

ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE CARNE DE FRANGO COMERCIALIZADAS EM SUPERMERCADOS DE SANTA LUZIA-PB

Júlia Laurindo Pereira; Vitor Martins Cantal; Talita Ferreira Morais; Leandro Paes Brito; Rosália Medeiros Severo

Universidade Federal de Campina Grande/Centro de Saúde e Tecnologia Rural. Julia_laurindovet@hotmail.com

Resumo: Com o crescimento da indústria de aves, tornou-se necessário adicionar medidas para uma melhor qualidade dos alimentos. A qualidade dos alimentos é um fator determinante no quesito saúde. As doenças transmitidas por alimentos são causadas pela ingestão de alimentos contaminados com agentes microbianos ou com as toxinas produzidas por eles acarretando em infecções, intoxicações ou toxinfecções. As amostras foram compradas em supermercados com alvará sanitário atualizado, transportadas em caixas de isopor contendo gelo e transportadas ao Laboratório de Microbiologia de Alimentos da Unidade Acadêmica de ciências biológicas do Centro de Saúde e Tecnologia Rural da Universidade Federal de Campina Grande e processadas de acordo com as normas vigentes que consistiu nas seguintes etapas: Homogenização da amostras, distribuição em tubos seriados até a diluição 10⁻⁵ com 3 tubos. A técnica do Número Mais Provável é utilizada como diagnóstico presuntivo e confirmativo para coliformes totais e fecais, sendo adicionados testes bioquímicos para identificação do agente bacteriológico. Os meios utilizados na técnica são o CLT (Caldo Lauril Triptose), como teste presuntivo, o CVB (Caldo Verde Brilhante), como teste confirmativo para coliformes totais e o EC (caldo EC), confirmativo para coliformes termotolerantes. Os resultados foram precedidos por testes bioquímicos baseados na literatura. Foram Aplicados o teste de Agar Citrado de Simmons, Caldo Triptona, MR-PB e vermelho de metila. Os resultados parciais demonstraram que 50% das amostras apresentaram qualidade sanitária insatisfatória, para coliformes totais e fecais, sendo desses 16,6% para *E. coli*, sendo consideradas impróprias para consumo humano. Microorganismo da Família da *E.coli* podem ser bastante patogênicas, causando sérios danos a saúde e principalmente em pessoas imunodeprimidas como crianças e portadores do vírus HIV. Na literatura consultada os resultados divergiram, podendo ser consequência das condições higiênicas sanitárias dos locais averiguados.

Palavras-Chave: Frango; Contaminação; *E.coli*

Introdução

A indústria brasileira de aves cresce anualmente adquirindo o primeiro lugar na exportação mundial com 4,382 milhões de toneladas e em segundo lugar mundial a nível de produção 12,9 milhões de toneladas de carne de frango (EMBRAPA, 2017). Com base nesse crescimento, tornou-se necessário doação de medidas para melhor atender a produção em quantidade e qualidade.

A qualidade dos alimentos é de fundamental importância no quesito saúde. A segurança alimentar vem tomando cada vez mais espaço no cotidiano, em busca de uma melhor qualidade de vida. Os órgãos públicos, como por exemplo a Agência de Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), que é responsável pela elaboração de políticas públicas voltadas para garantia alimentos de boa qualidade, Para manter qualidades sanitárias asseguradas, se faz necessário o controle

eficiente de todas as etapas de seu processamento. As chamadas BFF (Boas Práticas de Fabricação), assim como as APPCC (Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle), tem por finalidade diminuir ao máximo o nível de contaminação desses alimentos.

Quando manipulados de forma incorreta, água e alimentos podem servir de veículo de transmissão de microorganismos. As Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA) são causadas pela ingestão desses agentes ou as toxinas por eles produzidas (ANVISA, 2001); (BRASIL, 2008). As chamadas DTA podem ser classificadas de acordo com o agente desencadeante em: Infecção, que é desencadeada apenas pela ingestão do agente; Intoxicação, que ocorre pela ingestão da toxina; E a toxinfecção ingestão de ambos, agente e sua toxina (BRASIL, 2008). A *Escherichia coli*. é uma das bactérias responsáveis por causar diarreias Entero-hemorrágicas. Essas cepas são frequentemente adquiridas de carnes sem o preparo adequado ou de pessoas infectadas por via fecal-oral quando a higiene é precária; Algumas cepas como as enterotoxigênicas, podem causar diarreia aquosa; as enteroinvasivas: diarreia inflamatória e enteroagregativas que estão emergindo como causas potencialmente importantes de diarreia persistente em pacientes com AIDS e em crianças residentes em áreas tropicais (BUSH;PEREZ, 2017).

