

Comunicação

[Communication]

Caracterização microbiológica de carcaças de frangos de corte produzidas no estado de Minas Gerais

[Microbiological characterization of broiler carcasses produced in the state of Minas Gerais]

L.D.M. Menezes¹, A.L. Lima², E.C. Pena¹, G.R. Silva³, R.W.T. Klein¹, C.A. Silva¹
D.C.S. Assis³, T.C. Figueiredo³, S.V. Cançado^{3*}

¹Instituto Mineiro de Agropecuária - IMA - Belo Horizonte, MG

²Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento - MAPA - Belo Horizonte, MG

³Escola de Veterinária - UFMG - Belo Horizonte, MG

A incidência de microrganismos na carne de frangos de corte varia de acordo com as condições de manejo durante a criação dos animais e com os cuidados higiênico-sanitários nas operações de abate e manipulação das carcaças, e estão diretamente relacionados à segurança alimentar e à vida de prateleira do produto. Os microrganismos encontrados nas carcaças são provenientes da pele e das penas das aves vivas, das vias respiratórias, do trato intestinal desses animais e do ambiente de processamento na indústria. O trato intestinal das aves, especialmente de galinhas e perus, é um dos principais reservatórios naturais de microrganismos patogênicos como *Salmonella* spp. e *Campylobacter* spp. Porém, além desses, outras bactérias mesófilas, responsáveis por toxinfecções alimentares, como *Escherichia coli* entero-hemorrágica, *Staphylococcus aureus* e *Listeria monocytogenes*, também podem ser isoladas da carne de aves (Oliveira *et al.*, 2011).

Nesse contexto, a avaliação microbiológica constitui um dos parâmetros mais importantes para se determinar a qualidade e a inocuidade das carnes, verificando se padrões e especificações microbiológicas nacionais e internacionais estão sendo atendidas adequadamente. Considerando esses aspectos, o objetivo deste trabalho foi realizar a caracterização microbiológica das carcaças de frango produzidas no estado de Minas Gerais.

Para determinar os estabelecimentos em que foram coletadas as carcaças de frango de corte,

primeiro foram verificadas em quais mesorregiões do estado de Minas Gerais existiam indústrias de abate de aves fiscalizados pelo Serviço de Inspeção Federal (SIF) e pelo Serviço de Inspeção Estadual (SIE). Após esse procedimento, as indústrias foram numeradas e sorteadas aleatoriamente, por mesorregião (Campo das Vertentes, Metropolitana, Oeste de Minas, Sul e Sudoeste e Triângulo Mineiro) e por sistema de inspeção (de cada mesorregião foi selecionado um estabelecimento registrado no SIF e um no SIE).

De cada um dos 10 estabelecimentos selecionados, foram realizadas quatro coletas no período de um ano (uma coleta por trimestre) e, em cada coleta, foram encaminhadas para análise seis amostras de seis lotes distintos de produção, totalizando 240 amostras (seis repetições x quatro períodos de amostragem x 10 estabelecimentos).

Para a avaliação da qualidade microbiológica das carcaças de frangos de corte, foram realizadas as análises de contagem de coliformes totais e termotolerantes (UFC/g), utilizando-se o método Simplate™ (Official..., 2005a); contagem de *Staphylococcus* spp. (Bennett e Lancette, 2001); pesquisa de *E. coli* O157 (Vernozy-Rozand *et al.*, 1998); pesquisa de *E. coli* O157:H7 pela técnica da PCR em tempo real, utilizando-se o equipamento Assurance GDS™ (Biocontrol, Bellevue, WA; Official..., 2005b); pesquisa de *Salmonella* spp., pela metodologia *Enzyme-linked fluorescent assay* (ELFA) do equipamento Vidas™30 (bioMérieux, Hazelwood, Missouri, USA; Official..., 2005c); pesquisa de *Listeria*

Recebido em 23 de março de 2017

Aceito em 5 de agosto de 2017

*Autor para correspondência (*corresponding author*)

E-mail: silvanavc@ufmg.br

monocytogenes (Silberia et al., 2004) e pesquisa de *Campylobacter* spp. (bioMérieux, 2015). Para confirmar o gênero e a espécie dos microrganismos encontrados, foram realizados testes bioquímicos das colônias isoladas, utilizando-se o equipamento Vitek™2 (bioMérieux, Hazelwood, Missouri, USA).

