uso de adubo orgânico	192	9	4,7 (1,7 - 7,7)	SHENG et al., (2019)
EUA, Virgínia	Irrigação	240	10	4,2 (1,6 – 6,7)	COOK et al., (2023)
Brasil	Uso de adubo orgânico	78	2	2,6 (0,7 – 8,9)	CEUPPENS et al., (2014)
EUA, Virgínia	Irrigação	400	7	1,8 (0,5 – 3,0)	MURPHY; WELLER; STRAWN, (2023)
EUA, Ohio	Uso de adubo orgânico	844	13	1,5 (0,7 – 2,4)	HAILU et al., (2021)
EUA	Não tratado	2.461	26	1,1 (0,7 - 1,5)	RAMOS et al., (2021)
EUA, Florida	Não tratado	239	1	0,4 (0,0 – 1,2)	DIEKMAN et al., (2024)

A irrigação com água de riachos contaminados por esgoto urbano e por águas residuais não tratadas resultaram na contaminação do solo (45,5%) e dos vegetais (16,7%) produzidos em fazendas urbanas e periurbanas no Marrocos. Solos tratados com água residual apresentaram maior frequência de contaminação (80,0%), indicando que águas residuais não tratadas são fonte de contaminação por *Salmonella* em solo agrícola e podem contribuir para contaminação dos vegetais (HASSANI; GHAZI; LAZIRI, 2023). Na Bolívia, o solo irrigado pelo Rio La Paz em regiões agrícolas a jusante da área urbana apresentou altas contaminações por patógenos entéricos (83%) e *Salmonella* (33%), resultando na transmissão de patógenos resistentes a antibióticos oriundos do sistema água-solo para os vegetais (POMA; MAMANI; IÑIGUEZ, 2016). O pastoreio de gado em pomares de produção de nozes nativas no sul dos Estados Unidos contribuiu significativamente para contaminação do solo com uma prevalência de 31% em áreas com pastoreio, contra 13% em áreas não pastoreadas (DIAZ et al., 2022). Estudos mostram que a prevalência de *Salmonella* foi relativamente baixa em solos não tratados com corretivos orgânicos (COOK et al., 2023; DIEKMAN et al., 2024; MURPHY; WELLER; STRAWN, 2023; RAMOS et al., 2021). TARAIZI; AL DWEKAT; ISMAIL, (2021) identificaram que o uso de esterco animal em terras a montante do rio Zarga, na Jordânia, contribuiu para contaminação da água de irrigação por múltiplas estirpes de *Salmonella* resistente a antibióticos, após constatar similaridade genética (84,6%) entre cepas de *Salmonella* Typhimurium presentes em esterco de aves e cepas isolada em salsa cultivada nas margens do rio.

PENG et al., (2021) constataram aumento da diversidade filogenética e introdução de patógenos zoonóticos, *Salmonella* e *Listeria*, no microbioma do solo tratado com esterco animal. LI, W. J. et al., (2022) mostraram que a adubação com esterco também implicou em alterações significativas nos microbiomas do solo, aumentando a carga de patógenos humanos no microbioma da planta. SHENG et al., (2019) constatou a presença de *Salmonella* em diferentes tipos de fertilizantes obtidos por esterco de laticínios e sua transferência para o solo (< 12 NMP/g) em campos de produção de framboesa, não sendo mais detectado quatro meses após a aplicação. HAILU et al., (2021) identificaram a presença de *Salmonella* (1,5%) e outros patógenos resistentes a múltiplos antibióticos em solos tratados com esterco de aves e gado leiteiro. Embora a ocorrência de *Salmonella* tenha sido baixa, 77% dos isolados obtidos apresentava resistência a múltiplos medicamentos, com risco potencial de provocar surtos com alto número de tratamentos mal sucedidos e casos mais graves da doença.

A competição com a microbiota indígena do solo por locais de colonização desempenha um papel importante no controle da introdução de patógenos no solo e a redução da diversidade favorece o estabelecimento de *Salmonella* em ambientes agrícolas (SCHIERSTAEDT et al., 2020). DEVARAJAN et al., (2021) comprovaram que solos orgânicos geridos com culturas de cobertura e compostos continham mais macronutrientes e comunidades bacterianas mais diversas que contribuíram para suprimir a *Salmonella* e a *Listeria* no solo. Concluíram também que solo sem compostos apresentaram quatro a cinco vezes mais *Salmonella* do que solos corrigidos com compostos, sugerindo que compostos e culturas de cobertura contribuem para saúde do solo sem aumentar a sobrevivência de patógenos

alimentares. SCHIERSTAEDT et al., (2020) constataram drástica redução da abundância de *Salmonella* no solo com alta diversidade de procariontes indígenas e maior persistência em solos com comunidade procariontária reduzida e ressaltam a importância da manutenção de um microbioma diversificado do solo como parte de uma estratégia de controle da *Salmonella* no solo agrícola.

4.5. Contaminação na pós-colheita e beneficiamento

Na colheita e pós-colheita, os principais riscos de contaminação dos vegetais estão associados a procedimentos higiênicos inadequados. A pimenta-do-reino é colhida manualmente e os cachos coletados são colocados em baldes e sacos para serem transportados até a área de debulha. A lavagem incorreta das mãos e o uso de água contaminada para higiene pessoal resultou em alta contagem de *E. coli* nas mãos de produtores rurais e vendedores de produtos frescos no Vietnã (THI MAC et al., 2024). BRAR; DANYLUK, (2013) constataram contaminação cruzada entre as luvas utilizada pelos trabalhadores na colheita e os tomates colhidos, indicando que *Salmonella* pode ser introduzida na cadeia de produção caso as luvas não sejam higienizadas diariamente. Durante a colheita, a contaminação microbiológica pode ocorrer pelo contato do alimento com utensílios mal higienizados, como facas, caixas e baldes, ou com as mãos dos trabalhadores (LENZI; MARVASI; BALDI, 2021). A lavagem dos recipientes de colheita com água contaminada, lavagem e secagem inadequada dos utensílios usados na colheita, a manutenção dos recipientes diretamente sobre o chão e a manutenção dos vegetais colhidos em recipientes foram falhas de boas práticas identificadas em fazendas do Vietnã (THI MAC et al., 2024). A diversidade e as contagens microbianas na casca de caquis coletados no Japão aumentaram após o contato dos frutos com a cesta e com recipiente de colheita de plástico, demonstrando probabilidade de contaminação cruzada durante a colheita (IZUMI; HISA; MURAKAMI, 2008).

A secagem é a principal tecnologia empregada para conservação da pimenta-do-reino e de especiarias em geral, confere ao produto estabilidade microbiológica e permite sua comercialização ao longo dos anos (KELLER et al., 2013). Durante este processo ocorre a redução da umidade, que implica na redução da atividade de água (*aw*), medida que se refere a quantidade da água disponível para a ocorrência de reações físico-químicas ou biológicas no alimento (SYAMALADEVI et al., 2016). A redução da *aw* para valores inferiores a 0,96 impede a multiplicação de *Salmonella* na pimenta-do-reino, permite sua sobrevivência por longos períodos no produto (KELLER et al., 2013). Condições ambientais desfavoráveis, como a baixa atividade de água, quando não resultam em morte celular, podem gerar lesões ou estresse nas células bacterianas. Alguns patógenos como *Salmonella* spp. são capazes de ativar uma resposta adaptativa complexa, aumentando sua tolerância ao estresse osmótico e permitindo sua sobrevivência em condições subótimas ou mesmo subletais (SALIVE et al., 2020). Células de *Salmonella* expostas a um ambiente de alta pressão osmótica desenvolvem várias respostas adaptativas que incluem o acúmulo de solutos como K⁺ e osmoprotetores (betaina, prolina e

trealose), mudanças na composição e permeabilidade de suas membranas, degradação de moléculas de RNA ribossômico e muitas outras consequências da ativação de RpoS e RpoE (GUILLÉN et al., 2021; MORASI et al., 2022). Outra estratégia é a dormência, na qual a célula reduz sua atividade metabólica e entra no estado viável, mas não cultivável (VNC), caracterizada pela perda da capacidade de crescer em meios de cultura de rotina, dificultando a detecção por métodos convencionais.

O estado VNC é resultado da redução da atividade metabólica, dedução da expressão gênica e alterações morfológicas nas células bacterianas. A presença de *Salmonella* VNC é uma preocupação para indústria de alimentos e para agências de saúde pública, pois a não detecção por métodos microbiológicos convencionais subestima a ocorrência do patógeno nos alimentos (SALIVE et al., 2020). No entanto, a patogenicidade dessas células ainda é um assunto controverso e levanta incertezas sobre seu real risco à saúde. A perda simultânea da capacidade de crescimento em meios de cultura e da patogenicidade para *Salmonella* VNC foi observada pela maioria dos estudos avaliados por GUILLÉN et al., (2021), no entanto relatos que comprovam a manutenção da sua patogenicidade também foram abordados. Os autores concluíram que células VNC são menos patogênicas do que as cultiváveis e que a patogenicidade atribuída à *Salmonella* VNC pode estar relacionada à reversão para o estado cultivável.

A desidratação induz tolerância cruzada a múltiplos estresses em *S. enterica*, o que limita a eficácia dos tratamentos químicos e físicos utilizados para reduzir sua ocorrência durante o processamento dos alimentos da fazenda até o consumo (GRUZDEV; PINTO; SELA, 2011). A redução da aw resulta em aumento da resistência térmica, sendo necessário o tratamento em temperaturas mais elevadas inativação da *Salmonella* em grãos de pimenta-do-reino. A resistência térmica do patógeno depende da cepa, da composição do alimento e das condições de crescimento, o que demanda o desenvolvimento e validação do tratamento térmico para garantir sua eficácia (GAUTAM et al., 2020). A capacidade da *Salmonella* sobreviver ao processo de secagem é uma justificativa para ocorrência de surtos associados ao consumo de especiarias, visto que uma pequena parcela de células sobrevive ao estresse osmótico e é capaz de causar doença (BEUCHAT et al., 2013). Além disso, células subletalmente lesionadas ou em estado VNC podem retornar ao estado fisiológico normal ao encontrar condições favoráveis e provocar surtos (SALIVE et al., 2020).

Surtos de salmonelose envolvendo consumo de alimentos com baixa aw são consequências da dificuldade em controlar os níveis do patógeno nesses produtos (BEUCHAT et al., 2013). As principais técnicas aplicadas pela indústria de alimentos na redução das contaminações em especiarias incluem fumigação com óxido de etileno (EtO), irradiação e vapor assistido por vácuo. A fumigação com EtO é eficaz na redução microbiana, mas alteram cor e sabor das especiarias e reduzem o teor de compostos voláteis (DUNCAN et al., 2017). Além disso, a prática não é aprovada pela União Europeia, portanto sua presença em especiarias importada por esses países pode desencadear recall de produtos e notificação no sistema de alerta rápido (RASFF) (KOWALSKA, A.; MANNING, 2022). A irradiação é um método eficaz e

energeticamente eficiente para descontaminar temperos, porém não é aceita por grande parte dos consumidores e pode alterar as características do produto se empregadas altas doses de radiação (DUNCAN et al., 2017). O tratamento térmico pela pasteurização com vapor a vácuo é o principal método utilizado para redução microbiana em especiarias, no entanto requer controle e validação do tratamento térmico para garantir sua eficiência dada relevância da influência da aw na resistência térmica *Salmonella*. O uso de altas temperaturas para garantir essa eficácia também pode comprometer características sensoriais do produto (DUNCAN et al., 2017; NEWKIRK et al., 2018).

Especiarias secas passam por sucessivos eventos de armazenamento, processamento, embalagem e reembalagem até chegar ao consumidor final e este processo pode ser entendido por anos. *Salmonella* pode ser introduzida em qualquer dessas etapas, caso os protocolos de boas práticas sejam negligenciados, e se multiplicar ao encontrar condições apropriadas, por exemplo, exposição acidental da especiaria à umidade durante o armazenamento (KELLER et al., 2013). Pimenta-do-reino seca é um ambiente inóspito para *S. enterica* pela baixa aw e pela presença de compostos antimicrobianos, no entanto, os sorovares Tennessee, Anatum e Reading foram recuperados no produto após seis anos de armazenamento (DAVIES et al., 2022). Essa sobrevivência prolongada foi relacionada à alterações no metiloma, capazes de alterar a expressão gênica, e mutações de nucleotídeo único, especialmente em genes que regulam resposta ao estresse. HOFFMANN et al., (2020) contataram que surtos ocorridos em 1998 e 2008 foram provocados pela mesma cepa de *Salmonella* Agora, que persistiu nas instalações de uma fábrica de cereais de aveia torrados durante dez anos. Esse longo tempo de persistência pode ser justificado pela formação de biofilmes nas instalações e por mudanças evolutivas impulsionadas pela pressão de seleção exercida por métodos de redução ou pelo processo produtivo, resultando em maior sobrevivência, persistência e até mesmo crescimento em matrizes alimentares e no ambiente de produção. Além disso, cepas isoladas de ambientes com baixa aw são mais suscetíveis a aquisição de tolerância a múltiplos estresses, como calor, sais biliares e sanitizantes, do que aquelas isoladas de alimentos com alta umidade, possibilitando maior persistência nesses ambientes (DAVIES et al., 2022).

Condições de armazenamento que permitam a pimenta-do-reino absorver umidade do ambiente podem contribuir para o aumento da aw no produto, modificando suas condições e possibilitando o crescimento do patógeno. Além disso, se a secagem não for homogênea ou se houver condensação na superfície, pequenas áreas podem apresentar alta aw permitindo a multiplicação de *Salmonella* no local (KELLER et al., 2013). O patógeno também pode ser transferido da pimenta-do-reino para o ambiente de processamento, criando nichos ambientais e contaminando lotes futuros, a exemplo da investigação relatada por GIERALTOWSKI et al., (2013), que constatou a presença da cepa envolvida no surto em caixas lacradas de pimenta e no ralo da sala de fermentação.

4.6. *Salmonella* em especiarias importadas e no mercado varejista

O Sistema de Alerta Rápido para Alimentos e Rações (RASFF) foi criado em 1979 com intuito de compartilhar informações sobre segurança alimentar em tempo real, tonando a comunicação entre os estados-membros da União Europeia (EU), a Autoridade Europeia para a Segurança Alimentar e a Comissão Europeia mais eficiente. Sua base jurídica encontra-se o artigo 50 da lei geral dos alimentos (EUROPEAN UNION, 2002), tornando-se uma ferramenta fundamental para adoção de ações rápidas capazes mitigar os riscos de perigos potenciais na cadeia de alimentos, que podem impactar a segurança alimentar e a saúde do consumidor. O sistema disponibiliza um banco de dados *on-line* interativo denominado “RASFF Window” (<https://webgate.ec.europa.eu/rasff-window/screen/search>) que possibilita a pesquisa e torna pública informações resumidas sobre as notificações RASFF.

Entre janeiro de 2020 e julho de 2024 o sistema RASFF registrou 2.677 notificações para presença de *Salmonella* em alimentos, dessas notificações 363 (13,6%) foram atribuídas a categoria de alimentos “ervas e especiarias”. O patógeno foi detectado 41 tipos de especiarias importadas por países membros da União Europeia, com maiores percentuais de detecção em pimenta-do-reino (66,7%), páprica (6,3%), manjericão (3,6%), salsinha (1,9%), tomilho (1,9%) e pimenta malagueta (1,7%). A pimenta-do-reino de origem de brasileira foi responsável por 220 (60,6%) notificações entre janeiro de 2020 e julho de 2024. O número de notificações começou a aumentar a partir de 2017, coincidindo com o aumento da quantidade produzida, e consequentemente, da quantidade exportada. Diante do aumento do número de notificações, a Comissão Europeia publicou o Regulamento de Execução (UE) 2019/1793 (EUROPEAN UNION, 2019), que estabelece o aumento temporário dos controles oficiais para a pimenta-do-reino brasileira, aumentando a frequência de amostragem das remessas importadas de 5% para 20%. A persistente e elevada taxa de detecção do patógeno após a adoção desses controles demonstrou que a importação de pimenta-do-reino brasileira constitui um grave risco para a saúde humana, justificando o estabelecimento de controles ainda mais rigorosos para importação do produto. Em dezembro de 2021, a Comunidade Europeia publicou o Regulamento de Execução (UE) 2021/2246 (EUROPEAN UNION, 2021), que submete a pimenta-do-reino a condições especiais para importação. Portanto, a partir de janeiro de 2022, as remessas de pimenta-do-reino com origem brasileira devem estar acompanhadas por certificado oficial, atestando a implantação de boas práticas e APPCC, e laudo de análise comprovando a ausência de *Salmonella* no lote. Além disso, uma nova frequência de amostragem foi determinada, aumentando o percentual de análise de 20% para 50% das remessas. Essas ações tiveram um grande impacto no destino das exportações de pimenta-do-reino, com redução das exportações para os países da União Europeia e aumento das exportações para o Vietnã, que é um mercado de menor valor agregado (MDIC, 2022).

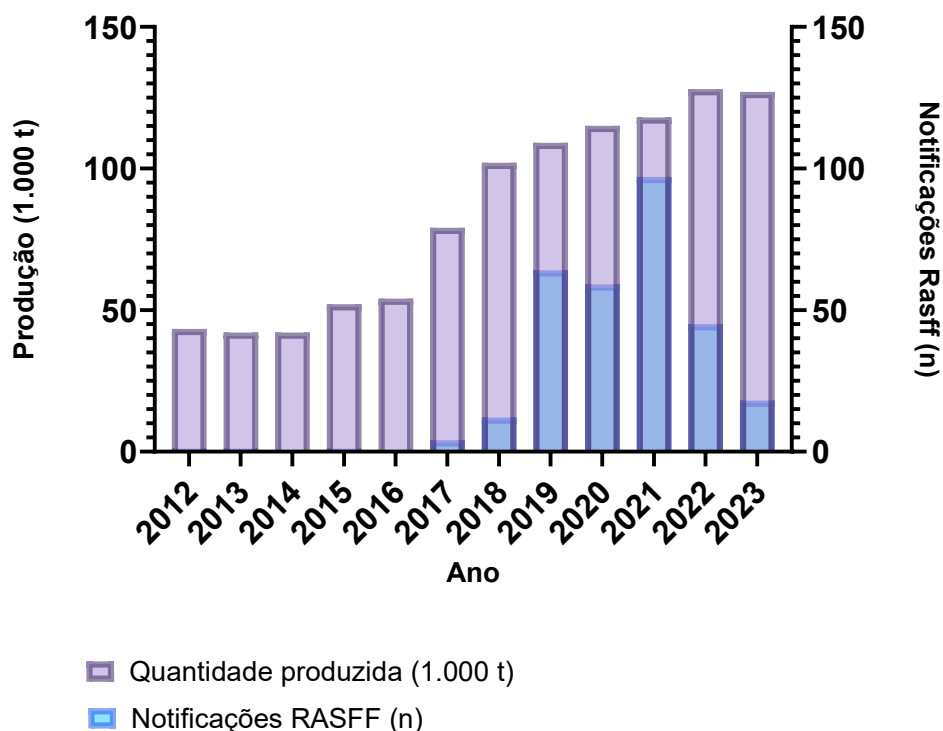


Figura 3. Produção anual de pimenta-do-reino (t) e número de notificações no sistema de Alerta Rápido para Alimentos e Rações (RASFF) pela presença de *Salmonella* emitidas para pimenta-do-reino brasileira entre 2012 e 2024.

Informações sobre os sorotipos de *Salmonella* presentes nas remessas de pimenta-do-reino brasileira estavam disponíveis em 52,7% (139/264) das notificações emitidas entre 2019 e 2022 (Tabela 3). Nenhuma das notificações emitidas em 2023 apresentou informações sobre os sorotipos. Todas as remessas apresentavam contaminações pela espécie *Salmonella enterica*, sendo identificados 38 sorotipos da subespécie I (enterica) e um sorotipo da subespécie II (salamae). Os sorotipos detectados com maior frequência (> 10% das amostras) foram Javiana (23,7%), Saintpaul (20,5%), Rubislaw (19,1%), Newport (17,0%), Poona (15,5%), Minnesota (12,5%) e Oranienburg (11,1%). Mais de um sorotipo foi identificado em 73 das 139 remessas (52,5%) e número de sorotipos distintos em uma mesma remessa variou entre dois e seis. Os sorotipos Javiana, Newport, Poona e Oranienburg foram detectados com frequência em remessas importadas em 2019, 2020, 2021 e 2022 (Figura 4).

Tabela 3. Identificação dos sorotipos de *Salmonella* presentes em remessas de pimenta-do-reino brasileira importada por países da União Europeia entre 2019 e 2022.

Sorotipos identificados	Ocorrência em diferentes remessas (n)	Frequência do sorotipo em relação ao número de notificações* (%)
Subespécie I (enterica)		
Javiana	33	23,7
Saintpaul	29	20,5
Rubislaw	27	19,1
Newport	24	17,0
Poona	22	15,5
Minnesota	17	12,5
Oranienburg	15	11,1
Matadi	12	8,8
Infantis	11	8,2
Morehead	11	8,1
Sandiego	11	8,1
Abaetetuba	9	6,6
Gaminara	9	6,6
Kiambu	7	5,1
Glostrup	6	4,4
Saphra	5	3,7
Agona	3	2,2
Braenderup	3	2,2
Coeln	3	2,2
Freetown	3	2,2
Miami	3	2,2
Muenchen	3	2,2
Albany	2	1,6
Cerro	2	1,5
Denver	2	1,5
Grumpensis	2	1,6
Panama	2	1,5
Schwarzengrund	2	1,5
Bonariensis	1	0,7
Bovismorbificans	1	0,7
Bredney	1	0,7
Dreetown	1	0,7
Madelia	1	0,7
Michigan	1	0,7
Reading	1	0,7
Rohne	1	0,7
Senftenberg	1	0,7
Typhimurium	1	0,7
Subespécie II (salamae)		
<i>Salmonella</i> II 42:r:-	2	1,5%

Fonte: elaborada pela autora com informações obtidas no portal “RASFF Window”

* Foram consideradas apenas notificações que continham informações sobre o sorotipo (n=139) para cálculo da frequência.