Os Coliformes são bacilos gram-negativos, aeróbios facultativos e não formadores de esporos, que fermentam a lactose produzindo gás, no decorrer de um período de 48 horas a 35° C. (MADIGAN, et al. 2016). No entanto, a definição de coliformes fecais, apesar de ser a mesma do totais, restringe-se aos microorganismos que conseguem fermentar a lactose com produção de gás, em 24h a 44,5-45,5.. Os coliformes totais, acabam representando menos importância com relação aos coliformes fecais, uma vez que existem mais de 20 espécies, sendo elas pertencentes aos mais diversos sistemas, não sendo exclusivas do trato gastrointestinal. Em relação aos coliformes fecais, sua presença em água ou alimentos é menos representativa, uma vez que existem bactérias a exemplo da *Enterobacter* e *Klebsiella*, que não são de origem fecal (SILVA et al., 1997).

A RESOLUÇÃO N°12 de Janeiro de 2001, regulamenta a técnica do número mais provável (NMP) como um método de análise para quantificar os microorganismos de uma amostra. Esse método consiste em diluições da amostra em alíquotas, distribuídas em tubos de ensaio seriados, contendo meio de cultura adequado para o seu crescimento. O resultado é avaliado após o período de incubação, que varia de acordo com o tipo de análise desejada, sendo considerado o resultado positivo (crescimento nos tubos) ou negativo (sem mudança no estado do meio). Essa técnica é

aplicada usualmente na contagem de coliformes totais, coliformes termotolerantes e E. coli em água e alimentos (SILVA et al., 2017) ou quando os microorganismos não crescem em um meio sólido (bactérias quimioautotróficas nitrificantes (TORTORA, 2012)). Sendo indicadas com a mesma forma, devem indicar NMP/ g ou mL quando forem obtidos por esta metodologia (ANVISA, 2001).

O objetivo desse trabalho foi analisar a qualidade dos frangos “in natura” comercializados em supermercados na cidade de Santa Luzia- PB, no mês de agosto e setembro de 2017, utilizando a técnica de NMP/g e série bioquímica para identificar possíveis agentes contaminantes.

Metodologia

Obtenção das Amostras

As carcaças de frangos foram adquiridas em supermercados da cidade de Santa Luzia-PB, com Alvará de funcionamento atualizado, no período de agosto e setembro de 2017, no período da manhã. Foi coletada uma amostra de cada supermercado de forma aleatória de acordo com a escolha do vendedor. Os frangos analisados eram conservados apenas refrigerados no local da venda. As amostras coletadas eram identificadas e acondicionadas em embalagens fornecidas pelo supermercado e transportadas para Laboratório de Microbiologia do Centro de Saúde e Tecnologia Rural (CSTR) da Universidade Federal da Paraíba, para análise imediata.

Processamento das Amostras

As amostras foram retiradas dos sacos plásticos, cortadas em fatias de aproximadamente 2cm de vários locais da carcaça para serem trituradas no liquidificador durante dois minutos como descrito por SILVA (2006) para o processamento de amostras sólidas. Em seguida, as amostras foram analisadas através da técnica do Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais e fecais segundo a Resolução N °12/2001 da ANVISA (BRASIL, 2001).

Pesquisa de coliformes totais e coliformes fecais

Para pesquisa de coliformes totais e coliformes fecais foram pesados 10 gramas de cada amostra, sendo homogeneizado no liquidificador durante dois minutos com 90 ml de água peptonada a 0,1% esterilizada, obtendo a diluição de 10^{-1} . As diluições seguintes ocorreram em

forma seriada até a obtenção da diluição 10^{-5} , sendo transferidos 1 mL do conteúdo anterior para tubos de ensaio contendo 9 mL de água peptonada 0,1% esterilizada.

Para pesquisa de coliformes totais foi utilizado caldo Lauril Sulfato Triptose (CLST) para teste presuntivo com tubo de Durhan invertido, incubado a 37 °C por 48 horas. Nas diluições onde observava a presença de gás no interior dos tubos de Durhan eram consideradas positivas. O teste de confirmação para coliformes totais foi realizado através da transferência do material para tubos contendo caldo verde brilhante lactose bile (VBLB) 2%, incubado a 37 °C por 48 horas. A pesquisa de coliformes fecais foi realizada através da transferência de amostras positivas contendo CLST para tubos contendo caldo EC, com tubos de Durhan invertidos, incubados a 45 °C/24h em banho-maria. Foram considerados positivos, todos os tubos que apresentaram gás no interior dos tubos de Durhan.