Para a avaliação das mesorregiões em relação aos períodos de amostragem, as análises foram conduzidas no delineamento inteiramente ao acaso (DIC), em arranjo fatorial 10 x 4 (10 estabelecimentos x quatro períodos de amostragem), sendo seis repetições por tratamento. Cada carcaça de frango foi considerada uma repetição. Para a avaliação dos resultados, foi realizada a transformação de dados, e para aquelas variáveis que não apresentaram distribuição normal e/ou homocedasticidade, foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis em nível de significância de 5%. Algumas variáveis foram discutidas por meio de análises estatísticas descritivas devido à ausência ou ao baixo número de amostras positivas.

Os resultados das análises microbiológicas das carcaças de frangos de corte produzidas no estado de Minas Gerais demonstraram a ocorrência de altas contagens de coliformes totais e termotolerantes e *Staphylococcus* spp. Foram encontradas amostras positivas para *Salmonella* spp., *Listeria* spp., *Campylobacter* spp. e *E. coli* O157, porém não foi detectada a presença de *E. coli* O157:H7 nas carcaças de frangos de corte analisadas (Tab. 1).

Das 240 carcaças analisadas, foram encontrados coliformes totais em 82 (34,2%) e termotolerantes em 33 (13,8%) amostras. Esses microrganismos são indicadores sanitários e, uma vez presentes, pode-se inferir que outros patógenos podem ser encontrados. A legislação brasileira estabelece apenas a contagem de coliformes termotolerantes como padrão microbiológico para carcaças de frango congeladas ou resfriadas, considerando como limite máximo o valor de 10^4 UFC/g (Brasil, 2001) e, para essa análise, 11 carcaças (4,6%) apresentaram resultados de análises superiores ao limite permitido pela legislação, com contagens que variaram entre $1,0 \times 10^4$ UFC/g e $5,1 \times 10^7$ UFC/g.

Apesar da contaminação por coliformes termotolerantes, as carcaças de frango obtidas dos abatedouros das diversas regiões do estado de Minas Gerais não representam um risco para a saúde pública em relação à presença de *E. coli* O157:H7. Das amostras analisadas, nove (3,75%) foram positivas para *E. coli* O157, porém nenhuma amostra apresentou resultado positivo para *E. coli* O157:H7. A ausência de *E. coli* O157:H7 nas carcaças de frango de corte já era esperada, pois, diferentemente dos bovinos, que são hospedeiros naturais, esses microrganismos não fazem parte da microbiota natural dos frangos de corte.

Todas as amostras de carcaças analisadas foram positivas para *Staphylococcus* spp.; 57 (23,8%) foram caracterizadas como *Staphylococcus* coagulase positivo e as demais 183 (76,2%) como *Staphylococcus* coagulase negativo. Considerando que a intoxicação estafilocócica é resultante da ingestão de alimentos contaminados por enterotoxinas estafilocócicas termoestáveis pré-formadas, produzidas por linhagens enterotoxigênicas de *Staphylococcus* durante sua multiplicação no substrato, altas contagens desses microrganismos alertam para um risco sanitário, uma vez que foi comprovado que os *Staphylococcus* coagulase negativo também podem produzir enterotoxinas (Freitas et al., 2004). A legislação brasileira não prevê a pesquisa de *Staphylococcus* spp. em carcaças de frango e não há padrão determinado para esse microrganismo no produto (Brasil, 2001).

Das carcaças analisadas, foram encontradas 22 (9,1%) amostras contaminadas com *Salmonella* spp. A presença desse microrganismo em carcaças é preocupante, pois, além do risco de ingestão na carcaça malprocessada termicamente, ainda pode ocorrer a contaminação cruzada de outros alimentos durante a sua preparação em uma cozinha doméstica. Diante do risco da presença de *Salmonella*, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa) instituiu, por meio da Instrução Normativa (IN) nº20, de 2016, o controle e o monitoramento de *Salmonella* spp. nos estabelecimentos avícolas comerciais de frangos de corte e perus e nos estabelecimentos de abate de aves sob SIF, com o objetivo de reduzir a prevalência desse agente e estabelecer um nível adequado de proteção ao consumidor (Brasil, 2016).

Caracterização microbiológica...