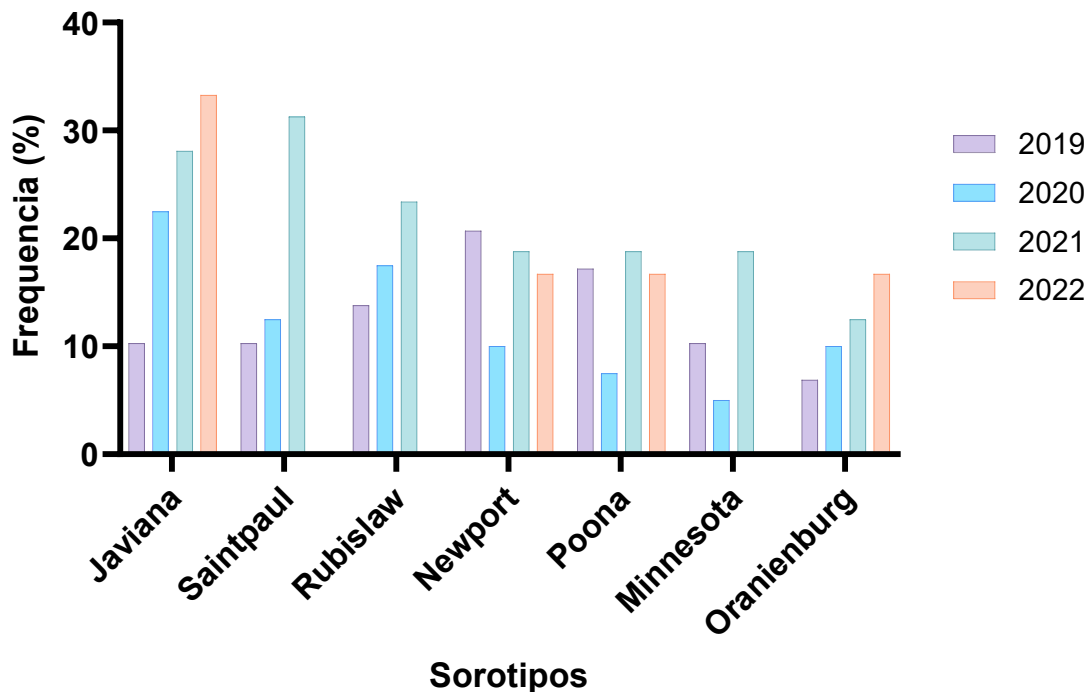


Figura 4. Ocorrência dos principais sorotipos de *Salmonella* em pimenta-do-reino brasileira importada por países da União Europeia por ano de notificação (2019 - 2022)

A ocorrência de *Salmonella* em especiarias importadas pelos Estados Unidos foi relatada por VAN DOREN, J.; KLEINMEIER; et al., (2013) e ZHANG, G. et al., (2017). Entre 2007 e 2009, *Salmonella* foi detectada em 187 das 2.844 remessas de especiarias importadas pelos EUA (65,7% - IC de 95% 0,057–0,076), seguindo a mesma tendência há trinta anos. Constatou-se maior ocorrência em coentro (14,5%), orégano/ manjericão (12,2%), curry (8,7%), cominho (8,0%), páprica (7,1%), cúrcuma (6,8%) e pimenta-do-reino (4,5%) (VAN DOREN, J.; NEIL; et al., 2013). A prevalência estimada de *Salmonella* em especiarias importadas nos anos fiscais de 2012 a 2015 foram estatisticamente iguais as estimativas realizadas para o ano fiscal de 2007 a 2009. Maior prevalência do patógeno foi constatada em coentro (18,5), pimenta vermelha (10,7%), orégano (10,2%), cominho (8,5%), sementes de gergelim (7,7%), pimenta preta (6,7%), pimenta branca (6,0%), manjericão (5,0%), curry (4,0%), alho desidratado (1,7%) e páprica (3,5%). A prevalência de *Salmonella* em amostras coletadas no varejo foi significativamente menor do que a estimada nas remessas importadas para todas as especiarias, exceto alho desidratado e manjericão. A menor ocorrência em amostras coletadas no varejo pode estar relacionada a aplicação de tratamentos para redução de patógenos após a entrada do produto nos Estados Unidos ou antes de sua liberação para comercialização (ZHANG, G. et al., 2017)

A ocorrência de *Salmonella* em especiarias comercializadas no varejo foi relatada com em diversos estudos publicados entre 2009 e 2022. Foram selecionados trabalhos que avaliaram a ocorrência do patógeno em duas ou mais especiarias com número total de amostras analisadas superior a 50. Os resultados obtidos nesses estudos foram utilizados para calcular a prevalência

do patógeno (WILSON, 1927), que junto com outras informações relevantes, foram organizados e apresentados na Tabela 4. Maiores ocorrências foram constatadas em especiarias comercializadas na Romênia (24,0%) e na Turquia (16,7%), enquanto menores percentuais foram identificados em especiarias comercializadas no varejo dos Estados Unidos e Reino Unido. Contaminações em pimenta-do-reino foram constatadas em todos os estudos. A presença de *Salmonella* também foi constatada em cominho (6 estudos), pimenta vermelha (6 estudos) e coentro (4 estudos).

Tabela 4. Prevalência de *Salmonella* especiarias comercializadas em diferentes países com base em estudos realizados entre 2009 e 2024.

País, Região	Amostras (n)	Prevalência (%) (intervalo de confiança 95%)	Especiarias contaminadas por <i>Salmonella</i>	Referência
Romenia	50	24,0 (12,2 - 35,8)	Anis, pimenta-do-reino, cominho, alho, bagas de zimbro, orégano, salsa, hortelã-pimenta, pimentão doce, estragão, açafão	(GYÖRGY et al., 2021)
Turquia	54	16,7 (6,7 - 26,6)	Flocos de pimenta vermelha, pimenta vermelha em pó, pimenta-do-reino moída	(OGUR, 2022)
Japão	259	9,7 (6,1 - 13,2)	Pimenta-do-reino, pimenta vermelha	(HARA-KUDO et al., 2006)
EUA	1.406	8,1 (6,7 - 9,5)	Manjeriço, pimenta-do-reino (preta e branca), coentro, cominho, curry em pó, alho desidratado, orégano, páprica, pimenta vermelha, gergelim	(ZHANG, G. et al., 2017)
Brasil	236	5,5 (2,6 - 8,4)	Pimenta-do-reino, cominho	(MOREIRA et al., 2009)
Turquia	420	2,9 (1,3 - 4,5)	Pimenta-do-reino, pimenta vermelha, cominho, coentro, gengibre	(HAMPIKYA N et al., 2009)
Turquia	250	2,8 (0,8 - 4,8)	Pimenta-do-reino preta, cominho, pimenta malagueta	(KARA et al., 2015)
Reino Unido	132	1,5 (0,0 - 3,6)	Pimenta da Jamaica, pimenta-do-reino, pimenta caiena, pimenta vermelha, canela, coentro, cominho, curry, erva-doce, feno-grego, <i>garam</i> masala, hortelã, quiabo, sálvia, açafão	(SAGOO et al., 2009)
EUA	7.250	0,2 (0,1 - 0,4)	Manjeriço, pimenta-do-reino, coentro, curry em pó, alho desidratado, orégano, páprica, pimenta vermelha	(ZHANG, G. et al., 2017)

A ocorrência de *Salmonella* em amostras comerciais de pimenta-do-reino foi constatada em diversos países e regiões. Os resultados desses estudos foram usados para calcular a prevalência do patógeno (WILSON, 1927), que em conjunto com outras informações relevantes foram apresentados na Tabela 5. A prevalência do patógeno apresentou grande variação (0,2% - 66,7%) nas diferentes regiões avaliadas. Maior prevalência do patógeno foi observada por COSTA et al., (2020) e por SILVA et al. (2013) em amostras coletadas na região nordeste do Brasil. Seis estudos identificaram *Salmonella* em pimenta-do-reino comercializadas no Brasil em frequências que variaram entre 8,8 e 66,7%. Percentuais de ocorrência mais

elevados foram identificados em estudos que avaliaram poucas amostras (entre 3 e 9), indicando possibilidade de valores superestimados. Mesmo assim, ao considerar apenas estudos com mais de 50 amostras, a pimenta-do-reino comercializada no Brasil continua apresentando maior ocorrência do patógeno (18,2 – 8,8%). Menores ocorrências foram contatadas em pimenta-do-reino comercializada nos Estados Unidos (0,2%), Romênia (2,0%) e Reino Unido (2,1%).

Tabela 5. Prevalência de *Salmonella* em pimenta-do-reino importada e comercializada em diferentes países (2009 - 2023)

País, Região	Amostras (n)	Prevalência (%) (intervalo de confiança 95%)	Sorotipos identificados	Referência
Brasil, Recôncavo Baiano	9	66,7 (35,9 – 97,5)	Não identificado	(Costa et al., 2020)
Brasil, Campina Grande	7	57,1 (20,5 - 93,8)	Não identificado	(SILVA, J. F. da et al., 2013)
Turquia, Bitlis	9	55,6 (23,1 - 88,0)	Não identificado	(OGUR, 2022)
Brasil, São Paulo,	3	33,3 (0,0 - 86,7)	Oranienburg	MICHELIN, (2016)
Brasil, São Paulo,	66	18,2 (8,9 - 27,5)	Não identificado	(MOREIRA et al., 2009)
Brasil	38	10,5 (0,8 – 20,3)	Não identificado	(VASCONCELOS NETO et al., 2009)
Brasil, Minas Gerais	227	8,8 (5,1 - 12,5)	Não identificado	(MATOSINHOS et al., 2020)
Estados Unidos, importação	233	6,4 (3,3 – 9,6)	Ball, Kentucky, Kingston, Rissen, Thompson, Weltevreden, Bredeney, Typhimurium, Newport, Senftenburg, Stanley, Ursenback e Subsp. houtearnae.	(ZHANG et al., 2017a)
Turquia, Afyonkarahisar	50	6,0 (0,0 – 12,6)	Não identificado	(KARA et al., 2015)
Estados Unidos da América	291	4,5 (2,1 – 6,8)	Agona, Typhimurium, Rubislaw, Derby, Enteritidis, Javiana, Ball, Braenderup, Canada, Elokate e Vejle	(VAN DOREN et al., 2013a)
Turquia, Istambul	60	3,3 (0,0 – 7,9%)	Não identificado	(HAMPIKYAN et al., 2009)
Japão, Tóquio	42	2,4 (0,0 – 7,0%)	Weltevreden	(HARA-KUDO et al., 2006)
Reino Unido	243	2,1 (0,3 - 3,8)	Senftenburg, Poona, Infantis, Schwarzengrund e Saintpaul.	(SAGOO et al., 2009)
Romênia	50	2,0 (0,0 - 5,9)	Não identificado	(GYÖRGY et al., 2021)
Estados Unidos, varejo	1264	0,2 (0,0 - 0,5)	Bovismorbificans, Duisburg e Subsp. arizonae, IIIa 41:z4:-.	(ZHANG et al., 2017a)

A identificação dos sorovares de *Salmonella* presentes na pimenta-do-reino é importante para rastrear as fontes de contaminação, avaliar risco à saúde pública, prever a doença e elucidar surtos (BANERJI et al., 2020; YOSHIDA et al., 2016), no entanto apenas seis dos 15 trabalhos identificou sorotipos presentes na pimenta-do-reino. A maior parte dos sorotipos identificados foram da subespécie *enterica* (I), mas também foram identificados sorotipos das subespécies *houteane* (IV) e *arizonae* (III). Uma grande diversidade de sorotipos foi observada na pimenta-do-reino importada e comercializada nos Estados Unidos (Van Doren et al., 2013; Zhang et al., 2017) e no Reino Unido (SAGOO et al., 2009), o que pode indicar ocorrência de múltiplas fontes de contaminação. Sorotipos de relevância epidemiológica podem persistir em ambientes de produção de alimentos e se propagar rapidamente, provocando surtos multiestados. A prevalência dos sorotipos varia em diferentes países e regiões do mundo, podendo persistir ou diminuir a incidência em uma área geográfica ou em intervalos de tempo distintos. A globalização e os grandes volumes de alimentos comercializados no mercado internacional favorecem a introdução de novos sorovares de *Salmonella* nos países importadores incorporando-os em suas cadeias de produção (GUARD, 2022).

Falhas nos procedimentos de higiene durante o processamento dos frutos do campo à mesa podem resultar na contaminação dos grãos de pimenta-do-reino por *Salmonella*. As especiarias podem ser contaminadas por *Salmonella* em diferentes pontos ao longo do processo do campo à mesa, se não forem aplicadas práticas de higiene adequadas (KELLER et al., 2013). Aspectos peculiares dessa cadeia podem contribuir para aumento do risco de contaminação e ampla disseminação do patógeno. O comércio global de especiarias caracteriza-se pela produção e beneficiamento em países menos desenvolvidos e comercialização em países mais desenvolvidos, tendo Europa e Estados Unidos como principais compradores. Grandes distancias separam os locais de produção e consumo, isso implica em aumento do tempo entre a colheita e o consumo, que pode levar até anos (SZÉKÁCS et al., 2018; ZHANG, G. et al., 2017). Em geral, a produção ocorre em pequenas propriedades rurais pouco tecnificadas que realizam a colheita e secagem do produto. Posteriormente o produto é submetido à padronização, reembalagem e sucessivas etapas de transporte a armazenamento até chegar ao país de destino (KELLER et al., 2013). No país de destino, as especiarias chegam aos consumidores após passarem por empresas importadoras, indústrias de alimentos, serviços de alimentação e comércio varejista. A mistura de especiarias de diferentes origens e seu uso em diversos produtos, industrializados ou na gastronomia, favorecem a disseminação do patógeno, portanto, a segurança desse ingrediente é necessária para proteção da saúde pública (LAKNER et al., 2018).

5. METODOLOGIA

5.1. Caracterização do estudo

O estudo foi conduzido em um período de três anos, entre julho 2021 e junho de 2024, na região Norte do Espírito Santo e foi dividido em duas etapas que abrangem os quatro objetivos específicos. A primeira etapa teve como objetivo caracterizar a produção de pimenta-do-reino e realizar uma triagem para selecionar propriedades com problemas de contaminação do produto por *Salmonella*. A segunda etapa teve como objetivo investigar da ocorrência do patógeno no ambiente agrícola, ambiente de beneficiamento e na pimenta-do-reino coletada em diferentes etapas do processamento e identificar os sorotipos.

5.2. Caracterização da produção, triagem e seleção das propriedades

A caracterização da produção foi realizada por meio do levantamento de dados secundários, avaliação *in loco* e entrevista semiestruturada (Apêndice A) para levantamento de dados qualitativos e quantitativos sobre a produção de pimenta-do-reino, principais tecnologias implantadas pelo produtor, a adoção de boas práticas agrícolas (BPA) e percepção sobre as contaminações por *Salmonella*. Os agricultores foram selecionados de forma aleatória (n=47) e as entrevistas foram realizadas em municípios do norte do estado entre março de 2023 e abril de 2024. A triagem das propriedades para detecção de *Salmonella* na pimenta-do-reino foi realizada por meio da seleção aleatória de 109 propriedades rurais localizadas nos municípios de São Mateus, Jaguaré, Vila Valério, Rio Bananal, Nova Venécia, Conceição da Barra, Boa Esperança, Sooretama, São Gabriel da Palha, Pinheiros, Pedro Canário e Linhares, cuja soma das produções representa mais de 90% da produção estadual (IBGE, 2022). Uma amostra indicativa de lote de aproximadamente 250g foi coletada em cada propriedade para avaliação de presença/ ausência de *Salmonella* em 25g. A detecção ocorreu por reação em cadeia polimerase (PCR) em tempo real conforme detalhado no item 4.4. As propriedades que apresentaram resultado positivo foram selecionadas para a segunda etapa do projeto.

5.3. Monitoramento de *Salmonella*.

5.3.1. Monitoramento das contaminações nas propriedades rurais

Nove propriedades rurais com produção e secagem de pimenta-do-reino, localizadas nos municípios de São Mateus (latitude: 18°43'40", longitude: 40°14'01"; n=6), Jaguaré (latitude: 18°53'15", longitude: 40°5'48"; n=2) e Rio Bananal (latitude: 19°15'45", longitude: 40°20'22"; n=1), região norte do Espírito Santo (Figura 5), Brasil foram selecionadas para o estudo conforme critério descrito no item 4.2. Três delas praticavam a secagem em terreiros (P1, P2 e P3), três em estufas (P4, P5 e P6) e as outras três em secadores de tambor rotativo com aquecimento direto do ar (P7, P8 e P9). Três empresas que beneficiam e exportam pimenta-do-reino em grãos, localizadas nos municípios de São Mateus (latitude: 18°42'40", longitude: 39°52'30"; n=2) e Linhares (latitude: 19°22'14", longitude: 40°03'56"; n=1) também foram incluídas nesse estudo. A coleta de amostras nas propriedades rurais e nas empresas de beneficiamento foram

realizadas em três dias distintos durante os meses de julho e setembro em 2022 e em 2023, totalizando seis coletas ao longo do estudo.

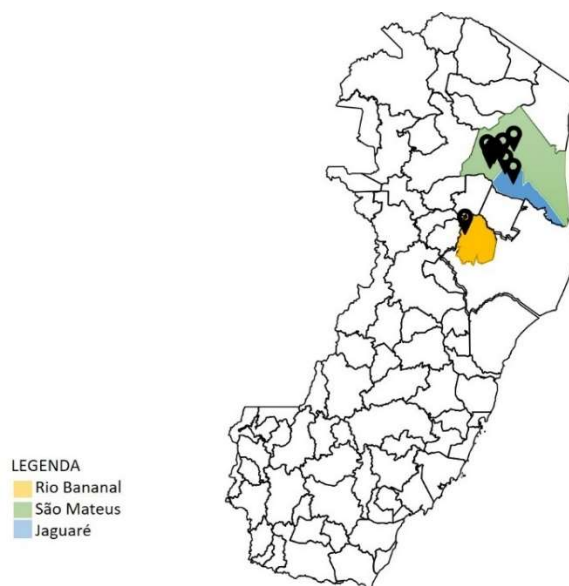


Figura 5. Localização das propriedades rurais no Estado do Espírito Santo monitoradas no estudo

Foram coletadas 408 amostras, sendo 233 amostras de pimenta-do-reino e 175 amostras ambientais. Nas propriedades rurais, a pimenta-do-reino foi coletada na planta ($n=54$), no solo ($n=54$), após debulha ($n=35$) e no armazenamento ($n=54$). Amostras ambientais de solo ($n=54$), água ($n=54$) e resíduo da secagem ($n=49$) também foram coletadas. Nas propriedades, os pontos de coleta foram determinados aleatoriamente. Cada amostra de solo (900g) foi composta por 10 porções de 90g coletadas em diferentes pontos. Amostras de água (500mL) foram coletadas na saída da irrigação mais próxima ao local de coleta do solo. Amostras de pimenta-do-reino (500g) foram compostas por 10 porções de 50g coletadas em diferentes plantas, locais do solo e sacarias. O resíduo da secagem (500g) foi obtido pela varredura de terreiros, estufas e secadores, com escovas e pás higienizadas. As amostras foram transportadas em caixas térmicas com gelo seco. O prazo máximo entre a coleta e a análise foi de 24 horas para amostras de água e de pimenta-do-reino e de três dias para solo, resíduos e pimenta-do-reino em grão.

5.3.2. Monitoramento das contaminações nas unidades de beneficiamento

No beneficiamento, foram coletadas 54 amostras nas três empresas, sendo 36 de pimenta-do-reino e 18 de resíduo do beneficiamento. Amostras de pimenta-do-reino seca foram coletadas na recepção ($n=18$) e no armazenamento do produto destinado à exportação ($n=18$). Para cada amostra (500 g), cinco subamostras de aproximadamente 100 g foram coletadas de diferentes sacarias do mesmo lote e reunidas para formar uma amostra composta. As amostras de resíduo do beneficiamento (500g) foram coletadas nos equipamentos ou região próxima por varredura com pás e escovas higienizadas. A Figura 6 representa os tipos de amostras e as quantidades analisadas ao longo do estudo.

