



Pesquisa de *Salmonella* spp. e coliformes termotolerantes em carcaças de frangos *in natura* comercializados no Distrito Sanitário V da Cidade do Recife – PE

(Search of *Salmonella* spp. and heat tolerant coliforms *in natura* chicken carcasses sold in the V Sanitary District of Recife city – PE)

“Nota/Note”

DSL Pires^A, MS Pacheco^{A(*)}, MBQ Rolim^B, AL Santana^C, APBL Moura^D

^AMédica Veterinária Graduada no Curso de Medicina Veterinária UFRPE, Recife, PE, Brasil.

^BMédica Veterinária Mestranda em Ciência Veterinária UFRPE, Recife, PE, Brasil.

^CDiretora do Departamento de Vigilância Sanitária Municipal, Distrito sanitário V, Recife, PE, Brasil.

^DProf^a. Dra. Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco. UFRPE, Recife, PE, Brasil.

Resumo

Objetivou-se com este trabalho pesquisar a presença de *Salmonella* spp. e coliformes termotolerantes em carcaças de frango *in natura* provenientes de estabelecimentos cadastrados pela Vigilância Sanitária do Recife - PE, distribuídos no Distrito Sanitário V da referida cidade, e a viabilidade das mesmas para o consumo, tendo como parâmetros os valores microbiológicos estabelecidos na RDC nº 12/2001 e RDC nº 13/2001. As amostras foram obtidas de 24 estabelecimentos que as comercializavam expostas à temperatura ambiente, e enviadas ao Laboratório Municipal de Saúde Pública do Recife onde, posteriormente, foram submetidas às análises microbiológicas na divisão de Bromatologia e Química do mesmo órgão, para a pesquisa de *Salmonella* spp. e coliformes termotolerantes. Das 24 amostras, em 0/24 (0%) não foi constatada a presença de bactérias do gênero *Salmonella* spp. e 24/24 (100%) estavam contaminadas com coliformes termotolerantes, mas dentro dos valores estabelecidos na RDC nº 12/2001. Nas condições em que a pesquisa foi realizada e de acordo com os resultados encontrados, pode-se concluir que das 24 carcaças de frango comercializadas em estabelecimentos do Distrito sanitário V, cadastrados na Vigilância Sanitária do município, todas são próprias ao consumo, conforme estabelecido na RDC nº 12/2001 e RDC nº 13/2001.

Palavras-chave: Ave, Bactéria, Higiene.

Abstract

This work had as purpose searching for *Salmonella* spp. and heat tolerant coliforms *in natura* chicken carcasses and its viability to human consumption, according with microbiologic index in RDC nº 12/2001 e RDC nº 13/2001, in establishment registered by the Sanitary Surveillance of Recife-PE distributed in the V Sanitary District. The samples were obtained from 24 establishments where they were sold at environment temperature. All the samples were sent to the Public Health Municipal Laboratory of Recife and submitted to microbiological analysis in the chemical sector of the same laboratory for searching *Salmonella* spp and heat tolerant coliforms. Among the 24 samples, *Salmonella* spp was not identified in 0/24 (0%) and 24/24 (100%) carcasses were contaminated with heat tolerant coliforms, but in conformity with RDC nº 12/2001 index. The results allow to conclude that all the 24 samples of chicken carcasses sold in establishments of the V Sanitary District of Recife registered in the Municipal Sanitary Surveillance are adequated for consume, according RDC nº 12/2001 index e RDC nº 13/2001.

Key-words: Bird, Bacterium, Hygiene.

(*) Autora para correspondência/Corresponding author (marianepacheco_@hotmail.com).

(S) Recebido em 03/11/2008 e aceito em 13/03/2009.

Introdução

A ausência de cuidados higiênico-sanitários na produção de alimentos promove o surgimento das doenças de origem alimentar – DOA. Tais enfermidades têm como principais agentes etiológicos parasitas, vírus e bactérias. Entre as principais bactérias destacam-se o *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Salmonella* spp e *Escherichia coli* (QUINTILIANO et al., 2008). Para Silva (1998), a presença de *Salmonella* spp. e *Escherichia coli* enteropatogênica nas carcaças de frango podem representar um risco potencial à saúde do consumidor.

A salmonelose em humanos é caracterizada por quadros de gastroenterite (SOUSA et al., 2008), e é frequentemente associada ao consumo de aves e produtos derivados, no Brasil e no mundo (MATHEUS et al., 2003). Sua epidemiologia é complexa, e apresenta múltiplos fatores determinantes para que a *Salmonella* spp. seja transmitida. Uma alta contagem da mesma ou outros mesófilos, através de métodos empregados ao controle sanitário dos alimentos, indica um produto excessivamente contaminado por ter sido submetido a condições inapropriadas de higiene, manipulação e armazenamento (COSTA et al., 2008).

O gênero *Escherichia*, juntamente com os gêneros *Enterobacter*, *Citrobacter* e *Klebsiella* constituem o grupo denominado coliformes. Na contagem de coliformes podem-se diferenciar dois grupos: os coliformes totais, utilizados para avaliar as condições higiênicas, limpeza e sanitização, e os coliformes termotolerantes que são indicadores de contaminação fecal (MOURA et al., 2007). A presença da *E. coli*, em grande quantidade nas amostras, pode estar relacionada a níveis significativos de *Salmonella* spp. (LOPES et al., 2007).