Tabela 1. Resultados das análises microbiológicas das carcaças de frango de corte produzidas no estado de Minas Gerais, por mesorregião e por coleta

Coleta	Parâmetro	Mesorregião				
		Sul e Sudoeste	Campo das Vertentes	Oeste de Minas	Metropolitana	Triângulo
1º trimestre	Coliformes totais*	2,7 x 10 ⁴	4,2 x 10 ²	2,4 x 10 ⁶	9,2 x 10 ²	7,5 x 10 ²
	Coliformes termotolerantes*	2,2 x 10 ⁴	4,2 x 10 ²	5,7 x 10 ⁵	5,9 x 10 ²	5,9 x 10 ²
	<i>E. coli</i> O157**	0	0	0	0	1
	<i>E. coli</i> O157:H7**	0	0	0	0	0
	<i>Staphylococcus</i> spp.*	1,9 x 10 ⁴	1,5 x 10 ³	6,3 x 10 ⁵	6,2 x 10 ³	2,2 x 10 ³
	<i>Staphylococcus</i> coag +*	1,5 x 10 ²	5,0 x 10 ¹	3,5 x 10 ²	1,6 x 10 ³	1,5 x 10 ²
	<i>Staphylococcus</i> coag -*	1,9 x 10 ⁴	1,5 x 10 ³	6,3 x 10 ⁵	5,0 x 10 ³	2,0 x 10 ³
	<i>Salmonella</i> spp.**	0	0	0	1	0
	<i>Listeria</i> spp.**	2	0	9	0	0
	<i>Campylobacter</i> spp.**	0	0	1	0	0
2º trimestre	Coliformes totais*	7,3 x 10 ⁶	8,7 x 10 ³	5,9 x 10 ⁴	8,4 x 10 ³	3,4 x 10 ⁵
	Coliformes termotolerantes*	2,0 x 10 ⁴	7,8 x 10 ³	4,1 x 10 ⁴	6,9 x 10 ³	2,9 x 10 ³
	<i>E. coli</i> O157**	2	0	0	0	0
	<i>E. coli</i> O157:H7**	0	0	0	0	0
	<i>Staphylococcus</i> spp.*	4,1 x 10 ⁴	8,3 x 10 ²	1,6 x 10 ⁵	1,7 x 10 ⁴	3,2 x 10 ³
	<i>Staphylococcus</i> coag +*	1,8 x 10 ²	5,0 x 10 ¹	2,6 x 10 ²	1,8 x 10 ³	1,8 x 10 ²
	<i>Staphylococcus</i> coag -*	4,1 x 10 ⁴	8,3 x 10 ²	1,6 x 10 ⁵	5,4 x 10 ³	3,0 x 10 ³
	<i>Salmonella</i> spp.**	3	0	0	4	0
	<i>Listeria</i> spp.**	7	0	2	0	0
	<i>Campylobacter</i> spp.**	0	0	0	0	0
3º trimestre	Coliformes totais*	1,8 x 10 ⁷	1,0 x 10 ²	2,0 x 10 ⁷	1,9 x 10 ⁶	1,5 x 10 ⁷
	Coliformes termotolerantes*	9,7 x 10 ⁶	1,0 x 10 ²	1,0 x 10 ²	5,1 x 10 ³	1,2 x 10 ³
	<i>E. coli</i> O157**	5	0	0	0	0
	<i>E. coli</i> O157:H7**	0	0	0	0	0
	<i>Staphylococcus</i> spp.*	1,0 x 10 ⁶	6,4 x 10 ²	1,5 x 10 ⁴	3,5 x 10 ³	1,7 x 10 ³
	<i>Staphylococcus</i> coag +*	3,5 x 10 ²	1,3 x 10 ²	3,8 x 10 ²	5,1 x 10 ²	6,0 x 10 ²
	<i>Staphylococcus</i> coag -*	1,0 x 10 ⁶	6,4 x 10 ²	1,5 x 10 ⁴	3,1 x 10 ³	1,2 x 10 ³
	<i>Salmonella</i> spp.**	4	0	3	0	6
	<i>Listeria</i> spp.**	1	0	0	4	1
	<i>Campylobacter</i> spp.**	0	0	1	0	2
4º trimestre	Coliformes totais*	1,7 x 10 ⁴	7,5 x 10 ²	6,1 x 10 ⁵	1,0 x 10 ⁶	8,5 x 10 ⁵
	Coliformes termotolerantes*	1,0 x 10 ²	1,0 x 10 ²	1,0 x 10 ²	1,0 x 10 ²	1,0 x 10 ²
	<i>E. coli</i> O157**	1	0	0	0	0
	<i>E. coli</i> O157:H7**	0	0	0	0	0
	<i>Staphylococcus</i> spp.*	1,6 x 10 ⁴	7,2 x 10 ⁴	5,7 x 10 ⁵	1,2 x 10 ⁴	1,7 x 10 ⁵
	<i>Staphylococcus</i> coag +*	1,1 x 10 ²	7,5 x 10 ¹	2,1 x 10 ²	5,6 x 10 ²	1,4 x 10 ²
	<i>Staphylococcus</i> coag -*	1,5 x 10 ³	7,2 x 10 ³	5,6 x 10 ⁵	1,2 x 10 ⁴	1,7 x 10 ⁵
	<i>Salmonella</i> spp.**	0	0	1	0	0
	<i>Listeria</i> spp.**	4	1	3	3	0
	<i>Campylobacter</i> spp.**	0	0	1	0	0