Resumo do experimento

Propriedades Rurais

3 propriedades x 3 sistemas de secagem x 3 amostras/ safra x 2 safras = 54 amostras

Amostras de pimenta



Fruto na planta
n = 54



Fruto no solo
n = 54



Fruto debulhado
n = 39



Pimenta seca
n = 54

Amostras ambientais



Água de irrigação
n = 54



Solo agrícola
n = 54



Resíduo da secagem
n = 49

Total = 358 amostras

Indústria Exportadora

3 unidades de beneficiamento x 3 amostras/ safra x 2 safras = 18 amostras

Amostras de pimenta



Matéria-prima
n = 18



Produto para exportação
n = 18

Amostras ambientais



Resíduo do beneficiamento
n = 18

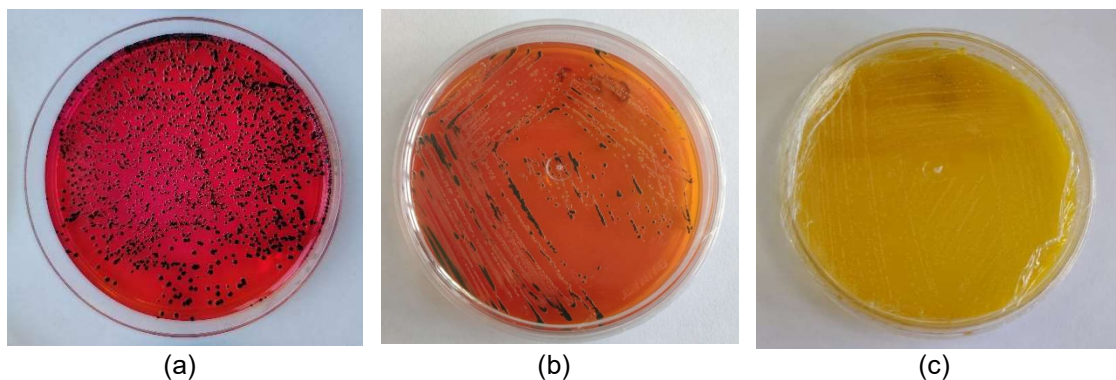
Total = 54 amostras

Figura 6. Resumo da metodologia adotada na coleta das amostras de pimenta-do-reino e ambientais para rastreamento das contaminações por *Salmonella*.

5.4. Detecção, quantificação e tipificação de *Salmonella*.

A determinação de *Salmonella* em amostras de pimenta foi realizada por meio de teste de diluição única (10 x 25g) da técnica do número mais provável (NMP) (BLODGETT, 2010). A detecção de *Salmonella* spp. foi realizada pelo método PCR em tempo real utilizando o kit iQ-Check *Salmonella* spp. II (Bio-rad, EUA) que inclui as etapas de enriquecimento, extração do DNA, PCR em tempo real e análise e interpretação dos dados. As amostras de pimenta foram divididas em 10 porções de 25g e transferidas para 10 frascos contendo 225mL de água peptonada tamponada (BPW), seguida por incubação a 37°C por 18 ± 2 horas para o enriquecimento. Em seguida uma alíquota de 1mL de cada frasco da amostra enriquecida foi transferida para um tubo Falcon esterilizado para obtenção da amostra composta. Uma alíquota de 100µL da amostra composta foi submetida a extração de DNA pela adição de 100µL do reagente de lise (Reagente A, Bio-rad, EUA), seguida homogeneização da mistura por pipetagem, incubação em termobloco pré-aquecido (97°C/ 15 minutos), homogeneização em vórtex de alta velocidade e centrifugação por 2 minutos. Posteriormente, 5 µL do material foi adicionado a 45 µL da mistura das soluções de amplificação (Reagente C, Bio-rad, EUA), primer e sondas fluorescentes (Reagente B, Bio-rad, EUA) no poço identificado para a amostra na placa de PCR. O mesmo procedimento foi realizado para os controles positivos e negativos (Reagentes D e E, Bio-rad, EUA). A análise foi realizada no termociclador (CFX96, Bio-rad, EUA) e os dados processados pelo software CFX Manager IDE (Bio-rad, EUA). Para cada amostra composta com resultado positivo, o procedimento a partir do material enriquecido foi repetido para os dez frascos.

Os resultados positivos para PCR foram confirmados pelo método de cultura em placas conforme ISO 6579-1:2017 (ISO, 2007). Uma alíquota de 0,1mL da amostra pré-enriquecida coletada dos frascos positivos foi submetida ao enriquecimento secundário em caldo Rappaport Vassiliadis (RVS, Himedia, Brasil) em banho maria a 41,5°C por 24h ± 3h, seguida do isolamento em placas contendo ágar desoxicolato lisina xilose (XLD, Himedia, Brasil) incubadas a 37 ± 1°C por 24h ± 3h (Figura 7). Colônias típicas e atípicas foram submetidas a testes bioquímicos pelo método API 20E (API 20E, Biomeritux, Franca) e à reação de aglutinação com antissoros polivalentes (Probac, São Paulo, Brasil). Isolados positivos para *Salmonella* foram submetidos à sorotipagem pelo método de aglutinação com antissoros específicos O e H e nomeados de acordo com esquema de Kauffmann-White (GRIMONT; WEIL, 2007).





(d)

Figura 7. Colônias de *Salmonella* em ágar XLD e resultado de teste bioquímicos para dois isolados distintos (a) Colônias típicas, (b) Colônias com baixa produção de H₂S, (c) Colônias atípicas, (d) Perfil bioquímico de *Salmonella*

Quadro 1. Testes bioquímicos e fenótipo de *Salmonella* conforme bateria de testes API 20E®

Teste	Componente ativo	Reações enzima	Fenótipo <i>Salmonella</i>	Resultado
ONPG	2-nitrofenil-βD-galactopiranosida	β-galactosidase	Negativo	Incolor
ADH	L-arginina	Arginina dihidrolase	Positivo	Vermelho alaranjado
LDC	L-lisina	Lisina descarboxilase	Positivo	Vermelho alaranjado
ODC	L-ornitina	Ornitina descarboxilase	Positivo	Vermelho alaranjado
CIT	Citrato de trisódio	Utilização de citrato	Positivo	Azul-esverdeado
H ₂ S	Tiosulfato de sódio	Produção de H ₂ S	Positivo	Preto
URE	Ureia	Urease	Negativo	Amarelo
TDA	L-triptofano	Triptofano desaminase	Negativo	Amarelo
IND	L-triptofano	Produção de indol	Negativo	Incolor
VP	Piruvato de sódio	Produção de acetoína	Negativo	Incolor
Gel	Gelatina	Gelatinase	Negativo	Sem difusão
GLU	D-glucose	Fermentação - oxidação	Positivo	Amarelo
MAN	D-manitol	Fermentação - oxidação	Positivo	Amarelo
INO	Inositol	Fermentação - oxidação	Negativo	Azul-esverdeado
SOR	D-sorbitol	Fermentação - oxidação	Positivo	Amarelo
RHA	L-ramnose	Fermentação - oxidação	Positivo	Amarelo
SAC	D-sacarose	Fermentação - oxidação	Negativo	Azul-esverdeado
MEL	D-melibiose	Fermentação - oxidação	Positivo	Amarelo
AMY	Amigdalina	Fermentação - oxidação	Negativo	Azul-esverdeado
ARA	L-arabinose	Fermentação - oxidação	Positivo	Amarelo

Fonte: elaborado pela autora com base no manual do fabricante (API 20E, Biomeritux, Franca)

A determinação de *Salmonella* em amostras de solo e resíduos da secagem e resíduo do beneficiamento seguiram a mesma metodologia descrita acima para a pimenta-do-reino, no entanto utilizou-se a diluição única de 5x 25g (125g) de amostra. Amostras de água (100mL) foram concentradas por filtração à vácuo em membrana de éster de celulose, 0,22 µm, 47 mm (Milipore, EUA) antes do enriquecimento.

Salmonella foi quantificada pela técnica do número mais provável em uma diluição única de 10 x 25g (250 g) para as amostras de pimenta-do-reino e 5x 25g (125g) para amostras ambientais de solo, água e resíduo BLODGETT, (2010). A seguinte equação foi utilizada para estimativa:

$$\text{MPN/g} = 1/m * 2.303 * \log_{10} \sum t_j m_j / \sum t_j - g_j m_j$$

onde m denota a quantidade de amostra em cada frasco, $\sum t_j m_j$ denota os gramas de amostra em todos os frascos, $\sum (t_j - g_j) m_j$ denota os gramas de amostra nos frascos negativos. O limite de detecção foi de 0,004 NMP/g e os resultados foram expressos em número mais provável por grama (NMP/g).

5.5. Detecção e quantificação de *Escherichia coli*

Escherichia coli foi enumerada em amostras de pimenta-do-reino secas e na água de irrigação como indicador de contaminação fecal. Amostras de 25g de pimenta-do-reino seca foram misturadas a 225 mL de água peptonada 0,1% (BPW, Kasvi, Brasil) e homogeneizadas manualmente conforme ISO 6887-1 (ISO, 1999). Após uma hora de repouso a temperatura ambiente, 1 mL da diluição foi colocado em placas de Petrifilm® EC 6404 (3M, Minnesota, EUA), seguindo as instruções do fabricante, com limite de detecção de 10 UFC/g (AOAC, 2019). Colônias azuis com produção de gás indicam presença de *E. coli* (Figura 8). O resultado da contagem foi expresso em UFC/g, com limite de detecção 10 UFC/g.

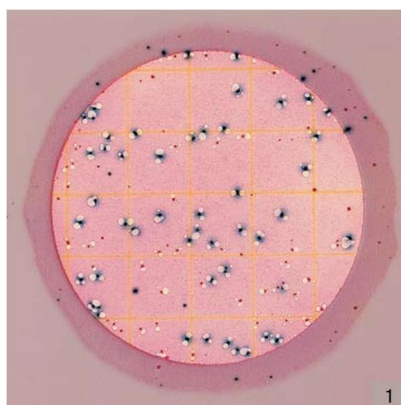


Figura 8. Contagem de *E. coli* e coliformes em Petrifilm EC 6404 (3M, Minnesota, EUA), *E. coli*: colônias azuis com gás, coliforme totais: colônias vermelhas e azuis com gás

Fonte: guia de interpretação resultados das placas de Petrifilm® EC 6404 (3M, Minnesota, EUA)

A determinação de *E. coli* nas amostras de água foi realizada pelo método Colilert® Quanti-Tray® 2000 (IDEXX, EUA), seguindo as instruções do fabricante. Os resultados foram expressos em NPM/100 mL, com limite de detecção de 1 NMP/100 mL (AOAC, 2016).

5.6. Determinação da atividade de água

A atividade de água (a_w) foi determinada nas amostras de pimenta-do-reino em até 48 horas após a coleta pela medição direta no analisador de atividade de água (Labswift, Novasina, Suíça) (Figura 9). As análises foram realizadas em triplicata.



Figura 9. Analisador de atividade de água (Labswift, Novasina, Suíça)

5.7. Análise estatística

Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado (DIC) para avaliar a prevalência do patógeno nas etapas de produção e beneficiamento da pimenta-do-reino. Para avaliação na produção agrícola utilizou-se três fatores: o tipo de amostra (7), método de secagem (3) e produtor (3) e para avaliação no beneficiamento foram utilizados dois fatores: tipo de amostra (3) e empresa exportadora (3). Foram realizadas seis repetições por tratamento. A prevalência de *Salmonella* foi estimada utilizando o intervalo de pontuação de Wilson com intervalo de confiança de 95% (WILSON, 1927).

Testes não paramétricos foram empregados para avaliar diferenças significativas entre os tratamentos, visto que os dados não atendem aos pressupostos de homocedasticidade e distribuição normal, mesmo após serem transformados. Utilizou-se, portanto, o teste de Kruskal-Wallis ($p > 0,000035$), seguido pelo teste de Dunn para identificar grupos estatisticamente diferentes para comparar tipos de amostras, métodos de secagem, propriedades e unidades de processamento. Em complemento, os dados foram submetidos à análise de componentes principais por kernel (Kernel PCA) e os resultados apresentados na forma de gráficos.

O teste exato de Fisher ($p < 0,05$) foi utilizado para avaliar diferenças significativas entre a contaminação pré-colheita e pós-colheita. A diversidade de sorotipos foi calculada em forma de percentual, obtido pela razão entre o número de ocorrências de um sorotipo e o número total de sorotipos constatados. A correlação entre a presença de *Salmonella* e *E. coli* na pimenta-do-reino seca foi analisada pelo teste qui-quadrado de Pearson. A análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey foram utilizadas para análise de dados de atividade de água com probabilidades de análise de $p \leq 0,05$. As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do Software R.

6. RESULTADOS

6.1. Caracterização da produção, triagem e seleção das propriedades

6.1.1. Caracterização da produção

Foram realizadas 47 entrevistas com produtores rurais dos municípios de São Mateus (42,6%), Jaguaré (21,3%), Vila Valério (12,8%), São Gabriel da Palha (10,6%), Boa Esperança (8,5%) e Pinheiros (4,3%). A maior parte das lavouras possuem uma área de até 5 hectares (81,3%), com no máximo 5.000 plantas (81,2%) e produção anual de até 10 toneladas por ano (Figura 10).

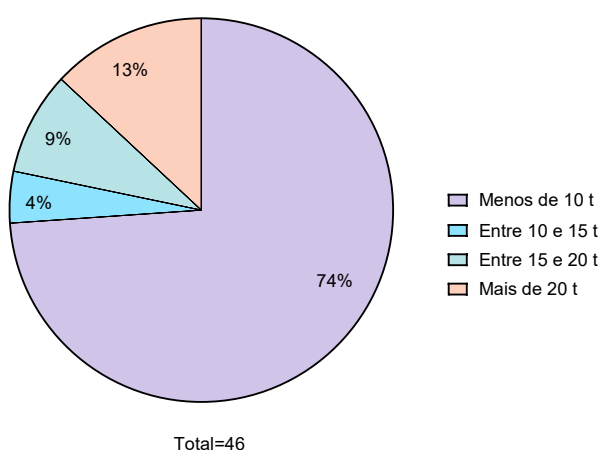


Figura 10. Frequência de propriedades por produção anual de pimenta-do-reino (t/ ano)

6.1.2. Destinação dos resíduos gerados na propriedade

A maior parte das propriedades estão localizadas em comunidades rurais que não possuem acesso ao serviço público de coleta de resíduos sólidos. Constatou-se que apenas 44,7% (21/47) dos entrevistados possuem acesso ao serviço de coleta pública na comunidade, no entanto, apenas 76,2% (16/21) utilizam o serviço. Em contrapartida, 34,6% (9/26) dos produtores que não tem acesso à coleta pública levam os resíduos até um local próximo que possui acesso ao serviço. Portanto, estima-se que 51,9% dos agricultores destinem os resíduos para o sistema de coleta pública. O principal destino dos resíduos sólidos gerados nas propriedades é destinado à queima (52,1%), seguido de compostagem (18,8%), coleta seletiva (8,3%) e alimentação animal (2,1%). A soma dos percentuais excede os 100% visto que 12 dos 48 entrevistados relataram adotar duas mais formas de destinação do resíduo sólido em suas propriedades. A disposição inadequada desses resíduos nas proximidades das lavouras ou áreas de secagem foi observada durante a coleta das amostras (Figura 11) e contribui para atração e abrigo de pragas. Nenhum dos entrevistados relatou possuir acesso a rede de esgoto e constatou-se que o principal destino do esgoto doméstico é o tratamento em fossa séptica (77,1%), seguida da destinação em fossas rudimentares (18,8%) e lançamento a céu aberto (4,2%) no solo ou em cursos d'água. O despejo de esgoto residencial sem tratamento em lagoas

foi evidenciado (Figura 11), indicando que a ausência de saneamento rural é um fator preponderante para contaminação da água utilizada na irrigação ou em pulverizações.



Figura 11. Destinação dos resíduos nas propriedades rurais. (a) Acúmulo de resíduos sólidos nas proximidades das áreas de secagem, (b) Despejo de esgoto doméstico a céu aberto com risco de contaminação da água de irrigação.

6.1.3. Práticas agrícolas adotadas no cultivo da pimenta-do-reino

A maior parte dos agricultores (89,6%) já ouviram falar sobre as contaminações por *Salmonella* na pimenta-do-reino, no entanto 54,2% deles possuem algum conhecimento superficial sobre as boas práticas agrícolas e apenas 22,9% já participaram de capacitação sobre o tema.

O uso de fertilizantes, orgânicos ou não, ocorre em 91,4% das propriedades, sendo que em todas elas a aplicação é feita diretamente no solo e em 36,2% a aplicação é realizada também nas folhas. A adubação orgânica está presente em 70,2% das propriedades avaliadas, no entanto o uso de adubo não compostado é uma prática adotada em 31,9% das lavouras (Figura 12). A falta de controle do processo de compostagem também incorre em risco de contaminação, constatou-se que apenas quatro dos 15 produtores (26,7%) que utilizam adubo compostado possuem controle e registro do processo. Além disso falhas na armazenagem do composto orgânico foram constatadas em cinco das 33 propriedades (15,2%) que praticam adubação orgânica. O uso de lodo de esgoto não foi observado nas propriedades estudadas.

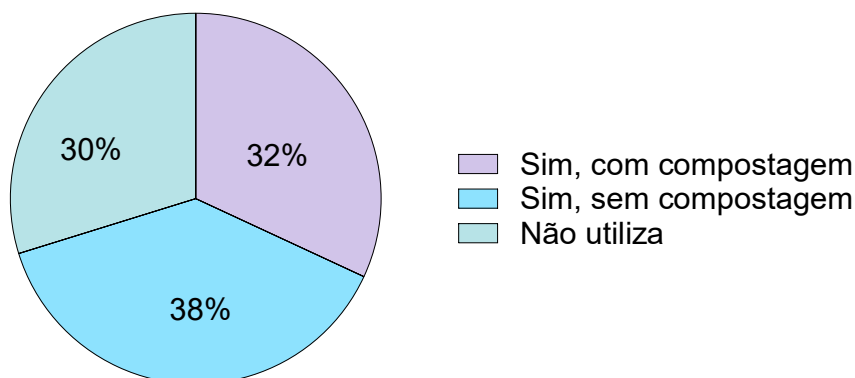


Figura 12. Frequência de uso de adubo orgânico em lavouras de pimenta-do-reino

A irrigação é adotada em 100% das propriedades estudadas, os principais sistemas de irrigação utilizados são microaspersão (43,8%), microjet (31,3%) e gotejamento (29,2%) (Figura 13). A água de uso agrícola, destinada à irrigação e pulverizações, é captada em represas (63,8%), poços artesianos (25,5%), córregos ou rios (12,8%), nascentes (6,4%) e poços escavados (2,1%). O somatório dos percentuais excede o valor de 100% pois sete das 47 propriedades (18,9%) possuem mais de uma fonte para captação de água para uso agrícola. O uso de águas superficiais é o mais comum para irrigação e pulverizações, estando presente em 85,1% (40/47) das propriedades estudadas. Apenas 6,4% dos agricultores informaram já ter feito análise microbiológica da água captada, porém nenhum deles faz um monitoramento com frequência regular para avaliar a qualidade da água de uso agrícola. O uso de águas residuais é uma prática pouco comum nos cultivos de pimenta-do-reino, ocorrendo em apenas uma das 47 propriedades estudadas.



Figura 13. Irrigação de lavouras de pimenta-do-reino. (a) Captação superficial de água para uso agrícola (irrigação e pulverização), (b) Sistema de irrigação por microjet implantado em lavoura de pimenta-do-reino

O sistema de colheita manual prevalece e é adotado em 97,9% das propriedades rurais. A coleta de frutos que caem sobre solo é uma prática comum em 44 das 47 propriedades estudadas (93,6%). Na maior parte delas (79,5%), a colheita de frutos no solo ocorre junto com os frutos coletados na planta, já em 20,5% os frutos são coletados separadamente. O uso de utensílios limpos e em boas condições de uso na colheita da pimenta-do-reino foi observado em 75,0% das propriedades, 47,9% dos entrevistados alegaram usar os recipientes exclusivamente para colheita da pimenta-do-reino e observou que 81,3% dos produtores guardam estes utensílios em locais protegidos. A higienização dos frutos após a colheita é uma prática pouco comum, presente em apenas uma das 47 propriedades avaliadas. A presença de animais domésticos e de criação nas lavouras no período da colheita também foi evidenciada durante a coleta das amostras (Figura 14)



Figura 14. Colheita da pimenta-do-reino. (a) Colheita manual dos frutos na planta, (b) Utensílios utilizados na colheita, (c) Frutos maduros caídos sob o solo, (d) Frutos secos e maduros coletados no solo das lavouras, (e) presença de animais no campo no período da colheita

A debulha mecânica prevalece em 89,7% das propriedades. Os frutos colhidos ficam armazenados a temperatura ambiente até que sejam debulhados e secos (Figura 15). Na maior parte das propriedades a pimenta-do-reino colhida fica armazenada nos galpões de secagem (30,9%), seguido do armazenamento na lavoura (20,5%), na tulha (20,5%), no terreiro (17,9%), nas estufas de secagem (5,1%) ou em local definido (5,1%). Os frutos podem ficar armazenados de um a três dias até a secagem (62,1%), no entanto, em algumas propriedades esse armazenamento pode durar de quatro a sete dias (29,7%) ou ocorrer em períodos não informados pelo agricultor (8,1%).



Figura 15. Debulha da pimenta-do-reino. (a) Pimenta-do-reino armazenada para ser debulhada, (b) Equipamento utilizado para debulhar a pimenta-do-reino

A maior parte dos agricultores (55,3%) cultivam e secam a pimenta-do-reino na propriedade, 23,4% secam parte da produção na propriedade e terceirizam outra parte para outros agricultores que prestam serviço de secagem, normalmente em secadores. 21,3% dos entrevistados não realizam secagem na propriedade e terceirizam todo processo pós-colheita. A secagem da pimenta-do-reino ocorre em três sistemas: a secagem em terreiros, estufas e secadores mecânicos, podem utilizar fornalhas com aquecimento direto ou indireto dos frutos (Figura 16).



Figura 16. Sistemas de secagem da pimenta-do-reino adotado no norte do Espírito Santo, (a) secagem em terreiro, (b) secagem em estufa e (c) secagem em secador de aquecimento direto.