A pesquisa de *E. coli*

As amostras positivas no EC foram transferidas para Ágar Eosina Azul de Metileno (EMB), incubadas a 37 °C/24 h e observadas de colônias típicas de *E. coli*, que foram transferidas para Ágar Padrão para Contagem (PCA) a 37 °C/24 h. Para a confirmação de *E. coli* foram realizados testes bioquímicos, a partir de colônias típicas crescidas no PCA. Os testes bioquímicos realizados foram o teste do citrato será utilizado o Ágar Citrato de Simmons (ACS) inclinado, Indol, Voges-Proskauer e Vermelho de metila. O teste do Indol foi realizado a partir do Caldo Triptona de Soja (TSB) acrescido do reagente de Kovacs para visualização do anel vermelho na borda do caldo. Os testes de Voges-Proskauer e Vermelho de Metila foi realizado através do Caldo Glicose Tamponado (MR-VP) acrescido de 0,6 mL de alfa-naftol a 5% e 0,2 mL de KOH a 40% para observar a mudança da coloração do meio.

Resultados e Discussões

Os resultados foram avaliados de acordo com a resolução nº 12 de janeiro de 2001 da Anvisa, onde dispõe sobre carnes resfriadas ou congeladas, “in natura” de aves :carcaças inteiras, fracionadas ou cortes (Tabela 1).

Tabela 1. Numero Mais Provavel (NMP/g) para Coliformes Totais e Fecais das amostras de carne de frango “in natura” coletadas nos meses de agosto e setembro de 2017 nos supermercados de Santa Luzia-PB.

Amostra	Colifortes Totais (NMP/g)	Coliformes Termotolerantes (NMP/g)
M1	$\geq 2,4 \times 10^6$	110
M2	$\geq 2,4 \times 10^4$	≥ 24
M3	$\geq 2,4 \times 10^6$	24
M4	$\geq 2,4 \times 10^8$	23
M5	$\geq 2,4 \times 10^8$	≥ 2400
M6	$1,1 \times 10^5$	≥ 24

Os resultados parciais indicam que 50% das amostras se encontravam fora do padrão determinado pela RDC N° 12/2001 ANVISA.

Pires filho et al. (2012) ao analisar coliformes totais e coliformes a 45°C em frangos “in natura” e concluiu que 100% das amostras de frangos avaliadas apresentaram valores fora do padrão exigido para RDC n° 12/2001 da Anvisa, tanto para Coliformes totais, quanto para Coliformes termotolerantes.

Silva et al., (1997) ao correlacionar coliformes totais e fecais e concluiu que os coliformes totais, representam menos importância com relação aos coliformes fecais, uma vez que existem mais de 20 espécies, sendo elas pertencentes aos mais diversos sistemas, não sendo exclusivas do trato gastrointestinal.

Penteado; Esmerino, (2011) avaliaram amostras de cortes comerciais de carcaças de frangos (coxa, sobrecoxa, frango a passarinho e asas) em cinco pontos de vendas, com o objetivo de

conhecer a carga microbiana, para avaliar as condições higiênico-sanitárias dos cortes de frango e concluíram que as amostras encontravam-se abaixo do valor da estabelecidas pela legislação vigente (RDC N°12/2001 Anvisa) atestando uma boa qualidade para a carne de frango comercializada na cidade de Ponta Grossa, Paraná.

No entanto, estar classificada dentro dos padrões exigidos para coliformes totais e termotolerantes, não indica que a amostra esteja apta ao consumo. A exemplo disso, temos a amostra M2, que seguiu dentro dos padrões RDC°12/2001 Anvisa, mas nos testes bioquímicos ela foi considerada positiva para *E. coli*.

Segundo Bush; Perez, (2017) dentre os microorganismos responsáveis pelas DTA estão inseridos o grupo dos coliformes e dentre eles os fecais, a mais comum a causar infecções são as *Escherichia coli*. Quando ingerida, dependendo do tipo da cepa, pode gerar infecções, quando aderida a novos tecidos ou pode causar toxificação através da ingestão de suas toxinas.