* Contagens em UFC g⁻¹; ** número de amostras positivas.

Listeria monocytogenes é um importante patógeno na cadeia de produção da carne de frango que deve ser monitorado na rotina da fiscalização e inspeção, pois é um microrganismo que possui habilidade de formar

biofilmes e de se propagar indefinidamente dentro de uma indústria. Segundo Skadamis *et al.* (2007), *Listeria* spp. suporta condições adversas mais facilmente que outros microrganismos, e mesmo indústrias mais

tecnificadas, com uma rotina de higienização bem estruturada, não estão livres da contaminação por este microrganismo. Das amostras analisadas neste trabalho 37 carcaças (15,4%) foram consideradas positivas para a pesquisa de *Listeria monocytogenes* e, considerando a alta frequência de contaminação, medidas de controle devem ser implementadas, com o objetivo de minimizar o risco de contaminação cruzada e garantir, assim, a saúde pública.

Os resultados da pesquisa de *Campylobacter jejuni* demonstraram que cinco (2,08%) carcaças apresentaram resultado positivo para este microrganismo. Porém, foi levantada a impossibilidade de identificar o microrganismo na maioria das amostras examinadas pelo método utilizado, pois essas bactérias, quando em condições de injúria, sofrem alterações morfológicas e podem, apesar de injuriadas, devido aos processos de resfriamento e congelamento, assumir uma forma viável, porém não cultivável (VNC). Essas células VNC, embora não sejam passíveis de recuperação pelos métodos tradicionais, mantêm sua capacidade de causar doença. A liberação de amostras falso-negativas para comercialização representa um

perigo potencial à saúde. Apesar de o número de amostras positivas encontradas no presente trabalho utilizando o método ELFA ter sido pequeno, os órgãos de fiscalização devem considerar a implantação de um programa para controle de *Campylobacter* spp., nos mesmos moldes do programa de controle e monitoramento que foi instituído para a pesquisa de *Salmonella* spp. em carcaças de frangos e perus (Brasil, 2016), de forma a mapear o comportamento do microrganismo na carne de frango e, a partir de então, elaborar padrões qualitativos e quantitativos de aceitabilidade da contaminação nesse produto.

Foi concluído que as carcaças de frangos de corte produzidas no estado de Minas Gerais apresentam altas contagens de coliformes totais e termotolerantes e *Staphylococcus* spp., além da presença de *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* e *Campylobacter* spp. A legislação vigente necessita ser revisada, e a inclusão de monitoramentos de contaminação de carcaças e carnes de frangos de corte por outros microrganismos deve ser considerada.

Palavras-chave: qualidade microbiológica, carcaças de frangos de corte

ABSTRACT

In order to evaluate the microbiological quality of broiler chickens produced in Minas Gerais State, 240 samples of broiler carcasses from the five regions of the Minas Gerais State were collected, by official inspection services, for one year. The samples were submitted to counts of total and thermotolerant coliforms, coagulase-positive and negative Staphylococcus, besides Campylobacter spp., Listeria monocytogenes, E.coli O157:H7, and Salmonella spp. resource. The results showed the presence of total and thermotolerant coliforms in 34.2% and 13.5% of broiler carcasses evaluated, respectively. All tested samples were positive for Staphylococcus spp., 9.1% for Salmonella spp., 15.5% for Listeria monocytogenes, and 2.1% for Campylobacter spp. E.coli O157:H7 was not isolated from the samples.