O principal sistema de secagem adotado pelos agricultores é a secagem em terreiros (52,6%), seguida da secagem mecânica em secador de fogo direto (34,2%), secagem em estufa

(28,9%), secagem mecânica em secador de fogo indireto (10,5%) e secagem em terreiros suspensos (2,6%). O somatório dos percentuais ultrapassa 100%, pois 28,9% propriedades (11/47) utilizam dois sistemas de secagem em sua produção, secando uma parcela em terreiro e outra em secador de fogo direto (6/11), ou uma parcela em terreiro e outra em secador de fogo indireto (2/11), ou parte em estufa e outra em secador de fogo direto ou indireto (2/11) ou combinando a secagem em estufa com terreiro suspenso (1/11).

O tempo de secagem varia conforme o sistema adotado, a secagem em terreiro foi a que apresentou período mais variado, de a um a dois dias (2/12 propriedades), três a quatro dias (6/12 propriedades) ou mais de cinco dias (3/12 propriedades). A secagem em estufa, sobre o terreiro de cimento ou terreiro suspenso, apresentou menor variação do tempo de duração, com estimativa de 3 a 4 dias (4/8 propriedades) e mais de cinco dias (1/8 propriedades). A secagem mecânica com sistema direto de aquecimento é o sistema de secagem mais rápido com duração de no máximo 24 horas. A secagem mecânica com secador de fogo indireto dura entre um e dois dias. Dez agricultores não souberam estimar o tempo de secagem de sua produção. A umidade dos grãos ao final da secagem é avaliada visualmente em 60,4% das propriedades e o uso de equipamentos de medição foi constatado em 39,6% das propriedades.

Na maioria das propriedades (56,4%), a área de secagem não é cercada, o que permite o acesso de animais e aumenta as contaminações durante o processo. Equipamentos sujos ou em condições impróprias de funcionamento contribuem para introdução de contaminantes no produto (Figura 17). Constatou-se que 53,3% dos equipamentos estavam em más condições de higiene e com resíduos do produto e 21,1% apresentavam mau estado de conservação e funcionamento. A maior parte dos agricultores (52,6%) alegaram limpar os equipamentos ao término de cada operação de secagem, no entanto 21,1% informaram não limpar os equipamentos e 26,3% realizam a limpeza com menor frequência (mensal ou anual). Não foi evidenciado protocolos e registro da higienização dos equipamentos nem protocolos padronizados de limpeza. Reutilizar embalagens para ensacar a pimenta-do-reino seca é uma prática comum em 71,1% das propriedades e aumenta o risco de contaminação cruzada.



Figura 17. Equipamentos em condições impróprias de higiene, com acúmulo de pimenta-do-reino de processamentos anteriores ou de resíduos de secagem.

As condições de armazenamento das sacas nas propriedades rurais estão apresentadas pela Figura 18. As principais falhas identificadas foram: ausência de barreiras para o acesso de pragas nos armazéns (64,3%), presença de pragas e pequenos animais no

armazém (60,7%), sacaria armazenadas com outros produtos (53,6%), sacarias acondicionadas diretamente sobre o piso ou encostada na parede (35,7%) e presença de produtos químicos ou material contaminante nos armazéns (32,1%). A maioria dos agricultores (58,3%) não monitora a umidade dos grãos de pimenta-do-reino durante o armazenamento e 20,8% fazem apenas o monitoramento visual. Falhas durante o transporte também resultam na contaminação cruzada da pimenta-do-reino tais como uso dos veículos para outras atividades na propriedade (78,9%), ausência de cobertura para proteção da pimenta-do-reino transportada sob sol e chuva (60,5%) e transporte do produto sem limpeza prévia do veículo (36,8%).

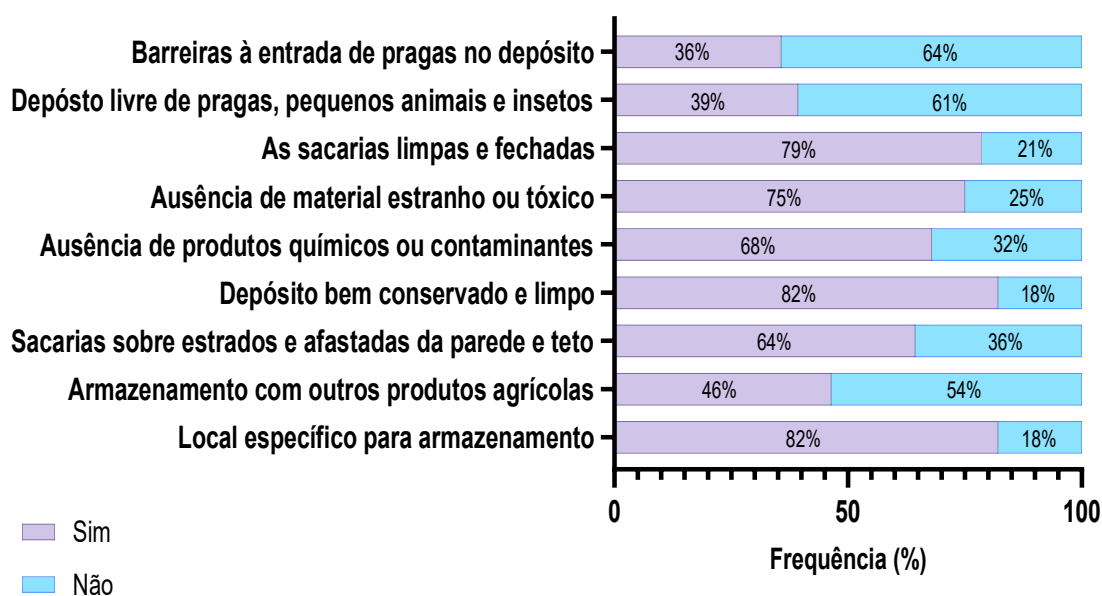


Figura 18. Condições de armazenamento dos grãos de pimenta-do-reino nas propriedades rurais

A maior parte dos agricultores vende a pimenta-do-reino para atravessadores (72,3%), que adquirem o produto de vários agricultores e comercializam para as empresas de exportação. Alguns produtores vendem diretamente para as empresas exportadores (38,3%) ou para cooperativas e associações (12,8%). A soma dos percentuais ultrapassa 100% pois oito dos 47 produtores comercializam os produtos para atravessadores ou diretamente para empresas, cooperativas e associações. A maioria dos agricultores (74,5%) comercializam o produto para

atravessadores ou empresas localizadas no município. A comercialização com a nota de produtor rural foi constatada em 93,6% das entrevistas o que possibilita o rastreamento dos lotes comercializados para as empresas de exportação.

6.1.4. Triagem e seleção das propriedades

Amostras de pimenta-do-reino (n=109) foram coletadas em propriedades rurais localizadas em São Mateus (33,0%), Jaguaré (14,7%), Vila Valério (10,1%), Rio Bananal (9,2%), Nova Venécia (7,3%), Pinheiros (6,4%), Conceição da Barra (4,6%), Sooretama (4,6%), Boa Esperança (3,7%), Pedro Canário (2,8%), São Gabriel da Palha (2,8%) e Linhares (0,9%). A caracterização das amostras por tipo de secagem está representada na Figura 19, ressaltando a prevalência das amostras oriundas da secagem em secador de fogo direto (55,0%).

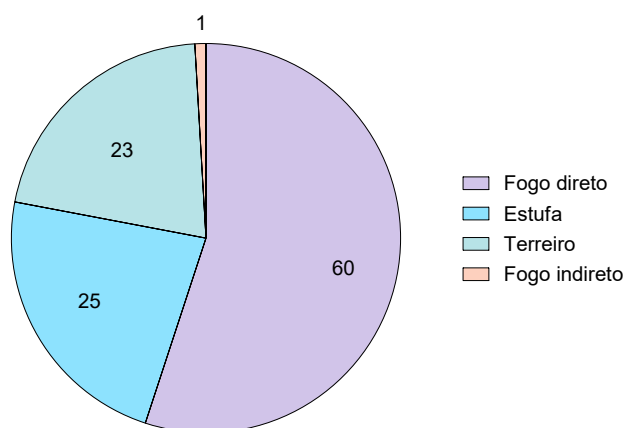


Figura 19. Origem das amostras conforme o sistema de secagem adotada.

A prevalência de *Salmonella* nas amostras coletadas na primeira etapa do estudo foi de 3,7% (IC 95%, 13,5 - 23,4%). As quatro amostras positivas foram coletadas nos municípios de Vila Valério (2), Jaguaré (1) e Rio Bananal (1). Três das quatro amostras positivas eram oriundas de estufas e apenas um era proveniente da secagem em terreiro.

6.2. Monitoramento da *Salmonella* no ambiente de produção agrícola

A atividade de água (a_w) da pimenta-do-reino em grão oriunda de propriedades rurais variou entre 0,48 e 0,86 (0,64) enquanto a a_w dos grãos coletados em empresas de beneficiamento variou entre 0,54 e 0,80 (0,62). *Salmonella* foi detectada em 43 das 233 amostras de pimenta-do-reino analisadas (18,5%, com IC 95% 13,5-23,4%), sendo 38 oriundas de propriedades rurais e cinco de empresas de exportação. A probabilidade de detectar *Salmonella* nas amostras coletadas nas etapas pós-colheita foi 8% maior do que na fase pré-colheita ($p=0,00004$). *Salmonella* também foi detectada em 22 das 175 amostras ambientais analisadas (16,7%, com IC 95% 0,0%-33,9%), sendo nove amostras de solo, dez de resíduo da secagem e três de resíduo do beneficiamento. Foram identificados 12 sorotipos: Javiana (38,8%), Agona (11,1%), Saintpaul (9,3%), Typhimurium (7,4%), Newport (7,4%), Cerro (5,6%), Muenster (5,6%), Euston (3,7%), Oranienburg (3,7%), Mbabdaka (3,7%), Heidelberg (1,9%) e Minnesota (1,9%)

nos 54 isolados obtidos. Uma amostra do grão e duas do fruto debulhado apresentaram contaminação por múltiplos sorotipos.

E. coli foi detectada em 34 amostras pimenta-do-reino seca (37,8%, com IC 95% 27,8-47,8%), sendo 17 delas procedente de propriedades rurais e 17 de empresas de beneficiamento. *Salmonella* e *E. coli* foram detectadas em seis amostras de pimenta-do-reino seca entre as 90 analisadas e não foi observada uma correlação entre a presença de *Salmonella* e *E. coli* ($p=0,087$).

6.2.1. Monitoramento do patógeno nas propriedades rurais

Salmonella esteve presente em 10,7% (IC 95%, 7,5 - 14,0%) das amostras coletadas nas propriedades rurais. A tipagem dos 48 isolados oriundos de amostras coletadas nas propriedades levou à identificação de 11 sorotipos: Javiana (18; 37,5%), Agona (5; 10,4%), Saintpaul (5; 10,4%), Typhimurium (4; 8,3%), Newport (4; 8,3%), Cerro (3; 6,3%), Muenster (3; 6,3%), Euston (2; 4,2%), Mbandaka (2; 4,2%), Heidelberg (1; 2,1%) e Minnesota (1; 2,1%). Uma amostra de pimenta-do-reino em grão e duas de fruto debulhado estavam contaminadas por múltiplos sorotipos. Diferentes sorotipos foram identificados em grãos de pimenta-do-reino (8), frutos debulhados (5), solo (5) e resíduos de secagem (3). *Salmonella* Javiana foi o sorotipo prevalente, sendo detectado em todos dos tipos de amostras ambientais e de pimenta-do-reino.

O percentual de amostras positivas para *Salmonella*, a contagem nas amostras positivas e os sorotipos identificados para cada matriz analisada estão representado na Tabela 6. Maiores percentuais de detecção foram constatados na pimenta-do-reino em grão (22,2%), resíduo da secagem (20,4%) e no solo (16,7%). Maiores contagens ($>0,092$ NMP/g) foram constatadas no fruto debulhado e em grãos armazenados. Maior diversidade de sorotipos foi constada nos grãos (8), no fruto debulhado (5) e no solo (5).

Tabela 6. Prevalência, contagem e sorotipos de *Salmonella* em diferentes etapas da produção primária e ambiente de produção da pimenta-do-reino.

Tipo de amostra	Amostra (n)	Prevalência (%) (intervalo de confiança 95%)	Contagem em positivos (média) (NMP/g)	Sorotipos (%)
Água	54	0,0	-	-
Solo	54	16,7 (6,7 – 26,6)	0,008 a $>0,064$	Javiana (53,8), Saintpaul (23,1), Cerro (7,7), Minnesota (7,7) e Newport (7,7)
Resíduo	49	20,4 (9,1 – 31,7)	0,008 a $>0,064$	Javiana (50,0), Agona (25,0), Heidelberg (25,0)
Fruto na planta	54	0 (0,0)	-	-
Fruto no solo	54	3,7 (0,0 - 8,7)	0,004 a $0,064$ (0,034)	Não identificado
Fruto na debulha	35	14,3 (2,7 – 25,9)	0,004 a $>0,092$	Newport (33,3), Agona (22,2), Typhimurium (22,2), Javiana (11,1) e Mbandaka (11,1)
Grão armazenado	54	22,2 (11,1 – 33,3)	0,004 a $>0,092$	Javiana (36,4), Muenster (13,6), Agona (9,1), Cerro (9,1), Euston (9,1), Saintpaul (9,1), Typhimurium (9,1) e Mbandaka (4,5)

Apenas contagens superiores aos limites de detecção foram apresentadas na tabela. MPN, número mais provável.

Com base no tipo de amostra, a taxa de detecção de *Salmonella* foi mais alta em pimenta-do-reino em grãos armazenada (22,2%), que foi significativamente maior ($P < 0,05$) em comparação com taxa de detecção em pimenta-do-reino coletada na planta (0,0%) e no solo (3,7%) (Figura 20). A prevalência de *Salmonella* em frutos coletados na debulha foi de 14,3% e não apresentou diferença significativa quando comparada às prevalências do patógeno o fruto coletado na planta e no solo e também não apresentou diferença significativa quando comparada aos grãos. A prevalência de *Salmonella* no resíduo de secagem também foi significativamente maior ($P < 0,05$) do que a detectada em água e em frutos coletados na planta e no solo.

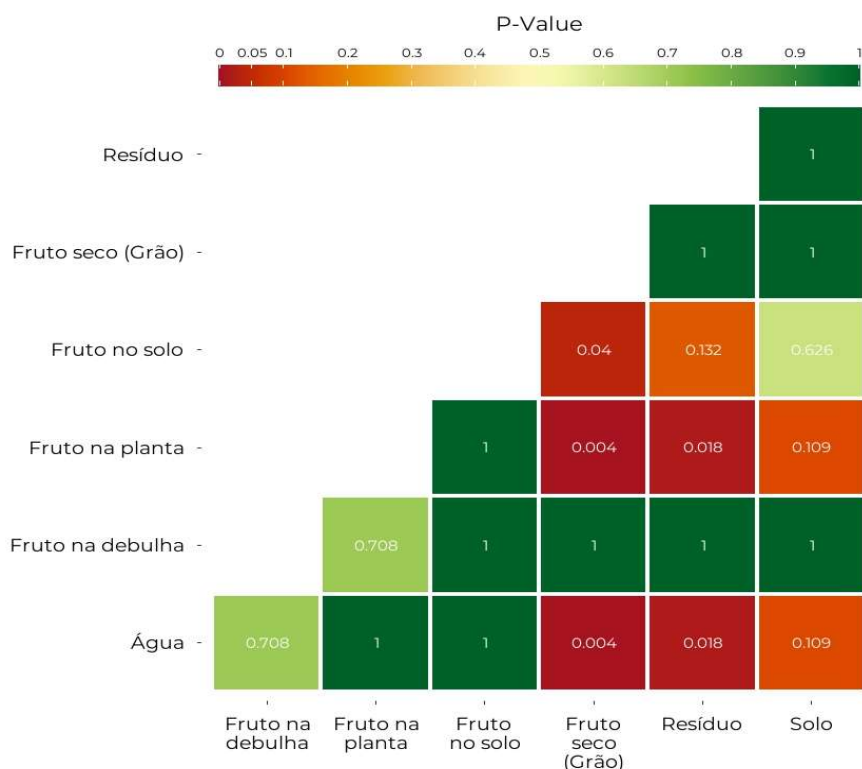


Figura 20. Valores de $p < 0,05$ indicam que há diferença significativa entre a ocorrência de *Salmonella* nos grupos confrontados pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis e Dunn.

Salmonella foi detectada no solo em seis das nove (66,7%) propriedades estudadas, com maior ocorrência na propriedade P1, seguida das propriedades P3 e P5 (Tabela 7). As análises estatísticas para avaliar a influência do sistema de secagem na prevalência de *Salmonella* consideraram a soma das variáveis pós-secagem, grãos e resíduos. Constatou-se que a secagem em terreiro apresentou maior prevalência e diferiu significativamente da secagem em estufa ($p=0,0013$) e em secadores ($p=0,0035$), com maior prevalência do patógeno em grãos e resíduos. Constatou-se que não há diferenças significativas entre os percentuais de detecção de *Salmonella* em sistemas de secagem em estufa e secadores ($p=0,6693$) (Figura 21)

Tabela 7. Prevalência e contagem de *Salmonella* no ambiente agrícola e na pós-colheita da pimenta-do-reino em propriedades rurais que adotam diferentes métodos de secagem.

Método de secagem	Origem	Amostras ambientais				Amostras de pimenta-do-reino					
		Solo		Resíduo da secagem		Fruto no solo		Fruto debulhado		Grão armazenado	
		N positivos/n amostras (%)	Contagem em positivos (NMP/g)	N positivos/n amostras (%)	Contagem em positivos (NMP/g)	N amostras positiva/n amostras (%)	Contagem em positivos (NMP/g)	N amostras positiva/n amostras (%)	Contagem em positivos (NMP/g)	N amostras positiva/n amostras (%)	Contagem em positivos (NMP/g)
Terreiro	P1	3/6 (50,0)	0,008 - 0,018	3/6 (50,0)	0,008 - >0,064	0/6 (0,0)	-	3/6 (50,0)	0,074 - >0,092	1/6 (16,7)	0,074
	P2	1/6 (16,7)	0,008	3/6 (50,0)	0,008 - >0,064	0/6 (0,0)	-	0/5 (0,0)	-	3/6 (50,0)	0,004 - >0,092
	P3	2/6 (33,3)	0,008 - 0,031	3/6 (50,0)	0,008 - >0,064	0/6 (0,0)	-	0/5 (0,0)	-	1/6 (16,7)	0,004
Estufa	P4	1/6 (16,7)	0,008	0/5 (0,0)	-	0/6 (0,0)	-	0/3 (0,0)	-	1/6 (16,7)	0,008
	P5	2/6 (33,3)	0,008 - >0,064	0/6 (0,0)	-	2/6 (33,3)	0,004 - 0,056	1/5 (20,0)	0,004	2/6 (33,3)	0,056 - >0,092
	P6	0/6 (0,0)	-	0/4 (0,0)	-	0/6 (0,0)	-	1/4 (25,0)	0,013	2/6 (33,3)	0,008 - 0,061
Secador	P7	0/6 (0,0)	-	0/5 (0,0)	-	0/6 (0,0)	-	0/3 (0,0)	-	0/6 (0,0)	-
	P8	0/6 (0,0)	-	1/6 (16,7)	0,018	0/6 (0,0)	-	0/2 (0,0)	-	2/6 (33,3)	0,004
	P9	1/6 (16,7)	0,008	0/5 (0,0)	-	0/6 (0,0)	-	0/2 (0,0)	-	0/6 (0,0)	-

* Apenas contagens superiores aos limites de detecção foram apresentadas na tabela.

** *Salmonella* não foi detectada na água de irrigação e nos frutos colhidos diretamente na planta

Salmonella foi detectada em duas amostras de pimenta-do-reino coletadas no solo da propriedade P5, com contaminações de 0,004 e 0,056 NMP/g (Tabela 7). Contaminações em frutos debulhados ocorreram em três propriedades (P1, P5 e P6), com maiores ocorrências (50,0%) e concentrações (0,074 a >0,092) na propriedade P1. A presença do patógeno foi constatada no grão armazenado em sete das nove (77,8%) propriedades avaliadas. Maiores frequências de contaminação e contagem do patógeno foram observadas em grãos secos em terreiro (5/18) e em estufa (5/18), comparado à grãos secos em secadores (2/18). Todas as propriedades que realizam secagem em terreiros e estufa apresentaram pelo menos uma amostra positiva para *Salmonella*. Duas amostras de grãos oriundos de secador e da mesma propriedade (P8) apresentaram contaminação. A propriedade P2 apresentou maior frequência de detecção (50,0%) do patógeno na pimenta-do-reino seca, com contagens que variaram entre 0,004 e >0,092 NMP/g.

No solo, as contagens variaram entre 0,008 a 0,048 NMP/g e uma amostra (P5) apresentou contagem superior a 0,064 NMP/g. O patógeno foi detectado no resíduo da secagem proveniente de quatro propriedades (44,4%), com maior ocorrência em resíduos coletados em terreiros (50%). Nenhum resíduo coletado em estufa foi positivo para *Salmonella* e apenas uma amostra de resíduo oriunda da secador (P8) apresentou contaminação e em baixa contagem (0,018 NMP/g).

A Figura 21 mostra as projeções das amostras nos dois primeiros componentes principais (matriz e tipo de secagem) após a aplicação do método de Kernel. As amostras oriundas de nove propriedades coletadas em seis campanhas foram agrupadas conforme a matriz e o tipo de secagem adotado para obtenção dos grãos, cada ponto representa as diferentes amostras. A separação observada entre os grupos sugere que a secagem em terreiro apresenta resultados diferentes para ocorrência de *Salmonella* quando comparada aos observados em estufas e secadores. Os eixos principais refletem as direções de máxima variância nos dados transformados.