SILVA et al. (2012), conseguiu isolar *Escherichia coli* em 45,5% dos fígados coletados em frangos provenientes de matadouros agrícolas. Demonstrando que a *E coli* pode ser encontrada em diversas partes do organismo, como sugere SILVA et al., 1997.

Pires filho et al. (2012) ao analisar coliformes totais e coliformes a 45°C em frangos “in natura” e concluiu que 100% das amostras de frangos avaliadas apresentaram valores fora do padrão exigido para RDC n° 12/2001 da Anvisa, tanto para Coliformes totais, quanto para Coliformes termotolerantes.

Conclusões

De acordo com a resolução vigente RDC N°12/2001 ANVISA, em que o padrão exigido para carnes resfriadas ou congeladas, “in natura” de aves :carcaças inteiras, fracionadas ou cortes, é na diluição 10-4, 4. Avaliando desse modo 4 amostras (66,6%), apresentaram dentro desse padrão.

No entanto, essas amostras quando associados aos resultados parciais das análises bioquímicas as amostras encontravam-se em condições sanitárias insatisfatórias, sendo considerada imprópria para o consumo humano por apresentar 33,3% das amostras com limites a cima de coliformes totais e fecais e 16,6% de *E. coli*., totalizando 50% das amostras.

Referências

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução-Rdc Nº 12, de 02 de Janeiro de 2001.**

BRASIL. Ministério da Saúde. Diretriz 1-Aliimentos Saudáveis e suas refeições; Diretriz Especial 2- Qualidade Sanitária dos Alimentos. **Guia Alimentar da População Brasileira.** 1ª Edição. Brasília, DF. 2008. Pág 44; 99.

EMBRAPA- Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Embrapa suínos e aves.** 2017. Disponível em: <https://www.embrapa.br/suinos-e-aves/cias/estatisticas>. Acesso: 28 de setembro de 2017.

BUSH, L. M.; PEREZ, M. T.; Manual MSD. **Infecções por *Escherichia coli*.** 2017. Disponível em: <http://www.msmanuals.com/pt-br/profissional/doencas-infecciosas/bacilos-gramnegativos/infeccoes-por-escherichia-coli>. Acesso em: 28 de setembro de 2017

MADIGAN, M.T.; MARTINKO, J.M.; BENDER, K. S.; BUCKLEY, D.H.; STAHL, D.A.; **Unidade 6. Cap 31- Água e Alimentos Como Veículos de Transmissão de Doenças Bacterianas.** Microbiologia de Brock, 14ª edição. Editora Artmed. Porto Alegre, RS. 2016. Pág 922.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A.. Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos. **Cap 4- Contagem de coliformes totais, coliformes fecais e *E. coli*.** São Paulo-SP. Varela, 1997., pag 31-39.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A.; TANIWAKI, M.H.; GOMES, R.A.R.; OKAZAKI, M. M. **Cap 4- Técnicas básicas de contagem de microrganismos pelo número mais provável (NMP).** Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água. 5ª edição. São Paulo, SP. Blucher, 2017. Pág 52.

TORTORA, G.J.; FUNKE, B.R.; CASE, C.L. **Cap 6- Crescimento Microbiano.** .MICROBIOLOGIA. 10ª Edição. Porto Alegre, RS. Artmed, 2012. Pág 175.

PIRES FILHO, I.C.; ROSA, L.G.; LOPES, I.S.; FERREIRA, E.M.; ALVES, L.M. **Coliformes totais e coliformes a 45o c em frangos “in natura” comercializados nas feiras de São Muís – Maranhão.** Disponível em: <http://www.sbpcnet.org.br/livro/64ra/resumos/resumos/4857.htm> Acesso em: 01 de outubro de 2017.



PENTEADO, F.R.; ESMERINO, L.A.; Avaliação da qualidade microbiológica da carne de frango comercializada no Município de Ponta Grossa – Paraná Publ. UEPG Biol. Health Sci., Ponta Grossa, v.17, n.1, p. 37-45, jan./jun. 2011

SILVA, I.M.M.; BALIZA, M.; SANTOS, M.P.; REBOUÇAS, L.T.; ROCHA, E.V.; SANTOS, V.A.; SILVA, R.M.; ELVENCIO NETO, J.; **Presença de Escherichia coli em fígados de frangos provenientes de matadouros avícolas.** Rev. Bras. Saúde Prod. Anim., Salvador, v.13, n.3, p.694-700 jul./set., 2012.