Keywords: microbiological quality, broiler carcasses

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a assistência do Colegiado de Pós-Graduação em Ciência Animal da Escola de Veterinária, do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig), por proverem fundos para o desenvolvimento e a

publicação desta pesquisa, além de bolsas de estudo. Os autores agradecem também ao Laboratório de Segurança Microbiológica em Alimentos (LSMA) do Instituto Mineiro de Agropecuária (IMA) e ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa), por viabilizarem as coletas e as análises realizadas neste projeto.

REFERÊNCIAS

- BENNETT, R.W.; LANCETTE, G.A. Bacteriological analytical manual: *Staphylococcus aureus*. 2001. Available in: <<http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm071429.htm>> Accessed in: 20 Mar. 2017.
- bioMeriêu. 2015. Vidas®Campylobacter (CAM). Ref.30.111, 07999 O - en - 2015/01. Available in: <https://techlib.biomerieux.com/wcm/techlib/techlib/documents/docLink/Package_Insert/50443001-50444000/Package_Insert_-_07999_-_O_-_en_-_30111.pdf> Accessed in: 10 Jul. 2015.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 20, de 21 de outubro de 2016. Estabelece o controle e o monitoramento de *Salmonella* spp. nos estabelecimentos avícolas comerciais de frangos e perus de corte e nos estabelecimentos de abate de frangos, galinhas, perus de corte e reprodução, registrados no Serviço de Inspeção Federal (SIF), com objetivo de reduzir a prevalência desse agente e estabelecer um nível adequado de proteção ao consumidor. *Diário Oficial da União*. Brasília de 25 out. 2016. Seção 1, p.13.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. *Diário Oficial da União*. Brasília. 10 jan. 2001. Seção 1, p.46-53.
- FREITAS, M.F.L.; LEÃO, A.E.D.S.; STAMFORD, T.L.M.; MOTA, R.A. Ocorrência de *Staphylococcus aureus* em carcaças de frango. *Bol. Centro Pesqui. Alimen.*, v.22, p.227, 2004.
- OFFICIAL method. *Escherichia coli* O157:H7 in selected foods. 2005.04. *J. Assoc. Off. Anal. Chem. Int.*, v. 88, p.1334, 2005b.
- OFFICIAL method. Salmonella in foods, enzyme-linked immunofluorescent assay screening method (VIDAS Salmonella [SLM]). 18.ed. Hazelwood: AOAC, 2005c. chap. 17, p.139-141.
- OFFICIAL method. Simplate coliform and *E. coli* color indicator: detection and confirmed quantitation of coliforms and *E. coli* in foods - 2005.03. *J. Assoc. Off. Anal. Chem. Int.*, v.88, p.1318, 2005a.
- OFFICIAL methods of analysis. 18.ed. Gaithersburg: AOAC, 2005. v.88, chap.17, p.233-234.
- OLIVEIRA, A.V.B.; SILVA, R.A.; ARAÚJO, A.S. *et al.* Padrões microbiológicos da carne de frango de corte – referencial teórico. *Rev. Verde*, v.6, p.1-16, 2011. Disponível em: <<http://revista.gvaa.com.br>>. Acessado em 28 de ago. 2012.
- SILBERIAGEL, K.M.; CARVER, C.N.; JECHOREK, R.P.; JOHNSON, R.L. Evaluation of VIDAS listeria monocytogenes II (LMO2) immunoassay method for the detection of listeria monocytogenes in foods. *J. Assoc. Off. Anal. Chem. Int.*, v.87, p.1123-1132, 2004.
- SKANDAMIS, P.; YOON, N.; STOPFORTH, J.D. *et al.* Heat and acid tolerance of *Listeria monocytogenes* after exposure to single and multiple sublethal stresses. *Food Microbiol.*, v.25, p.294-303, 2007.
- VERNOZY-ROZAND, C.; MAZUY, C.; RAY-GUENIOT, S. *et al.* Evaluation of the VIDAS methodology for detection of *Escherichia coli* O157 in food samples. *J. Food Prot.*, v.61, p.917-920, 1998.