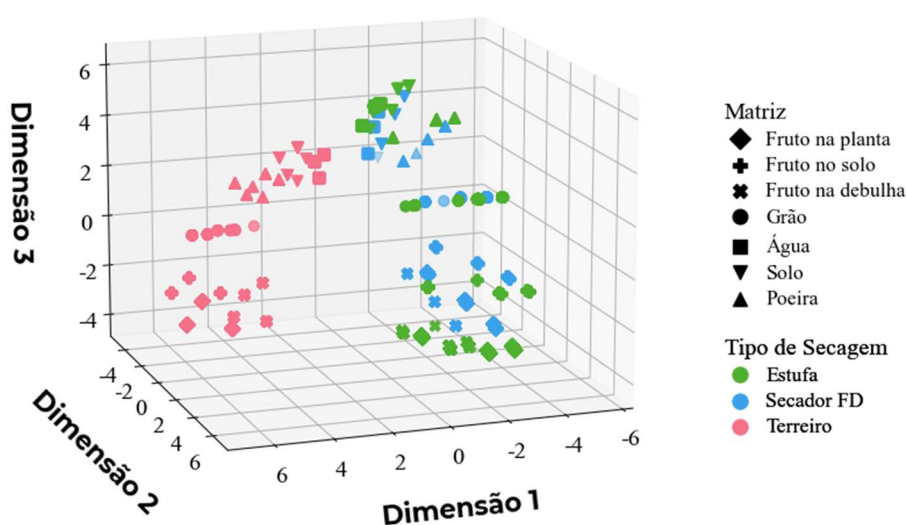


Figura 21. Resultados da análise de componentes principais por kernel (Kernel PCA) aplicada à ocorrência de *Salmonella* em amostras de pimenta-do-reino e ambientais (matriz) separados por tipo de secagem.

A Figura 22 mostra as projeções das amostras nos dois primeiros componentes principais (matriz e produtores) após a aplicação do método de Kernel. As amostras oriundas de nove propriedades coletadas, que adotam três tipos distintos de secagem, com seis campanhas foram agrupadas conforme a matriz e a propriedade onde foi coletada. Constatou-se uma separação em dois grupos. As propriedades P1, P2 e P3 apresentam resultados semelhantes que apresentam maior variância das demais propriedades, que compõem o segundo grupo. Esses resultados são complementares os apresentado na figura anterior, visto que as propriedades P1, P2 e P3 realizam a secagem dos frutos em terreiros, enquanto as demais propriedades realizam a secagem em estufas ou secadores. .

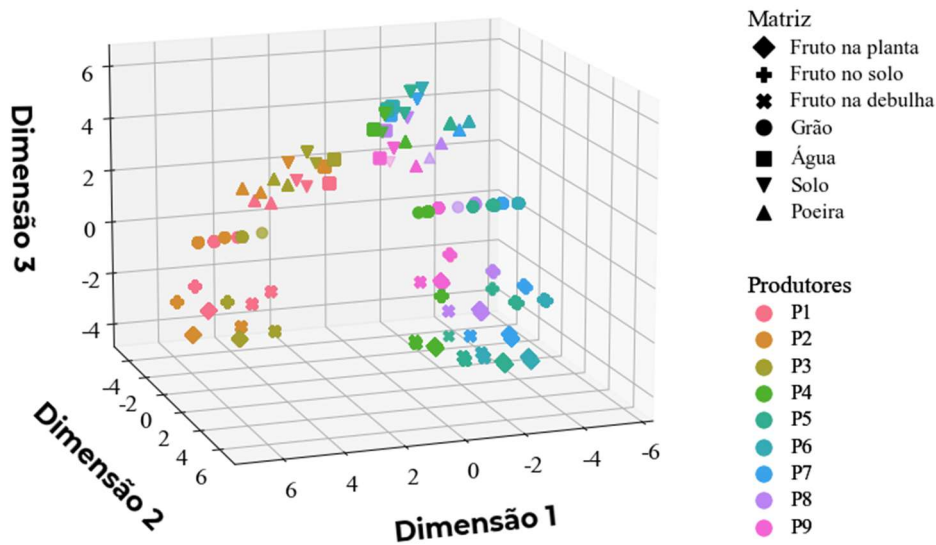


Figura 22. Resultados da análise de componentes principais por kernel (Kernel PCA) aplicada à ocorrência de *Salmonella* em amostras de pimenta-do-reino e ambientais (matriz) separados por produtor.

A a_w dos grãos de pimenta-do-reino coletados nas propriedades rurais variou entre 0,481 e 0,869 ($0,643 \pm 0,076$) e nenhuma das amostras apresentou a_w superior a 0,96, valor mínimo necessário para multiplicação de *Salmonella* no produto (Keller. et al., 2013). A Figura 20 apresenta mediana, frequência, valores mínimos e máximos de a_w dos grãos por método de secagem adotado. A a_w média foi de 0,648 para grãos secos em terreiro, 0,672 para os secos em estufa e 0,607 para os secos em secadores. Grãos oriundos de estufa apresentaram valores médios de a_w superiores aos observados em grãos oriundos de secadores de tambor rotativo ($p > 0,05$) e não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre as médias de a_w de grãos secos em secador e em terreiro.

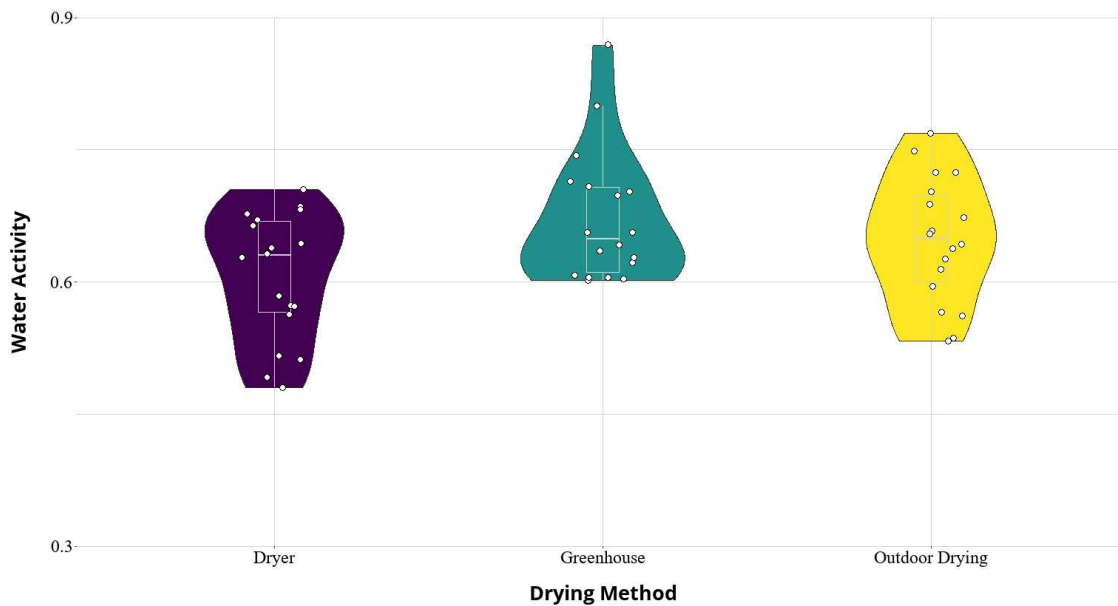


Figura 23. Atividade de água (aw) de grãos de pimenta-do-reino provenientes de diferentes métodos de secagem.

A Tabela 8 apresenta os valores de contagens de *E. coli* na água de irrigação oriunda das nove propriedades estudadas. *E. coli* foi constatada em 55,6% (IC 95%, 42,3 – 68,8%) das amostras de água. Entre as amostras contaminadas por *E. coli*, maior ocorrência (70,4%, IC 95%, 53,1 - 87,6%) foi constatada na água proveniente de fontes superficiais, contra 29,6% (12,4-46,9%) oriundas de fontes subterrâneas. Apenas 7,4% (IC 95%, 0,4 – 14,4%) das amostras, todas oriundas da captação superficial, apresentaram contaminação por *E. coli* superior a 200 NMP/ 100 ml, valor máximo de referência usado em irrigação (BRASIL, 2005). As propriedades P5 e P6 apresentaram contaminação por *E. coli* em todas as amostras analisadas.

Tabela 8. Origem da captação, percentual de ocorrência, percentual de amostras impróprias para irrigação e quantificação de *E. coli* em água de irrigação oriunda das nove propriedades estudadas.

Propriedade	Origem da captação	N positiva/ n amostras (%)	N em desacordo*/ n amostras (%)	Contagem em positivos (média) - NMP/100 ml
P1	Subterrânea	1/6 (16,7)	0/6 (0,0)	2
P2	Subterrânea	2/6 (33,4)	0/6 (0,0)	5,2 - 8,1 (6,7)
P3	Superficial	3/6 (50,0)	2/6 (33,4)	14,6 - 403,4 (210,7)
P4	Subterrânea	2/6 (33,4)	0/6 (0,0)	8,6 - 19,3 (14,0)
P5	Superficial	6/6 (100,0)	1/6 (16,7)	39,0 - 1.100 (268,6)
P6	Superficial	6/6 (100,0)	1/6 (16,7)	16,9 - 478,6 (118,2)
P7	Subterrânea	3/6 (50,0)	0/6 (0,0)	1,0 - 34,5 (15,5)
P8	Superficial	1/6 (16,7)	0/6 (0,0)	18,5
P9	Superficial	3/6 (50,0)	0/6 (0,0)	1,0 - 21,6 (8,2)

Apenas contagens superiores aos limites de detecção foram apresentadas na tabela.

* Resolução 357, de 17 de março de 2005 - Conselho Nacional de Meio Ambiente (BRASIL, 2005)

A Tabela 9 apresenta os valores de contagens de *E. coli* em grãos de pimenta-do-reino oriundos das nove propriedades estudadas. A prevalência de *E. coli* foi significativamente maior em grãos secos em terreiros em comparação com aqueles secos em secadores ($p=0,0256$), e também foi maior em grãos secos em estufas em comparação com aqueles secos em secadores ($p=0,03484$). Não houve diferença significativa na prevalência de *E. coli* entre grãos secos em terreiros e estufas ($p=1,0000$). Constatou-se a presença de *E. coli* em 37,8% (IC 95%, 27,8 – 47,8%) das amostras de pimenta-do-reino em grão armazenadas nas propriedades com maior ocorrência em amostras oriundas de terreiros (8/18) e estufas (8/18) (Tabela 3). Grãos coletados na propriedade P3 apresentaram maior ocorrência (66,7%) e maiores contagens (165 a 1.400 UFC/g). Identificou-se que 16,7% (IC 95%, 6,7 - 26,6%) das amostras apresentavam contagens de *E. coli* superiores a 500 UFC/g, limite máximo aceitável pela legislação brasileira para *E. coli* em especiarias (BRASIL, 2022) e todas as amostras não conformes foram secas em terreiros ou estufas.

Tabela 9. Tipo de secagem, Percentual de ocorrência, percentual de amostras impróprias para o consumo e quantificação de *E. coli* em pimenta-do-reino em grão oriunda das nove propriedades estudadas.

Propriedade	Tipo de secagem	N positiva/ n amostras (%)	N em desacordo**/ n amostras (%)	Contagem em positivos (UFC/g)
P1	Terreiro	1/6 (16,7)	1/6 (16,7)	535
P2	Terreiro	3/6 (50,0)	1/6 (16,7)	65 a 625
P3	Terreiro	4/6 (66,7)	3/6 (50,0)	165 a 1.400
P4	Estufa	2/6 (33,4)	1/6 (16,7)	75 a 720
P5	Estufa	3/6 (50,0)	0/6 (0,0)	30 a 75
P6	Estufa	3/6 (50,0)	0/6 (0,0)	75 a 425
P7	Secador	0/6 (0,0)	0/6 (0,0)	< 10
P8	Secador	1/6 (16,7)	0/6 (0,0)	35
P9	Secador	0/6 (0,0)	0/6 (0,0)	< 10

Apenas contagens superiores aos limites de detecção foram apresentadas na tabela.

* Instrução normativa 161, de 1 de julho de 2022 - ANVISA/ Ministério da Saúde (Brasil, 2022)

6.2.2. Monitoramento do patógeno no beneficiamento

A ocorrência de *Salmonella* em pimenta-do-reino coletada nessas unidades foi de 14,8% (IC 95%, 5,3 - 24,3%), com detecção do patógeno na pimenta-do-reino coletada na recepção (11,1%; IC 95%; 0,0-25,6%), no produto destinado à exportação (16,7%; IC 95%; 0,0 - 33,9%) e no resíduo do beneficiamento (16,7%; IC 95%; 0,0 - 33,9%). Não foi encontrada diferença significativa entre a prevalência de *Salmonella* ($p = 0,0648$) e *E. coli* ($p = 0,0666$) nas três plantas estudadas. Foram identificados três sorotipos Javiana (50,0%), Oranienburg (33,3%) e Agona (16,7%) no produto destinado à exportação. A ocorrência e as contagem de *Salmonella* observadas nas amostras coletadas nas três unidades de beneficiamento está representada na Tabela 10. O patógeno foi detectado em amostras do produto e do resíduo de secagem oriundos

da empresa E1 e em matéria-prima, produto e resíduo do beneficiamento provenientes da empresa E2. Não houve detecção nas amostras coletadas na empresa E2. As amostras positivas apresentaram baixas contagens (0,004 a 0,074 NMP/g).

Tabela 10. Ocorrência e contagem de *Salmonella* matéria-prima, produto e resíduo do beneficiamento da pimenta-do-reino destinada à exportação

Origem das amostras	Matéria-prima		Produto		Resíduo do beneficiamento	
	N positiva/ n amostras (%)	Contagem em positivos (NMP/g)	N positiva/ n amostras (%)	Contagem em positivos (NMP/g)	N positiva/ n amostras (%)	Contagem em positivos (NMP/g)
E1	0/6 (0,0)	-	2/6 (33,3)	0,004	1/6 (16,7)	0,004
E2	0/6 (0,0)	-	0/6 (0,0)	-	0/6 (0,0)	-
E3	2/6 (33,3)	0,008 - 0,074	1/6 (16,7)	0,013	2/6 (33,3)	0,008

E. coli esteve presente em 47,2% (IC 95%, 30,9 - 63,5%) das amostras de pimenta-do-reino coletadas no beneficiamento, com prevalência de 50,0% (IC 95%, 26,9 - 73,1%) em amostras de matéria-prima e de 44,4% (IC 95%, 21,5 - 67,4) em amostras do produto (Tabela 11). *E. coli* foi constatada em amostras de matéria-prima oriundas das três empresas e em amostras de produto nas empresas E1 e E3. Maior ocorrência e contagem de *E. coli* (125 UFC/g) foi constatada em grãos beneficiados na empresa E3. Nenhuma das amostras apresentou contagem superior a 500 UFC/g.

Tabela 11. Ocorrência e contagem de *E. coli* em matéria-prima e pimenta-do-reino destinada à exportação

Origem	Matéria-prima		Produto	
	N positiva/ n amostras (%)	Contagem em positivos (UFC/g)	N positiva/ n amostras (%)	Contagem em positivos (UFC/g)
E1	1/6 (16,7)	5	3/6 (50,0)	5 a 115
E2	4/6 (66,7)	5 a 235	0/6 (0,0)	-
E3	4/6 (66,7)	5 a 25	5/6 (83,3)	5 a 125

A a_w nas amostras de pimenta-do-reino variou de 0,542 a 0,801 ($0,625 \pm 0,059$) na matéria-prima e de 0,570 a 0,657 ($0,611 \pm 0,027$) no produto. Não foi constatada diferença significativa ($p > 0,05$) entre as médias de a_w da pimenta-do-reino recebida nas empresas de beneficiamento e o do produto armazenado destinado à exportação ($p = 0,367$),

7. DISCUSSÃO

Este é o primeiro estudo que investigou e quantificou a contaminação por *Salmonella* nas etapas iniciais de produção agrícola e pós-colheita da pimenta-do-reino. A prevalência de *Salmonella* em grãos de pimenta-do-reino coletados em propriedades rurais localizadas no Norte do Espírito Santo (3,4%) foi menor do que os valores encontrados em estudos realizados no Brasil que identificaram a presença do patógeno em pimenta-do-reino em grãos coletadas no mercado varejista (COSTA et al., 2020; MATOSINHOS et al., 2020; MICHELIN, 2016; MOREIRA et al., 2009; SILVA, J. F. da et al., 2013; VASCONCELOS NETO et al., 2009). Os valores também foram inferiores aos constatados na segunda etapa deste estudo, em pimenta-do-reino coletada em propriedades rurais (22,2%) e na matéria-prima beneficiada em empresas de exportação (11,1%). A baixa prevalência do patógeno na etapa de triagem pode estar relacionada ao grande número de amostras de pimenta-do-reino oriundas da secagem em secador de fogo direto (55%), visto que este sistema de secagem apresenta menor probabilidade de contaminação por *Salmonella*, conforme constatado durante o rastreamento das contaminações nas propriedades realizado na segunda etapa deste estudo. O uso de uma unidade analítica de 25g como representação do lote armazenado nas propriedades também pode ter contribuído para os baixos percentuais de detecção, uma vez as contaminações em ingredientes secos geralmente ocorrem em baixas concentrações e são distribuídas de forma heterogênea pelo lote (GIERALTOWSKI et al., 2013). Uma unidade analítica maior (10 x 25g) foi utilizada para detecção do patógeno em amostras de pimenta-do-reino durante o rastreamento das contaminações, o que levou a um maior percentual de detecção do patógeno nas amostras e maior precisão nos resultados obtidos. A etapa de triagem foi muito importante na identificação e seleção de propriedades com problema de contaminação recorrente pelo patógeno.

A presença de *Salmonella* no solo agrícola (16,7%) pode ser justificada pela destinação inapropriada do esgoto doméstico em fossas rudimentares, observados em 18,8% das propriedades, ou por seu lançamento a céu aberto, constatado em 4,2% das propriedades. O uso de adubo orgânico não compostado (31,9%) ou sem controle do processo de compostagem (73,3%) e a armazenamento inadequado de adubo orgânico (15,2%) também justificam as contaminações. A persistência de *Salmonella* por longos períodos em esterco desidratado eleva o risco de contaminação dos vegetais, pelo risco de dispersão deste material através do vento para as superfícies de folhas e frutos, com maior risco de ocorrência em áreas de plantio próximas às áreas de armazenamento e manuseio desses insumos (ONI; SHARMA; BUCHANAN, 2015). O acesso de animais domésticos às áreas de produção, especial durante o período de colheita dos frutos, também contribui para aumentar o risco de contaminação do solo das lavouras de pimenta-do-reino por *Salmonella*. A frequência de isolamento de *Salmonella* no solo das lavouras de pimenta-do-reino foi superior à relatada em solos agrícolas no Brasil (CEUPPENS et al., 2014), Estados Unidos (COOK et al., 2023; RAMOS et al., 2021), Sérvia (ČUČAK et al., 2018) e China (YANG et al., 2024).

Avaliar o risco de contaminação dos produtos agrícolas pela contaminação do solo é um grande desafio, pois *Salmonella* pode sobreviver por longos períodos sob condições

adversas. Sua persistência nesse ambiente pode variar conforme o sorotipo, tipo de solo, temperatura, umidade, disponibilidade de nutrientes e microbiota autóctone (COOK et al., 2023; KOWALSKA, B., 2023). Estudos relatam a contaminação endofítica de tomates por *Salmonella* via sistema radicular e flores (MORAES et al., 2017; ZARKANI; SCHIKORA, 2021; ZHENG et al., 2013). Segundo JECHALKE et al., (2019), a internalização do patógeno em tomateiros ocorre em solo com alta contagem do patógeno (10^3 a 10^4 UFC/g), valores muito superiores aos constatados nos solos das lavouras de pimenta-do-reino (0,008 a 0,048 NMP/g). Além disso, a não detecção do patógeno na pimenta-do-reino coletada na planta pode indicar uma baixa probabilidade de internalização do patógeno nas condições avaliadas. Portanto, a contaminação dos frutos pelo contato com solo contaminado é considerada a principal rota de contaminação por *Salmonella* em frutos de pimenta-do-reino.

A detecção de *Salmonella* em frutos de pimenta-do-reino coletados no solo das lavouras (3,7%) indica que essa prática, constatada em 93,6% das propriedades avaliadas, aumenta os riscos de ocorrência do patógenos nos grãos. A mistura desses frutos com frutos colhidos na planta sem higienização prévia, observado em 79,5% das propriedades pode contribuir para introdução e propagação do patógeno na cadeia de produção. O risco de transferência do patógeno para os frutos é maior em solo com altas contagens de *Salmonella* e independe do tempo de contato dos frutos com o solo (BARDSLEY et al., 2023). A contaminação dos pomares e ambientes de colheita são fatores preponderantes para as contaminações, DIAZ et al., (2022) constataram que o pastoreio de gado em pomares contribuiu para contaminação de nozes no Sul da Califórnia, e que a retirada do gado quatro meses antes da colheita não é suficiente para minimizar o impacto desta prática na segurança das nozes. A umidade do solo favoreceu a transferência de *Salmonella* para tomates, frutos colhidos em ambientes secos apresentam menor risco de contaminação (TODD-SEARLE et al., 2020).

Embora os resultados demonstrem baixo risco de contaminações dos frutos colhidos na planta, um maior risco de contaminação, semelhante ao observado em frutos colhidos no solo, pode ocorrer em frutos colhidos nas partes baixas da planta. KOWALSKA, B., (2023) relatou que a contaminação dos frutos depende da concentração do patógeno no solo e da distância entre o solo e os frutos. LEE, K. et al., (2020) evidenciaram a detecção de *Salmonella* a uma altura de até 80 cm do solo em plantas após episódios de respingos, gerados pela irrigação ou chuva. KUMAR et al., (2017) constataram que transporte de partículas de poeira contaminadas por *Salmonella* através do vento resultou a contaminação de tomates por *Salmonella* Newport, com possibilidade de internalização do patógeno. Esses estudos alertam para o risco de contaminação de frutos pimenta-do-reino que crescem nas porções inferiores da planta, que em seguida são misturados aos demais com frutos colhidos. O risco pode ser ainda maior, visto que a irrigação das lavouras, mesmo quando os sistemas não geram respingos, pode contribuir para aumento das concentrações do patógeno e sua persistência no solo pela presença permanente de umidade (GU et al., 2018; TODD-SEARLE et al., 2020).

Salmonella não foi constatada na água de irrigação coletadas nas propriedades estudadas, resultado que diverge de estudos realizados em diferentes países que identificaram

a prevalência do patógenos na água agrícola (Tabela 1). A ocorrência de *Salmonella* na água agrícola pode variar no tempo e no espaço, depende do tipo de captação, parâmetros físicos (pH, temperatura) e práticas agropecuárias desenvolvidas na bacia hidrográfica (TORO et al., 2022). Este estudo analisou apenas amostras de água coletadas no período da safra da pimenta-do-reino, no entanto, um monitoramento contínuo do patógeno ao longo do ano na água coletada nas fontes de captação seria mais apropriado para mensurar os riscos de contaminação pela água de irrigação ou usada em pulverizações nas lavouras de pimenta-do-reino. A ocorrência de *Salmonella* em águas superficiais varia no tempo e no espaço e depende de parâmetros como pH, temperatura e salinidade, sendo mais frequente em meses de verão (GONZÁLEZ-MACHADO et al., 2018; THOMAS, J. L.; SLAWSON; TAYLOR, 2013) e todas as amostras foram coletas nos meses de junho a agosto, que corresponde ao inverno no hemisfério sul. O tamanho da amostra analisada (0,1 L) também pode ter contribuído para a não detecção, visto as chances de detectar *Salmonella* em água aumentam quando volumes maiores de amostras são analisados. O percentual de recuperação de *Salmonella* foi 45,6% maior em amostras de 10 L quando comparado a amostras 1 e 0,1 L (PARTYKA et al., 2018; SHARMA et al., 2020).

No Brasil, a água destinada a irrigação não deve exceder 200 NMP de *E. coli* por 100 mililitros em 80% das amostras coletadas a cada dois meses no intervalo de um ano (BRASIL, 2005), no entanto apenas 6,4% dos agricultores relataram já ter feito análise microbiológica da água agrícola, mas nenhum deles monitora a qualidade das fontes de captação com a frequência necessária. A irrigação com águas subterrâneas, constatada em quatro das nove propriedades estudadas, pode ter contribuído para não detecção do *Salmonella* e para o baixo percentual de amostras (7,4%) com contagem de *E. coli* acima do recomendado para água de irrigação, visto que todas as amostras não conformes foram oriundas de captações superficiais. Um estudo de predição de patógenos em água de irrigação realizado por TRUCHADO et al., (2018) indicou que contagens de *E. coli* inferiores a 2,35 log UFC/100 mL estão relacionadas ausência de *E. coli* Shiga toxigênica e *Salmonella* em 90% das amostras. A ocorrência de apenas três amostras com contagem de *E. coli* superior a este valor indica baixo risco de ocorrência de *Salmonella* na água de irrigação. A detecção de *E. coli* por qPCR apresentou melhor desempenho na predição de patógenos, possivelmente pela detecção de *E. coli* viável e viável não cultivável, que somados são preditores mais precisos para presença de bactérias patogênicas.

O uso de água contaminada no preparo de soluções fertilizantes ou de produtos fitossanitárias pode transferir o patógeno para superfície dos frutos. A maior parte dos agricultores (91,4%) realizam pulverizações com fertilizantes no solo (100%) e diretamente sobre as folhas da pimenteira (36,2%) e utilizam água não tratada para diluição dos fertilizantes. Este estudo não avaliou a presença do patógeno da água coletada na captação, pois o ponto de coleta da água foi a saída da irrigação, o que impossibilita fazer inferências sobre os riscos de contaminação pela pulverização. O tratamento da água utilizada na diluição dos fertilizantes é necessário para reduzir os riscos de transmissão do patógeno para solo, folhas e frutos, IZUMI; HISA; MURAKAMI, (2008) constataram que a cloração da água (10 ppm) utilizada em pulverização de frutas contribuiu para redução das contagens microbianas nas soluções de

pesticidas, reduzindo o contato das frutas com soluções contaminadas, o que refletiu em redução das contagens nas cascas das frutas.

A presença do patógeno no fruto debulhado (14,3%) resulta da persistência de contaminações oriundas do campo, de contaminações cruzadas ocorridas durante a colheita, do aumento das populações pela multiplicação microbiana e de contaminações cruzadas ocorridas durante a debulha. Esses fatores justificam a maior ocorrência no fruto debulhado, frente aos percentuais observados em frutos coletados no solo (3,7%) e na planta (não detectado). A colheita manual, adotada em 97,9% das propriedades, intensifica o contato entre manipuladores e os frutos, portanto, hábitos de higiene inadequados durante a manipulação podem resultar em contaminações. Além disso, o uso de utensílios e recipientes de coleta da pimenta-do-reino para outras finalidades (52,1%), as más condições de higiene desses utensílios (25,0%) e o seu armazenamento em local desprotegido (18,7%) contribuem para contaminações cruzadas durante a colheita. A sanitização com álcool etílico foi eficiente na redução das contaminações por fungos e bactérias em recipientes de colheita, luvas e tesouras utilizados na colheita de tangerina, procedimento recomendado para programa de boas práticas agrícolas (IZUMI; HISA; MURAKAMI, 2008). O armazenamento dos frutos colhidos a temperatura ambiente ($> 25^{\circ}\text{C}$) que dura em torno de uma a sete dias até o término da secagem favorece a multiplicação do patógeno (SERRANO; NOVAK; LIMA, 2008). As más condições de higiene dos equipamentos de debulha e a presença de resíduos de pimenta-do-reino remanescentes de debulhas anteriores (53,3%), a não higienização dos equipamentos (21,1%) ou a baixa frequência de limpeza (26,3%) aumentam os riscos de contaminações cruzadas durante a debulha mecânica.

A higienização dos frutos antes da secagem é uma prática pouco comum (2,1%), mas necessária para redução das contagens de patógenos em produtos agrícolas e prevenção de surtos. A eficácia deste procedimento depende da extensão da fixação desses patógenos na superfície e de sua internalização (LENZI; MARVASI; BALDI, 2021). A higienização da pimenta-do-reino poderia reduzir as contaminações por *Salmonella* oriundas do campo, que são de difícil controle. A eficácia desse processo depende da qualidade da água usada no processo. Na Austrália, um surto de salmonelose provocado pelo consumo de mamão foi ocasionado pela lavagem dos frutos com água de rio não tratada (GIBBS et al., 2009). Sorotipos isolados na água e nos mamões, ressalta a importância de se usar água potável na lavagem de produtos frescos. A higienização de frutas com solução clorada (200 ppm) ou ácido peracético (80 ppm) foi eficaz para redução de *Salmonella* em mangas, mitigando riscos de internalização do patógeno e de contaminação cruzada dos lotes seguintes (MATHEW et al., 2018). A contaminação da água de processo durante as lavagem pós-colheita pode ocorrer pela transferência de microrganismo do produto para água, comprometendo a eficiência do processo, portanto, é necessário monitorar e controlar as concentrações de detergentes nos tanques de lavagem para evitar que eles se tornem fonte de contaminação (KOUTSOUMANIS et al., 2023; MATHEW et al., 2018).

Os métodos de secagem adotados foram eficazes na redução da a_w para evitar a multiplicação bacteriana, uma vez que nenhuma amostra de pimenta-do-reino seca, coletada nas propriedades ou indústrias de beneficiamento, apresentou valor de a_w superior a 0,96,

impossibilitando a multiplicação de *Salmonella* em grãos de pimenta-do-reino (Keller. et al., 2013). Valores mais altos de a_w , observados na secagem em estufa podem ser justificados pelo acúmulo de umidade e condensação no interior da estufa pela circulação ineficiente do ar em seu interior, comprometendo a retirada do ar úmido do seu interior.

Estudos sobre novas tecnologias de secagem da pimenta-do-reino foram publicados (JANJAI et al., 2011; LAKSHMI; MUTHUKUMAR; NAYAK, 2021; SOUSA et al., 2024), no entanto, pouco se sabe sobre o impacto dessas tecnologias na qualidade microbiológica do produto obtido. Este estudo constatou que o tipo de secagem impacta diretamente na qualidade microbiológica do produto. Maiores percentuais de contaminação por *Salmonella* e *E. coli* foram constatados em grãos de pimenta-do-reino secos em terreiros ou estufas. Esses sistemas de secagem natural, apresentam maior probabilidade de introdução, multiplicação e persistência do patógeno nos grãos, pois prolongam-se por dias e dependem das condições climáticas (SERRANO; NOVAK; LIMA, 2008). Nos terreiros, a pimenta-do-reino fica ao ar livre, possibilitando o acesso de animais, contato com poeira e outros contaminantes ambientais. As estufas funcionam como um terreiro coberto, reduzindo essa exposição, porém, falhas na construção podem comprometer a circulação do ar em seu interior, proporcionando um microclima com umidade e temperatura favoráveis a multiplicação da *Salmonella*. Outro sistema de secagem natural ainda pouco difundida entre os pipericultores é a secagem em terreiros suspensos, realizada em campo aberto ou em terreiros cobertos. Esse sistema minimiza as contaminações ocasionadas pelo contato dos frutos com o chão e limita, em parte, o acesso de animais ao produto durante a secagem.

A baixa ocorrência do patógeno em grãos oriundos de secadores pode estar relacionada as altas temperaturas ($>180^{\circ}\text{C}$) empregados nesse sistema de secagem (SERRANO; NOVAK; LIMA, 2008), no entanto estudos complementares são necessários para afirmar que esse sistema é capaz de reduzir a contagem de *Salmonella* na pimenta-do-reino. Embora menor percentual de contaminação tenha sido atribuído a secagem mecânica, as altas temperaturas empregadas durante o processo reduzem a qualidade sensorial do produto, alteram a composição do óleo essencial, diminuem o teor de compostos aromáticos, queima os grãos e pode incorporar odor de fumaça no produto (SERRANO; NOVAK; LIMA, 2008; VIEIRA et al., 2022). A presença de *Salmonella* em pimenta-do-reino oriunda de secadores de fogo direto pode estar relacionada a contaminações cruzadas pela higiene insuficiente do ambiente de produção e reuso de sacarias para acondicionamento dos grãos, prática identificada em 71,1% das propriedades avaliadas.

A grande diversidade de sorotipos (12) identificada na pimenta-do-reino pode ser justificada pelas múltiplas fontes de contaminações constatadas nos ambientes agrícola e de beneficiamento do produto. SAGOO et al., (2009), VAN DOREN, J.; KLEINMEIER; et al., (2013) e ZHANG, G. et al., (2017) também constataram alta diversidade de sorotipos em especiarias nos Estados Unidos e no Reino Unido. A presença de múltiplos sorotipos em uma amostra não é incomum, LEHMACHER; BOCKEMUHL; ALEKSIC, (1995) isolaram onze sorotipos de *Salmonella* em uma amostra de páprica. Neste estudo, constatou-se a prevalência de *Salmonella*

Javiana, que foi isoladas na pimenta-do-reino coletada no solo, na debulha, em grãos armazenados nas propriedades, no solo e no resíduo da secagem. Este sorotipo também foi o identificado com maior frequência em remessas de pimenta-do-reino brasileira importadas pela União Europeia entre 2019 e 2022 (RASFF, 2022). A presença desse sorotipo é preocupante e representa risco a saúde pública, pois trata-se de um sorotipo frequentemente associado a infecções em humanos em vários países (MUKHERJEE et al., 2019). A identificação de outros sorotipos de relevância para saúde pública, como Newport e Saintpaul (VAN DOREN, J.; NEIL; et al., 2013), no solo das lavouras de pimenta-do-reino e nos grãos, sugerem que contaminações podem ser transmitidas do ambiente agrícola para os frutos e persistir durante a pós-colheita, contaminando os grãos. A ocorrência de sorotipos com relevância epidemiologia nos grãos coletados nas propriedades (Javiana, Muenster, Agona, Cerro, Saintpaul, Typhimurium e Mbandaka) indica que o consumo de pimenta-do-reino pode oferecer risco à saúde caso medidas para prevenção e controle dessas contaminações não sejam adotadas em etapas subsequentes da cadeia de produção e distribuição. Pretende-se no futuro realizar o sequenciamento do genoma completo (WGS) dos isolados obtidos nesse estudo e esses resultados poderão contribuir para identificar semelhanças genéticas entre as cepas, avaliar seu potencial de virulência e sua resistência à antimicrobianos.

Contaminações no resíduo da secagem são reflexos de contaminações presentes nos grãos e no ambiente de secagem, pois esses resíduos são compostos por parte da casca, local onde o patógeno fica aderido, que se desprende durante a secagem, por poeira e por outras sujidades presentes no ambiente. Maior ocorrência de *Salmonella* no resíduo oriundo de terreiros pode estar relacionada a contaminações do ambiente externo, acesso de animais e acúmulo de contaminações oriundas de secagens anteriores devido às limitações na limpeza deste ambiente. Além disso, o resíduo exposto ao ar livre está sujeito a umidificação possibilitando multiplicação do patógenos, o que justifica contagens acima do limite de detecção em algumas amostras. A retirada desses resíduos dos ambientes de secagem e dos equipamentos, bem como a higienização desses locais, são necessários para evitar a contaminação cruzada entre o material contaminado e a pimenta-do-reino em futuras secagens.

Este estudo não encontrou diferença significativa entre a prevalência de *Salmonella* nas propriedades rurais e unidades de processamento ($p=0,7333$). A falta de etapas de redução de contaminação na produção e no beneficiamento explica a presença de *Salmonella* no produto exportado. Nenhuma das unidades de processamento estudadas realiza a descontaminação da pimenta-do-reino; há apenas remoção de sujidades grosseiras na matéria-prima. A detecção de patógenos nos resíduos de processamento aponta para práticas de higiene insuficientes nas plantas de processamento e para o risco de ocorrência de contaminações cruzadas caso não haja higienização adequada de instalações e equipamentos. A tendência de aumento dessas contaminações ao longo da pós-colheita e falhas na adoção das boas práticas, observadas durante a coleta das amostras, sinalizam para possível multiplicação e persistência do patógeno e para ocorrência de contaminações cruzadas ao longo do processo.

Não houve diferença significativa entre os percentuais de ocorrência de *Salmonella* identificados na matéria-prima e no produto destinado à exportação ($p=0,8659$), resultado já esperado, pois a pimenta-do-reino em grãos adquirida dos agricultores não é submetida a tratamentos para redução do patógeno nas unidades de exportação. A permanência de *Salmonella* no produto beneficiado justifica o elevado número de notificações em remessas do produto exportado para União Europeia (RASFF, 2022).

O resíduo do beneficiamento presente em instalações e equipamentos indicam higienização ineficiente e presença no patógeno nesse material aumenta o risco de contaminação do produto. Instalações endemicamente contaminadas por *Salmonella* tornam-se fonte recorrente de contaminação dos produtos e podem ser associadas a surtos alimentares (GIERALTOWSKI et al., 2013; LIENAU et al., 2011). A implementação de Boas Práticas Agrícolas nas fazendas e a adoção dos princípios de análise de perigos e pontos críticos de controle (APPCC) nas plantas de processamento são essenciais para melhorar a qualidade da pimenta-do-reino produzida no Espírito Santo. Recomenda-se que empresas beneficiadoras implantem um método para descontaminação dos grãos de pimenta-do-reino com objetivo de reduzir a *Salmonella* no produto. Essas medidas são necessárias para garantir a segurança da pimenta-do-reino produzida no Brasil, evitar surtos e atender as exigências do mercado internacional.

Percentuais de detecção de *Salmonella* semelhantes aos constatados na pimenta-do-reino beneficiada foram relatados por MATOSINHOS et al., (2020), MOREIRA et al., (2009) e VASCONCELOS NETO et al., (2009) em pimenta-do-reino comercializada no Brasil. GYÖRGY et al., (2021) identificaram prevalência similar a observada em grãos coletados nas propriedades em especiarias comercializadas na Romênia. Especiarias comercializadas nos Estados Unidos (ZHANG, G. et al., 2017), Reino Unido (SAGOO et al., 2009), Turquia (HAMPIKYAN et al., 2009; KARA et al., 2015) e Japão (HARA-KUDO et al., 2006) apresentam menor ocorrência de *Salmonella* do que a observada nesse estudo, que podem ser justificadas pelo controle das remessas de especiarias importadas ou adoção de tratamentos para descontaminação antes da distribuição no varejo. Percentuais inferiores aos constatados no grão destinado à exportação foram identificados em remessas importadas pelos Estados Unidos (VAN DOREN, J.; KLEINMEIER; et al., 2013; ZHANG, G. et al., 2017). Maiores ocorrências constadas neste estudo podem ser justificadas por contaminações ocorridas nas propriedades rurais e ausência de tratamento para descontaminação do produto.

Salmonella Javiana foi o sorotipo mais frequentemente detectado e estava presente em frutos debulhados, grãos de pimenta-do-reino armazenados, solo e resíduos de secagem em diferentes propriedades. Os sorotipos Agona, Typhimurium, Javiana e Mbandaka foram identificados em frutos debulhados e grãos armazenados. *Salmonella* Cerro e *Salmonella* Saintpaul foram identificados no solo e em grãos armazenados. O resíduo de secagem estava contaminado com os dois sorotipos mais prevalentes nas amostras, Javiana e Agona. Estudos futuros devem realizar sequenciamento completo do genoma dos isolados identificados para

avaliar semelhanças entre os genomas desses microrganismos, sua virulência e resistência antimicrobiana.

A ausência de correlação entre a presença de *Salmonella* e *E. coli* na pimenta-do-reino seca pode estar relacionada a diferenças entre os limites de detecção de *E. coli* (<10 UFC/g) e *Salmonella* (0,004 NMP/g) e ao grande número amostras com populações inferiores ao limite de detecção (WILLIAMS; EBEL, 2014). Este resultado também pode estar associado à maior tolerância da *Salmonella* à dessecação, que possibilita sua sobrevivência por longos períodos em alimentos secos (ZWEIFEL; STEPHAN, 2012), o que pode não ocorrer em *E. coli* genérica. Esta correlação também não observada em cacau e derivados de amendoim que assim como a pimenta-do-reino apresentam atividade de água reduzida pela secagem (NASCIMENTO et al., 2018).

8. CONCLUSÕES

Este estudo comprovou que a pimenta-do-reino pode ser contaminada por *Salmonella* durante a colheita e pós-colheita nas propriedades rurais e que essas contaminações podem persistir no grão comercializado pelas empresas exportadoras. O beneficiamento do produto não é capaz de reduzir ou controlar o patógeno nos grãos destinados à exportação. A ocorrência de sorotipos de relevância epidemiológica na pimenta-do-reino em grão implica em risco de surtos de salmonelose caso não haja tratamento para descontaminação antes do seu consumo e as baixas contagens constatadas não excluem essa possibilidade. A adoção de medidas para prevenir e mitigar os riscos de contaminação durante o processamento são necessárias para evitar a contaminação do produto pela *Salmonella* presente no ambiente. A presença do patógeno no ambiente favorece a contaminação dos frutos e dos grãos ao longo do processamento, no entanto as contaminações podem ser mitigadas com a melhoria das condições de higiene durante o processamento e com a implantação das Boas Práticas Agrícolas e de Fabricação (BPA/ BPF). Mudanças no processo produtivo atual são necessárias para incluir tratamentos que possibilitem a redução e o controle dessas contaminações com objetivo de garantir a segurança do produto. A criação de políticas públicas capazes de melhorar o saneamento rural, difundir a implantação das boas práticas agrícolas e aprimorar as tecnologias de processamento são fundamentais para promover as mudanças necessárias que resultarão na segurança da pimenta-do-reino produzida no Espírito Santo.

REFERÊNCIAS

ABAKPA, G. O. et al. Diversity and antimicrobial resistance of *Salmonella enterica* isolated from fresh produce and environmental samples. **Environmental Nanotechnology, Monitoring and Management**, v. 3, p. 38–46, 2 jun. 2015.

ACHEAMFOUR, C. L. et al. Detection of *Salmonella enterica* and *Listeria monocytogenes* in alternative irrigation water by culture and qPCR-based methods in the Mid-Atlantic U.S. **Microbiology Spectrum**, v. 12, n. 4, abr. 2024. Acesso em: 5 nov. 2024.

_____. Levels of *Salmonella enterica* and *Listeria monocytogenes* in alternative irrigation water vary based on water source on the eastern shore of Maryland. **Microbiology Spectrum**, v. 9, n. 2, 31 out. 2021.

AGBAJE, M. et al. Evolution of *Salmonella* nomenclature: A critical note. **Folia Microbiologica**, v. 56, n. 6, p. 497–503, nov. 2011.

ALEGBELEYE, O.; SANT'ANA, A. S. Survival of *Salmonella* spp. under varying temperature and soil conditions. **Science of the Total Environment**, v. 884, 1 ago. 2023.

AL-QURAAN, N. A.; ABU-RUB, L. I.; SALLAL, A. K. Evaluation of bacterial contamination and mutagenic potential of treated wastewater from Al-Samra wastewater treatment plant in Jordan. **Journal of Water and Health**, v. 18, n. 6, p. 1124–1138, 1 dez. 2020.

ANDINO, A.; HANNING, I. *Salmonella enterica*: Survival, colonization, and virulence differences among serovars. **Scientific World Journal**, v. 2015, 2015.

ANVISA. **Boletim epidemiológico. Secretaria de Vigilância em Saúde**. Brasília: [s.n.], 15 out. 2020.

AOAC. **Rapid Methods Adopted as AOAC Official Methods. AOAC 991.15**. Rockville: AOAC International. 991.15., 2016

_____. **Rapid Methods Adopted as AOAC Official Methods. AOAC 991.14**. Rockville: AOAC International. 991.14., 2019

ASHTON, P. M. et al. Identification of *Salmonella* for public health surveillance using whole genome sequencing. **PeerJ**, v. 2016, n. 4, 2016.

ASIRIFI, I. et al. Pathogen and heavy metal contamination in urban agroecosystems of northern Ghana: Influence of biochar application and wastewater irrigation. **Journal of Environmental Quality**, v. 50, n. 5, p. 1097–1109, 1 set. 2021.

BALLESTEROS-NOVA, N. E. et al. Genomic epidemiology of *Salmonella enterica* circulating in surface waters used in agriculture and aquaculture in Central Mexico. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 88, n. 5, 8 mar. 2022.

BANERJI, S. et al. Genome-based *Salmonella* serotyping as the new gold standard. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, 1 dez. 2020.

BARDSLEY, C. A. et al. Strain, soil-type, irrigation regimen, and poultry litter influence *Salmonella* survival and die-off in agricultural soils. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, 16 mar. 2021.

BARDSLEY, C. A. et al. Transfer of generic *Escherichia coli* and attenuated *Salmonella enterica* Typhimurium from the soil to the surface of in-shell pecans during harvest. **Heliyon**, v. 9, n. 9, p. e19676, set. 2023.

BEUCHAT, L. R. et al. Low-water activity foods: Increased concern as vehicles of foodborne pathogens. **Journal of Food Protection**, v. 76, n. 1, p. 150–172, jan. 2013.

BLODGETT, R. Apêndice 2: Número mais provável de diluições em série. **Bacteriological analytical manual**. [S.l.]: Silver Spring: Food and Drug Administration, 2010. Disponível em: <<https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-appendix-2-most-probable-number-serial-dilutions>>. Acesso em: 29 jan. 2024.

BRAR, P. K.; DANYLUK, M. D. *Salmonella* transfer potential during hand harvesting of tomatoes under laboratory conditions. **Journal of Food Protection**, v. 76, n. 8, p. 1342–1349, ago. 2013.

BRASIL. Instrução Normativa 161, de 1 de julho de 2022. Estabelece os padrões microbiológicos dos alimentos. **Diário Oficial da União**: secção 1, Brasília, DF, ano 2022, n. 126, p 235, 6 jul. 2022.

_____. Resolução 357, de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**: secção 1, Brasília, DF, ano 2005, n. 53, p 58, 16 mar. 2005.

BRENNER, F. W. et al. Guest commentary *Salmonella* nomenclature. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 38, n. 7, p. 2465–2467, jul. 2000.

BURJAK, S. Z.; ABU-ROMMAN, S. M. Prevalence and Antimicrobial Resistance of *Salmonella* spp. From Irrigation Water in Two Major Sources in Jordan. **Current Microbiology**, v. 77, n. 11, p. 3760–3766, 1 nov. 2020.

CAVICCHIOLI, R. et al. Scientists' warning to humanity: microorganisms and climate change. **Nature Reviews Microbiology**, v. 17, n. 9, p. 569–586, 1 set. 2019.

CDC. **Summary of Possible Multistate Enteric (Intestinal) Disease Outbreaks in 2021**. [S.l.: s.n.], 2023. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/foodborne-outbreaks/php/data-research/summary-2021.html>>. Acesso em: 2 abr. 2024.

CEUPPENS, S. et al. Microbiological quality and safety assessment of lettuce production in Brazil. **International Journal of Food Microbiology**, v. 181, p. 67–76, 2 jul. 2014.

CHATTAWAY, M. A.; LANGRIDGE, G. C.; WAIN, J. *Salmonella* nomenclature in the genomic era: a time for change. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, 2021.

COOK, C. et al. Factors associated with foodborne pathogens and indicator organisms in agricultural soils. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, v. 7, 10 out. 2023.

COSSIO, C. et al. Impact of treatment plant management on human health and ecological risks from wastewater irrigation in developing countries—case studies from Cochabamba, Bolivia. **International Journal of Environmental Health Research**, v. 31, n. 4, p. 355–373, 2021.

COSTA, M. D. C. et al. Occurrence and antimicrobial resistance of bacteria in retail market spices. **Ciência Rural**, v. 50, n. 4, 2020.

- COULOMBE, G.; TAMBER, S. *Salmonella enterica* outbreaks linked to the consumption of tahini and tahini-based products. **Microorganisms**, v. 10, n. 11, 1 nov. 2022.
- ČUČAK, D. et al. Prevalence, antibiotic resistance and diversity of *salmonella* isolates from soils and sediments in Serbia. **International Journal of Environmental Research**, v. 12, n. 6, p. 829–841, 1 dez. 2018.
- DAVIES, C. P. et al. Changes in the genomes and methylomes of three *Salmonella enterica* serovars after long-term storage in ground black pepper. **Frontiers in Microbiology**, v. 26, 2022.
- DE GIGLIO, O. et al. Enteric viruses and fecal bacteria indicators to assess groundwater quality and suitability for irrigation. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 14, n. 6, 1 jun. 2017.
- DEVARAJAN, N. et al. Cascading effects of composts and cover crops on soil chemistry, bacterial communities and the survival of foodborne pathogens. **Journal of Applied Microbiology**, v. 131, n. 4, p. 1564–1577, 1 out. 2021.
- DIAZ, C. I. et al. Prevalence of shiga toxin–producing *Escherichia coli* and *Salmonella* in native pecan orchards as influenced by waiting periods between grazing and harvest. **Journal of Food Protection**, v. 85, n. 1, p. 36–43, 1 jan. 2022.
- DIEKMAN, C. M. et al. Factors associated with the prevalence of *Salmonella*, generic *Escherichia coli*, and coliforms in florida’s agricultural soils. **Journal of Food Protection**, v. 87, n. 5, 1 maio 2024.
- DONKOR, E. S. Cockroaches and food-borne pathogens. **Environmental Health Insights**, v. 14, p. 1–6, 30 jan. 2020.
- DRAPER, A. D. et al. Microbial survey of Pennsylvania surface water used for irrigating produce crops. **Journal of Food Protection**, v. 79, n. 6, p. 902–912, 1 jun. 2016.
- DUNCAN, S. E. et al. Duncan.2017_Processes to preserve spice and herb quality and sensory integrity during pathogen inactivation. **Journal of Food Science**, v. 82, n. 5, 2017.
- EFSA. **Story map on Salmonella**. Disponível em: <<https://storymaps.arcgis.com/stories/13979918ca8948399180651d3b7ce3e1>>. Acesso em: 3 abr. 2024.
- EFSA; ECDC. Plain Language Summary on The European Union One Health 2022 Zoonoses Report. **EFSA Journal**, v. 21, n. 12, 12 dez. 2023.
- ELNEKAVE, E. et al. Comparing serotyping with whole-genome sequencing for subtyping of non-typhoidal salmonella enterica: A large-scale analysis of 37 serotypes with a public health impact in the usa. **Microbial Genomics**, v. 6, n. 9, p. 1–13, 2020.
- EMCH, A. W.; MOHAMED, H. M.; CUSIC, J. G. W. Survival of Generic *Escherichia coli* and *Salmonella* in Oregon’s Agricultural Soils. **Journal of Soil and Water Science**, v. 4, n. 1, 10 abr. 2020.
- ESPÍRITO SANTO. **Plano Estratégico de Desenvolvimento da Agricultura Capixaba (PEDEAG)**. Vitória: [s.n.], 2023.

EUROPEAN COMMISSION. **Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF)**. Disponível em: <<https://webgate.ec.europa.eu/rasff-window/screen/search>>. Acesso em: 5 nov. 2024.

EUROPEAN UNION. **Annual report: Alert and Cooperation Network Health and Food Safety**. Luxembourg: [s.n.], 2022. Disponível em: <<https://merieuxnutrisciences.com/en-de/annual-report-food-safety-europe-2022/>>. Acesso em: 29 set. 2023.

_____. REGULAMENTO (CE) 178/2002. Determina os princípios e normas gerais da legislação alimentar, cria a Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos e estabelece procedimentos em matéria de segurança dos géneros alimentícios. **Jornal Oficial das Comunidades Europeias**. European Union: [s.n.], 28 jan. 2002

_____. REGULAMENTO DE EXECUÇÃO (UE) 2019/1793. Aumento temporário dos controlos oficiais e às medidas de emergência que regem a entrada na União de determinadas mercadorias provenientes de certos países terceiros. **Jornal Oficial das Comunidades Europeias**. [s.n.], 22 out. 2019

_____. REGULAMENTO DE EXECUÇÃO (UE) 2021/2246. Aumento temporário dos controlos oficiais e às medidas de emergência que regem a entrada na União de determinadas mercadorias provenientes de certos países terceiros. **Jornal Oficial das Comunidades Europeias**. [s.n.], 15 dez. 2021

FAO. **Crops and livestock products**. Disponível em: <<https://www.fao.org/faostat/en/#data/TCL>>. Acesso em: 29 jun. 2023.

FARIKOSKI, I. O. et al. The urban and rural capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) as reservoir of *Salmonella* in the western Amazon, Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 39, n. 1, p. 66–69, jan. 2019.

FERNANDES, L. S. et al. Impact of water reuse on agricultural practices and human health. **Environmental Research**, v. 216, 1 jan. 2023.

FONSECA, J. M. et al. Assessing the food safety risk posed by birds entering leafy greens fields in the US southwest. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 17, n. 23, p. 1–16, 1 dez. 2020.

FORD, L. et al. Cost of whole genome sequencing for nontyphoidal *Salmonella enteric*. **PLoS ONE**, v. 16, n. 3 March, 2021.

GAUTAM, B. et al. Influence of water activity on the heat resistance of *Salmonella enterica* in selected low-moisture foods. **International Journal of Food Microbiology**, v. 334, dez. 2020.

GIBBS, R. et al. An Outbreak of *Salmonella enterica* serotype litchfield infection in Australia linked to consumption of contaminated papaya. **Journal of Food Protection**, v. 72, n. 5, p. 1094–1098, maio 2009.

GIERALTOWSKI, L. et al. Nationwide outbreak of *Salmonella* Montevideo infections associated with contaminated imported black and red pepper: Warehouse membership cards provide critical clues to identify the source. **Epidemiology and Infection**, v. 141, n. 6, p. 1244–1252, 2013.

GONZÁLEZ-LÓPEZ, I. et al. Prevalence and genomic diversity of *Salmonella enterica* recovered from river water in a major agricultural region in Northwestern Mexico. **Microorganisms**, v. 10, n. 6, p. 1214, 1 jun. 2022.

GONZÁLEZ-MACHADO, C. et al. Visualization and quantification of the cellular and extracellular components of *Salmonella* Agona biofilms at different stages of development. **PLoS ONE**, v. 13, n. 7, 1 jul. 2018.

GORSKI, L. et al. Diversity of pulsed-field gel electrophoresis pulsotypes, serovars, and antibiotic resistance among *Salmonella* isolates from wild amphibians and reptiles in the California Central Coast. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 10, n. 6, p. 540–548, jun. 2013.

GREENE, S. K. et al. Recurrent multistate outbreak of *Salmonella* Newport associated with tomatoes from contaminated fields, 2005. **Epidemiology and Infection**, v. 136, n. 2, p. 157–165, fev. 2008.

GRIMONT, P. A. D.; WEIL, F.-X. **Antigenic formulae of the salmonella serovars**. Paris: [s.n.], 2007. Disponível em: <chrome-extension://efaidnbnmnnibpcajpcgclclefindmkaj/https://www.pasteur.fr/sites/default/files/veng_0.pdf>. Acesso em: 29 jan. 2024.

GRUZDEV, N.; PINTO, R.; SELA, S. Effect of desiccation on tolerance of *Salmonella enterica* to multiple stresses. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 77, n. 5, p. 1667–1673, mar. 2011.

GU, G. et al. Agricultural practices influence *Salmonella* contamination and survival in pre-harvest tomato production. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, n. OCT, 16 out. 2018.

_____. Correlation of *Salmonella enterica* and *Listeria monocytogenes* in irrigation water to environmental factors, fecal indicators, and bacterial communities. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, 8 jan. 2021.

_____. Diversity and dynamics of *Salmonella enterica* in water sources, poultry litters, and field soils amended with poultry litter in a major agricultural area of Virginia. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, 17 dez. 2019.

GUARD, J. Through the looking glass: genome, phenome, and interactome of *Salmonella enterica*. **Pathogens**, v. 11, n. 5, 1 maio 2022.

GUILLÉN, S. et al. Impact of the resistance responses to stress conditions encountered in food and food processing environments on the virulence and growth fitness of non-typhoidal *Salmonella*. **Foods**, v. 10, n. 3, 1 mar. 2021.

GYÖRGY, É. et al. Antibiotic resistance pattern of the allochthonous bacteria isolated from commercially available spices. **Food Science and Nutrition**, v. 9, n. 8, p. 4550–4560, 1 ago. 2021.

HAILU, W. et al. prevalence and antimicrobial resistance profiles of foodborne pathogens isolated from dairy cattle and poultry manure amended farms in Northeastern Ohio, the United States. **Antibiotics**, v. 10, n. 12, 1 dez. 2021.

HAJARE, R.; LABHASETWAR, P.; NAGARNAIK, P. Evaluation of pathogen risks using QMRA to explore wastewater reuse options: A case study from New Delhi in India. **Water Science and Technology**, v. 83, n. 3, p. 543–555, 1 fev. 2021.

HALD, T. Pathogen updates: *Salmonella*. In: Sofos, J. (Ed.), **Advances in Microbial Food Safety**, first ed. Woodhead Publishing, Cambridge, pp. 25–46. 2013.

HAMPIKYAN, H. et al. The evaluation of microbiological profile of some spices used in Turkish meat industry. **Journal of Food, Agriculture and Environment**, v. 7, n. 3–4, p. 111–115, 2009.

HANDAM, N. B. et al. Decay of pathogens (indicators of *Escherichia coli* and *Salmonella* spp.) in soil due to the application of reuse water. **Interdisciplinary Journal of Applied Science**, v. 19, p. 1–12, 12 mar. 2024. Disponível em:

HARA-KUDO, Y. et al. *Salmonella* prevalence and total microbial and spore populations in spices imported to Japan. **Journal of Food Protection**, v. 69, n. 10, p. 2519–2523, 2006.

HARRIS, C. S. et al. Impact of storm runoff on *Salmonella* and *Escherichia coli* prevalence in irrigation ponds of fresh produce farms in southern Georgia. **Journal of Applied Microbiology**, v. 124, n. 3, p. 910–921, 1 mar. 2018.

HASSANI, Y. A. EI; GHAZI, I. EI; LAZIRI, F. Detection of *Salmonella* in wastewater irrigated farms in Meknes city, Morocco. **Asian Journal of Advances in Agricultural Research**, v. 21, n. 3, p. 30–36, 3 abr. 2023.

HOFFMANN, M. et al. Temporal Dynamics of *Salmonella enterica* subsp. *enterica* Serovar Agona isolates from a recurrent multistate outbreak. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, 23 mar. 2020.

IBGE. **Produção Agrícola - Lavoura Permanente**. Disponível em: <<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/es/pesquisa/15/11863>>. Acesso em: 31 ago. 2023.

IBRAHIM, G. M.; MORIN, P. M. *Salmonella* serotyping using whole genome sequencing. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, n. DEC, 2018.

ISO. **ISO 6579-1:2017. Microbiologia de alimentos e rações – Método horizontal para a detecção, enumeração e caracterização de *Salmonella* – Parte 1: Método geral**. Genebra, 2017.

_____. **ISO 6887-1:2017. Microbiologia de alimentos e rações – Preparação de amostras para ensaios microbiológicos – Parte 1: Preparação de amostras de alimentos sólidos e semi-sólidos**. Genebra, 2017.

IWU, C. D.; OKOH, A. I. Preharvest transmission routes of fresh produce associated bacterial pathogens with outbreak potentials: A review. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 16, n. 22, p. 4407, 11 nov. 2019.

IZUMI, H.; HISA, K.; MURAKAMI, Y. Sanitation and microbiological quality in production field and fruit-packing shed of persimmon and satsuma mandarin in Japan. **Microbiology Insights**, v. 1, p. MBI.S868, 14 jan. 2008.

JACOB, J. J. et al. A secular trend in invasive non-typhoidal *Salmonella* in South India, 2000–2020: Identification challenges and antibiogram. **Indian Journal of Medical Microbiology**, v. 40, n. 4, p. 536–540, 1 out. 2022.

JANJAI, S. et al. A large-scale solar greenhouse dryer using polycarbonate cover: Modeling and testing in a tropical environment of Lao People's Democratic Republic. **Renewable Energy**, v. 36, n. 3, p. 1053–1062, mar. 2011.

JECHALKE, S. et al. *Salmonella* establishment in agricultural soil and colonization of crop plants depend on soil type and plant species. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, n. MAY, p. 967, 2019.

JERNBERG, C. et al. Outbreak of *Salmonella* Enteritidis phage type 13a infection in Sweden linked to imported dried-vegetable spice mixes, December 2014 to July 2015. **Euro Surveill**, v. 20, n. 30, 2015. Disponível em: <www.eurosurveillance.org>.

JOKINEN, C. C. et al. The distribution of *Salmonella enterica* serovars and subtypes in surface water from five agricultural regions across Canada. **Water Research**, v. 76, p. 120–131, 1 jun. 2015.

KARA, R. et al. Microbiological quality and *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* of spices in Turkey. **Research Journal of Microbiology**, v. 10, n. 9, p. 440–446, 2015.

KELLER, SE. et al. Growth and survival of *Salmonella* in ground black pepper (*Piper nigrum*). **Food Microbiology**, v. 34, n. 1, p. 182–188, 2013.

KGOPA, P. M.; MASHELA, P. W.; MANYEVERE, A. Microbial quality of treated wastewater and borehole water used for irrigation in a semi-arid area. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 18, n. 16, 2 ago. 2021.

KILONZO, C. et al. Fecal shedding of zoonotic food-borne pathogens by wild rodents in a major agricultural region of the Central California Coast. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 79, n. 20, p. 6337–6344, 15 out. 2013.

KIM, S. et al. Temporal stability of *Salmonella enterica* and *Listeria monocytogenes* in surface waters used for irrigation in the Mid-Atlantic United States. **Journal of Food Protection**, v. 86, n. 4, 1 abr. 2023.

KLJUJEV, I. et al. *Salmonella* as an endophytic colonizer of plants - A risk for health safety vegetable production. **Microbial Pathogenesis**, v. 115, p. 199–207, 1 fev. 2018.

KLONTZ, K. C. et al. Analysis of tomato and jalapeño and serrano pepper imports into the United States from Mexico before and during a national outbreak of *Salmonella* serotype Saintpaul infections in 2008. **Journal of Food Protection**, v. 73, n. 11, p. 1967–1974, 1 nov. 2010.

KOUTSOUMANIS, K. et al. Microbiological hazards associated with the use of water in the post-harvest handling and processing operations of fresh and frozen fruits, vegetables and herbs. **EFSA Journal**, v. 21, n. 11, nov. 2023.

KOWALSKA, A.; MANNING, L. Food safety governance and guardianship: the role of the private sector in addressing the eu ethylene oxide incident. **Foods**, v. 11, n. 2, p. 204, 12 jan. 2022.

KOWALSKA, B. Fresh vegetables and fruit as a source of *Salmonella* bacteria. **Annals of Agricultural and Environmental Medicine**, v. 30, n. 1, p. 9–14, 2023.

KUMAR, G. D. et al. Airborne soil particulates as vehicles for *Salmonella* contamination of tomatoes. **International Journal of Food Microbiology**, v. 243, p. 90–95, 21 fev. 2017.

KURTZ, J. R.; GOGGINS, J. A.; MCLACHLAN, J. B. *Salmonella* infection: Interplay between the bacteria and host immune system. **Immunology Letters**, v. 190, p. 42–50, 1 out. 2017.

LAKNER, Z. et al. Network and vulnerability analysis of international spice trade. **Food Control**, v. 83, p. 141–146, 1 jan. 2018.

LAKSHMI, D. V. N.; MUTHUKUMAR, P.; NAYAK, P. K. Experimental investigations on active solar dryers integrated with thermal storage for drying of black pepper. **Renewable Energy**, v. 167, p. 728–739, 1 abr. 2021.

LEE, D. et al. Evaluation of grower-friendly, science-based sampling approaches for the detection of *Salmonella* in ponds used for irrigation of fresh produce. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 15, n. 10, p. 627–636, 1 out. 2018.

_____. *Salmonella* survival in soil and transfer onto produce via splash events. **Journal of Food Protection**, v. 82, n. 12, p. 2023–2037, 2019.

LEE, K. et al. Relationship between glass transition temperature, and desiccation and heat tolerance in *Salmonella enterica*. **PLoS ONE**, v. 15, n. 5, 1 maio 2020.

LEHMACHER, A.; BOCKEMUHL, J.; ALEKSIC, S. Nationwide outbreak of human salmonellosis in Germany due to contaminated paprika and paprika-powdered potato chips. **Epidemiol. Infect.**, v. 115, p. 501, 1995.

LENZI, A.; MARVASI, M.; BALDI, A. Agronomic practices to limit pre- and post-harvest contamination and proliferation of human pathogenic *Enterobacteriaceae* in vegetable produce. **Food Control**, v. 119, p. 107486, jan. 2021.

LI, B. et al. Diversity and antimicrobial resistance of *Salmonella enterica* isolates from surface water in southeastern United States. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 80, n. 20, p. 6355–6365, 2014.

LI, D.; UYTENDAELE, M. Potential of human norovirus surrogates and *Salmonella enterica* contamination of pre-harvest basil (*Ocimum basilicum*) via leaf surface and plant substrate. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, 29 mar. 2018.

LI, W. J. et al. Effects of manure fertilization on human pathogens in endosphere of three vegetable plants. **Environmental Pollution**, v. 314, 1 dez. 2022.

LIENAU, E. K. et al. Identification of a salmonellosis outbreak by means of molecular sequencing. **New England Journal of Medicine**, v. 364, n. 10, p. 981–982, 10 mar. 2011.

LINS, Z. C. Studies on enteric bacterias in the lower amazon region: I. Serotypes of *Salmonella* isolated from wild forest animals in Pará state, Brazil. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 64, n. 3, p. 439–443, jan. 1970.

LIU, H.; WHITEHOUSE, C. A.; LI, B. Presence and persistence of *Salmonella* in water: The impact on microbial quality of water and food safety. **Frontiers in Public Health**, v. 6, p. 159, 30 maio 2018.

LIU, S. et al. Recent development in low-moisture foods: microbial safety and thermal process. **Food Research International**, v. 155, p. 111072, 1 maio 2022.

LUO, Z. et al. Distribution and characterization of *Salmonella enterica* isolates from irrigation ponds in the southeastern United States. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 81, n. 13, p. 4376–4387, 2015.

- MATHEW, E. N. et al. Efficacy of chlorine, chlorine dioxide, and peroxyacetic acid in reducing salmonella contamination in wash water and on mangoes under simulated mango packinghouse washing operations. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, v. 2, 29 maio 2018.
- MATOSINHOS, F. C. L. et al. Statistical correlation between microscopic and microbiological parameters in ground black pepper (*Piper nigrum* L.) sold in Minas Gerais. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 79, p. 1785, 2020.
- MDIC. **Estatísticas de comércio exterior do Brasil**. Disponível em: <<http://comexstat.mdic.gov.br/pt/comex-vis>>. Acesso em: 27 nov. 2023.
- MICHELIN, A. de F. A. M. J. K. R. S. B. T. M. Contaminação por enteropatógenos em pimenta-do-reino moída. **Bol Inst Adolfo Lutz**, v. 26, 2016.
- MILANEZ, D.; VENTURA, J. A.; FANTON, C. J. **Cultura da pimenta-do-reino**. Vitória, ES: [s.n.], 1987.
- MORAES, M. H. et al. *Salmonella* persistence in tomatoes requires a distinct set of metabolic functions identified by transposon insertion sequencing. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 83, n. 5, 2017.
- MORASI, R. M. et al. *Salmonella* spp. in low water activity food: Occurrence, survival mechanisms, and thermoresistance. **Journal of Food Science**, v. 87, n. 6, p. 2310–2323, 2022.
- MOREIRA, P. L. et al. Microbiological quality of spices marketed in the city of Botucatu, São Paulo, Brazil. **Journal of Food Protection**, v. 72, n. 2, p. 421–424, fev. 2009.
- MUKHERJEE, N. et al. Sources of human infection by *Salmonella enterica* serotype Javiana: A systematic review. **PLoS ONE**, v. 14, n. 9, 1 set. 2019.
- MURPHY, C. M.; WELLER, D. L.; STRAWN, L. K. *Salmonella* Prevalence is strongly associated with spatial factors while *Listeria monocytogenes*. Prevalence is strongly associated with temporal factors on Virginia produce farms. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 89, n. 2, 1 fev. 2023.
- NASCIMENTO, M. S. et al. *Salmonella*, *Escherichia coli* and *Enterobacteriaceae* in the peanut supply chain: From farm to table. **Food Research International**, v. 105, p. 930–935, 1 mar. 2018.
- NAVARRO-GONZALEZ, N. et al. Carriage and subtypes of foodborne pathogens identified in wild birds residing near agricultural lands in California: a repeated cross-sectional study. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 86, n. 3, fev. 2024.
- NEWKIRK, J. J. et al. Inactivation of *Salmonella enterica* and surrogate *Enterococcus faecium* on whole black peppercorns and cumin seeds using vacuum steam pasteurization. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, v. 2, 7 ago. 2018.
- NGUYEN, D. T. A. et al. Prevalence, serovar, and antimicrobial resistance of nontyphoidal *Salmonella* in vegetable, fruit, and water samples in Ho Chi Minh city, Vietnam. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 18, n. 5, p. 354–363, 1 maio 2021.

OFORI, S. et al. Treated wastewater reuse for irrigation: Pros and cons. **Science of The Total Environment**, v. 760, p. 144026, 15 mar. 2021.

OGUR, S. Microbiological quality and safety of some dried spices obtained from markets, spice shops and homes. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 65, 2022.

OLUDAIRO, O. O. et al. Ecology and epidemiology of *Salmonella* spp. isolated from the environment and the roles played by wild animals in their maintenance. **International Journal of One Health**, v. 9, n. 1, p. 1–9, 22 fev. 2023.

ONI, R. A.; SHARMA, M.; BUCHANAN, R. L. Survival of *Salmonella enterica* in dried Turkey manure and persistence on spinach leaves. **Journal of Food Protection**, v. 78, n. 10, p. 1791–1799, 1 out. 2015.

PARTYKA, M. L. et al. Multistate evaluation of microbial water and sediment quality from agricultural recovery basins. **Journal of Environmental Quality**, v. 45, n. 2, p. 657–665, mar. 2016.

_____. Spatiotemporal variability in microbial quality of western us agricultural water supplies: a multistate study. **Journal of Environmental Quality**, v. 47, n. 5, p. 939–948, set. 2018.

PEES, M. et al. *Salmonella* in reptiles: a review of occurrence, interactions, shedding and risk factors for human infections. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**, v. 11, 26 set. 2023.

PENG, M. et al. Influence of manure application on the soil bacterial microbiome in integrated crop-livestock farms in Maryland. **Microorganisms**, v. 9, n. 12, 1 dez. 2021.

PERUZY, M. F. et al. Occurrence and distribution of *Salmonella* serovars associated with human infection isolated from irrigation waters and food-producing animals in southern Italy: eleven-year monitoring (2011-2021). **Italian Journal of Food Safety**, v. 12, n. 4, 9 nov. 2023.

PICCINI, G.; MONTOMOLI, E. Pathogenic signature of invasive non-typhoidal *Salmonella* in Africa: implications for vaccine development. **Human Vaccines & Immunotherapeutics**, v. 16, n. 9, p. 2056–2071, 1 set. 2020.

POMA, V.; MAMANI, N.; IÑIGUEZ, V. Impact of urban contamination of the La Paz River basin on thermotolerant coliform density and occurrence of multiple antibiotic resistant enteric pathogens in river water, irrigated soil and fresh vegetables. **SpringerPlus**, v. 5, n. 1, 1 dez. 2016.

RAMOS, T. D. M. et al. Survival and persistence of foodborne pathogens in manure-amended soils and prevalence on fresh produce in certified organic farms: a multi-regional baseline analysis. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, v. 5, 15 out. 2021.

SAGOO, S. K. et al. Assessment of the microbiological safety of dried spices and herbs from production and retail premises in the United Kingdom. **Food Microbiology**, v. 26, n. 1, p. 39–43, fev. 2009.

SALIVE, A. F. V. et al. Comparison of stress conditions to induce viable but non-cultivable state in *Salmonella*. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 51, n. 3, p. 1269–1277, 14 set. 2020.

SCHIERSTAEDT, J. et al. *Salmonella* persistence in soil depends on reciprocal interactions with indigenous microorganisms. **Environmental Microbiology**, v. 22, n. 7, p. 2639–2652, 1 jul. 2020.

SERRANO, L. A. L.; LIMA, I. M.; MARTINS, M. V. V. **A cultura da pimenteira-do-reino no estado do Espírito Santo**. 1. ed. Vitória: Incaper, 2006.

SERRANO, L. A. L.; NOVAK, L. R.; LIMA, I. M. **Colheita e pós-colheita da pimenta-do-reino**. 1. ed. Vitória: Incaper, 2008.

SHARMA, M. et al. Prevalence of *Salmonella* and *Listeria monocytogenes* in non-traditional irrigation waters in the Mid-Atlantic United States is affected by water type, season, and recovery method. **PLoS ONE**, v. 15, n. 3, 2020.

SHENG, L. et al. Microbial Safety of Dairy Manure Fertilizer Application in Raspberry Production. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, 2 out. 2019.

SILVA, A.; SECUNDINO, W. A pimenta-do-reino em terras capixabas. In: GILMAR GUSMÃO DADALTO et al. (Org.). **Transformações da agricultura capixaba: 50 anos**. Vitória, Espírito Santo: Cedagro, 2016. p. 99–101.

SILVA, J. F. da et al. Análise microbiológica de condimentos comercializados na feira central de Campina Grande PB. **Revista ACSA**, n. 2, p. 83–87, 2013.

SMITH, O. M. et al. A trait-based framework for predicting foodborne pathogen risk from wild birds. **Ecological Applications**, v. 32, n. 2, 10 mar. 2022.

_____. Agricultural intensification heightens food safety risks posed by wild birds. **Journal of Applied Ecology**, v. 57, n. 11, p. 2246–2257, 1 nov. 2020.

SOMDA, N. S. et al. Diversity and antimicrobial drug resistance of non-typhoid *Salmonella* serotypes isolated in lettuce, irrigation water and clinical samples in Burkina Faso. **Journal of Agriculture and Food Research**, v. 5, 1 set. 2021.

SOUSA, R. C. de et al. Convective drying of black pepper: experimental measurements and mathematical modeling of the process. **Food and Bioprocess Processing**, v. 143, p. 102–116, out. 2024.

SYAMALADEVI, R. M. et al. Influence of water activity on thermal resistance of microorganisms in low moisture foods. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 15, 2016.

SZÉKÁCS, A. et al. Environmental and food safety of spices and herbs along global food chains. **Food Control**, v. 83, p. 1–6, 1 jan. 2018.

SZŰCS, V. et al. National seasoning practices and factors affecting the herb and spice consumption habits in Europe. **Food Control**, v. 83, p. 147–156, 1 jan. 2018.

TARAZI, Y. H.; AL DWEKAT, A. F.; ISMAIL, Z. B. Molecular characterization of *Salmonella* spp. isolates from river and dam water, irrigated vegetables, livestock, and poultry manures in Jordan. **Veterinary World**, v. 14, n. 3, p. 813–819, 31 mar. 2021.

THAM, C. A. T.; ZWE, Y. H.; LI, D. Microbial study of lettuce and agriculture water used for lettuce production at Singapore urban farms. **Food Control**, v. 126, 1 ago. 2021.

- THI MAC, T. H. et al. Towards a risk-based food safety management system in the fresh produce supply chain in Da Nang, Viet Nam. **Heliyon**, v. 10, n. 12, p. e32701, jun. 2024.
- THOMAS, G. A. et al. From field to plate: How do bacterial enteric pathogens interact with ready-to-eat fruit and vegetables, causing disease outbreaks? **Food Microbiology**, v. 117, 1 fev. 2024.
- THOMAS, J. L.; SLAWSON, R. M.; TAYLOR, W. D. *Salmonella* serotype diversity and seasonality in urban and rural streams. **Journal of Applied Microbiology**, v. 114, n. 3, p. 907–922, 2013.
- TODD-SEARLE, J. et al. Quantification of *Salmonella enterica* transfer between tomatoes, soil, and plastic mulch. **International Journal of Food Microbiology**, v. 316, p. 108480, mar. 2020.
- TORO, M. et al. Environmental and anthropogenic factors associated with the likelihood of detecting *Salmonella* in agricultural watersheds. **Environmental Pollution**, v. 306, 1 ago. 2022.
- TRAN, M. et al. Economic evaluations of whole-genome sequencing for pathogen identification in public health surveillance and health-care-associated infections: a systematic review. **The Lancet Microbe**, v. 4, n. 11, p. e953–e962, 1 nov. 2023.
- TRUCHADO, P. et al. Correlation between *Escherichia coli* levels and the presence of foodborne pathogens in surface irrigation water: Establishment of a sampling program. **Water Research**, v. 128, p. 226–233, 1 jan. 2018.
- _____. New standards at European Union level on water reuse for agricultural irrigation: Are the Spanish wastewater treatment plants ready to produce and distribute reclaimed water within the minimum quality requirements? **International Journal of Food Microbiology**, v. 356, 16 out. 2021.
- VAN DOREN, J.; NEIL, K.; et al. Foodborne illness outbreaks from microbial contaminants in spices, 1973-2010. **Food Microbiology**, v. 36, n. 2, p. 456–464, 2013.
- VAN DOREN, J.; KLEINMEIER, D.; et al. Prevalence, serotype diversity, and antimicrobial resistance of *Salmonella* in imported shipments of spice offered for entry to the United States, FY2007–FY2009. **Food Microbiology**, v. 34, n. 2, p. 239–251, 1 jun. 2013. Acesso em: 9 abr. 2024.
- VANMARCKE, H. et al. Impact of using stored treated municipal wastewater for irrigation on the microbial quality and safety of vegetable crops. **Agricultural Water Management**, v. 297, 31 maio 2024.
- VASCONCELOS NETO, MC. et al. Microbiological and microscopical quality in samples of *Piper Nigrum* L. **Revista da Fundação Ezequiel Dias**, v. 5, n. 2, p. 93–97, 2009.
- VIEIRA, L. V. et al. The effects of drying methods and harvest season on piperine, essential oil composition, and multi-elemental composition of black pepper. **Food Chemistry**, v. 390, p. 133148, 1 out. 2022.
- VINHA, M. B.; LIMA, I. de M.; SECUNDINO, W. Contaminantes que comprometem a segurança da pimenta-do-reino ao longo de sua cadeia produtiva. **Incaper Em Revista**, v. 8, p. 55–67, dez. 2017.

WHO. *Salmonella* Surveillance: *Salmonella* weltevreden outbreak associated with contaminated pepper. **Weekly Epidemiological Record**, v. 49, n. 42, p. 351–352, 1974.

_____. **WHO estimates of the global burden of foodborne diseases**: foodborne disease burden epidemiology reference group 2007-2015, WHO Library Cataloguing-in-Publication Data 2015.

WILLIAMS, M. S.; EBEL, E. D. Estimating the correlation between concentrations of two species of bacteria with censored microbial testing data. **International Journal of Food Microbiology**, v. 175, p. 1–5, 3 abr. 2014.

WILSON, E. B. Probable inference, the law of succession, and statistical inference. **Journal of the American Statistical Association**, v. 22, n. 158, p. 209, jun. 1927.

YANG, Q. et al. Total coliforms, microbial diversity and multiple characteristics of *Salmonella* in soil-irrigation water-fresh vegetable system in Shaanxi, China. **Science of The Total Environment**, v. 924, p. 171657, 10 maio 2024. Acesso em: 11 abr. 2024.

YOSHIDA, C. et al. Evaluation of molecular methods for identification of *Salmonella* serovars. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 54, n. 8, p. 1992–1998, 2016.

ZARKANI, A. A.; SCHIKORA, A. Mechanisms adopted by *Salmonella* to colonize plant hosts. **Food Microbiology**, v. 99, p. 103833, 1 out. 2021.

ZHAN, Z. et al. Molecular epidemiology and antimicrobial resistance of invasive non-typhoidal *Salmonella* in China, 2007–2016. **Infection and Drug Resistance**, v. 12, p. 2885–2897, 2019.

ZHANG, G. et al. Prevalence of *Salmonella* in 11 spices offered for sale from retail establishments and in imported shipments offered for entry to the United States. **Journal of Food Protection**, v. 80, n. 11, p. 1791–1805, 2017.

ZHANG, S. et al. *Salmonella* serotype determination utilizing high-throughput genome sequencing data. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 53, n. 5, p. 1685–1692, 2015.

ZHANG, Shaokang et al. SeqSero2: Rapid and Improved *Salmonella* serotype determination using whole-genome sequencing. *Applied and Environmental Microbiology*, v.85, n. 23, e01746-19, dec. 2019.

ZHENG, J. et al. Colonization and internalization of *Salmonella enterica* in tomato plants. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 79, n. 8, p. 2494–2502, abr. 2013.

ZHU, L. et al. Incidence of fecal indicator and pathogenic bacteria in reclaimed and return flow waters in Arizona, USA. **Environmental Research**, v. 170, p. 122–127, 1 mar. 2019.

ZWEIFEL, C.; STEPHAN, R. Spices and herbs as source of *Salmonella*-related foodborne diseases. **Food Research International**, v. 45, n. 2, p. 765–769, 2012.

APÊNDICE A - Questionário utilizado para realização do diagnóstico nas propriedades

Diagnóstico de produção e caracterização das práticas de cultivo da pimenta-do-reino

Nome: _____ Telefone: _____

Endereço da propriedade: _____

Município: _____ Coordenadas: E: _____ N: _____

Área da propriedade (Hectares): _____ Área com produção de pimenta (Hectares): _____

Existe serviço público para coleta de lixo na comunidade? () Sim () Não

Qual o destino dos resíduos sólidos (lixo) gerados na propriedade?

() Coleta pública () Céu aberto () Compostagem () Queimado ()

Enterrado () Coleta Seletiva () Outro: _____

Separa/ destina resíduos à reciclagem? () Sim () Não () Eventualmente

Qual destino do esgoto residencial e das demais instalações existentes:

() Rede pública () Fossa séptica () Céu aberto () Outra: _____

Qual a origem da água utiliza na propriedade?

() SAAE/ Cesan () Poço artesiano () Nascente () Cisterna

() Represa () Rio/ córrego () Outra: _____

Análise microbiológica da água:

() Nunca fez () Fez apenas uma vez () Fez semestralmente () Faz anualmente

Número de pés de pimenta-do-reino: _____ Produção estimada (kg/ano): _____

Já ouviu falar em “Boas Práticas Agrícolas” (BPA)? () Sim () Não

Já participou de curso ou treinamento sobre BPA? () Sim () Não

Já ouviu falar em “*Salmonella*”? () Sim () Não

Uso de adubo orgânico:

() Sim, com compostagem () Sim, sem compostagem () Não utiliza

Uso de fertilizantes e corretivos:

() sim, aplicação foliar () Sim, aplicação no solo () não utiliza

Uso de herbicidas:

() Sim, com receituário () Sim, sem receituário () Não utiliza

Uso de agrotóxicos:

() Sim, com receituário () Sim, sem receituário () Não utiliza

O plantio é irrigado? () Sim () Não

Tipo de irrigação utilizado:

() Gotejamento () Microaspersão () Aspersor () Não utiliza

Sistema utilizado para colheita () Manual () Mecânico

A pimenta que cai no chão é colhida:

() sim, separadamente () sim, junto com as demais () Não

Os recipientes usados na colheita são limpos e em boas condições de uso: () Sim () Não

- Os recipientes usados na colheita são usados para outros fins: Sim Não
- Os recipientes usados na colheita são guardados em local protegido: Sim Não
- A pimenta é lavada após a colheita? Sim Não
- Sistema utilizado para debulha Manual Mecânico
- Qual o tempo médio entre a colheita e o início da secagem? _____
- Onde a pimenta fica armazenada nesse período? _____
- Sistema utilizado para secagem:
- Terreiro Estufa Fogo direto Fogo indireto outro: _____
- Qual tempo estimado para secagem: _____
- Qual a temperatura utilizada na secagem: _____
- Os equipamentos estão limpos e sem resíduo de pimenta Sim Não
- Os equipamentos estão em bom estado de conservação e funcionamento Sim Não
- Existe uma rotina ou programação de limpeza Sim Não
- Com que frequência os secadores/ estufas/ terreiros são limpos? _____
- A umidade do grão é monitorada ao fim da secagem? Sim Não
- Os sacos para acondicionamento do produto são reutilizados? Sim Não
- A umidade do grão é monitorada durante do armazenamento? Sim Não
- As embalagens utilizadas são reaproveitadas Sim Não
- Há local específico para armazenamento dos grãos de pimenta? Sim Não
- A pimenta fica armazenada com outros cultivos agrícolas? Sim Não
- Os sacos estão sobre estrados ou paletes e afastados da parede e teto? Sim Não
- O local de armazenamento está bem conservado e limpo Sim Não
- Ausência de produtos químicos ou contaminante nos armazéns Sim Não
- As sacarias encontram-se limpas, fechadas e não há produto no chão Sim Não
- O armazém está livre de pragas, pequenos répteis, insetos e animais Sim Não
- Existem barreiras para impedir a entrada de pragas nos armazéns Sim Não
- Utiliza-se controle químico para eliminação de pragas nos armazéns Sim Não
- A pimenta é transportada em veículo limpo? Sim Não
- Os veículos são utilizados exclusivamente para o transporte de pimenta? Sim Não
- Os veículos são limpos antes do transporte de pimenta? Sim Não
- O veículo utilizado é coberto? Sim Não
- Locais onde o produto é comercializado:
- Cooperativa/ associação Exportadores Atravessadores Outros: _____
- Forma de venda dos produtos:
- Sem nota Nota do produtor rural Outra: _____