De acordo com a RDC nº 12/2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), que contém o Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos, é estabelecida a padronização dos valores para *E. coli*: 10^3 a 10^4 (UFC). A padronização para a *Salmonella* spp., em 25g

de miúdos, carnes cruas, resfriadas, ou congeladas, “*in natura*”, apenas é definida para a de bovinos, suínos e outros mamíferos - carcaças inteiras ou fracionadas, quartos ou cortes (BRASIL, 2001b). Conforme as informações contidas na RDC nº 13/2001 (ANVISA), a presença de *Salmonella* spp. nos miúdos e carne das aves existe de forma crítica, o que é considerado um problema mundial, não havendo medidas efetivas para o controle da referida bactéria (BRASIL, 2001a). Compete, assim, aos Serviços de Vigilância Sanitária (SVS), reduzir e prevenir riscos à saúde da população com ações que intervenham nos problemas sanitários decorrentes da produção e circulação de bens e da prestação de serviços da saúde (BRASIL, 1990).

Objetivou-se com este trabalho pesquisar a presença de *Salmonella* spp. e coliformes termotolerantes em carcaças de frango *in natura* provenientes de estabelecimentos cadastrados pela Vigilância Sanitária do Recife - PE, distribuídos no Distrito Sanitário V da referida cidade, e a viabilidade das mesmas para o consumo, tendo como parâmetros os valores microbiológicos estabelecidos na RDC nº 12/2001 e RDC nº 13/2001.

Material e métodos

As amostras de carcaça de frango foram obtidas de 24 estabelecimentos distribuídos no Distrito Sanitário V da Cidade de Recife, Pernambuco, que as comercializavam expostas à temperatura ambiente.

De cada local foi recolhida uma carcaça de frango, totalizando 24 amostras para a pesquisa de *Salmonella* spp. e coliformes termotolerantes. Para o registro no Termo de Coleta de Amostras, cada uma das 24 peças foi pesada nos próprios locais de venda, e aferida a temperatura com termômetro digital. As carcaças, recolhidas nas suas próprias embalagens, foram acondicionadas em sacos plásticos, utilizados especificamente para coleta de alimentos pelo Serviço de Vigilância Sanitária do Recife. As

amostras foram armazenadas em caixas isotérmicas com baterias congeladas e, imediatamente transportadas ao Laboratório Municipal de Saúde Pública da Cidade do Recife. Posteriormente foram analisadas na divisão de Bromatologia e Química do mesmo órgão.

Detecção da presença de *Salmonella* spp

A pesquisa de *Salmonella* spp foi realizada a partir de uma alíquota de 25g da amostra, adicionada de 225 mL de solução salina 1% tamponada (APT) e homogeneizada por 60 segundos e incubada a 37°C por 16 a 20 horas. Após esse período, transferiu-se 1mL da suspensão pré-enriquecida para um tubo contendo caldo selenito cistina e 0,1mL para tubo contendo caldo Rappaport. Os tubos foram incubados em banho-maria com movimentação de água a 41°C por 20 a 24 horas. Após o período de incubação, realizou-se repique para o ágar XLD, ágar manitol-lisina-cristal violeta-bile (MLCB) e ágar vermelho de fenol-lactose-sacarose (BPLS) adicionado de novobiocina, os quais foram incubados a 37°C.

De cada placa selecionou-se três colônias características, onde foram submetidas à re-isolamento em ágar BPLS sem novobiocina adicionada e em ágar MLCB. As culturas puras foram repicadas para ágar estoque, incubadas por 18 a 24 horas a 37°C e submetidas à identificação bioquímica (ágar TSI, ágar Lisina-ferro, caldo uréia, ágar citrato, caldo VM-VP e meio SIM). As culturas com resultados compatíveis com o gênero *Salmonella* seriam submetidas ao teste de soro-aglutinação frente ao anti-soro polivalente "O" (BRASIL, 2003).

Determinação da Unidade Formadora de Colônias por grama (UFC/g) de coliformes termotolerantes

Retirou-se uma alíquota de $25 \pm 0,2$ g de cada amostra que foi depositada em bolsas plásticas previamente identificadas, para serem homogeneizadas no *stomacher* com 225mL de solução salina peptonada a 0,1% durante 60 segundos. Em seguida, foram

preparadas cinco diluições decimais, sendo repicado um volume de 1mL em placas de ágar vermelho neutro-bile (VRBA) previamente fundido e mantido a 46-48°C em banho-maria. Após a solidificação do meio, foi adicionado sobre cada placa mais 15mL de VRBA, formando uma segunda camada de meio. As placas foram incubadas a $36^\circ \pm 1^\circ$ C durante 24 horas, para posterior realização da contagem das colônias típicas e atípicas. Para confirmação dos coliformes totais e termotolerantes foram selecionadas colônias típicas, ou seja, róseas, com 0,5 a 2 mm de diâmetro rodeado ou não por uma zona de precipitação de bile presente no meio, sendo fracionadas em dois fragmentos. O primeiro foi inoculado em tubos contendo caldo verde brilhante bile 2% lactose e incubadas a $36^\circ \pm 1^\circ$ C por 48 horas. O segundo foi inoculado em caldo EC e incubado a $45^\circ \pm 0,2^\circ$ C por 24 a 48 horas em banho-maria sob agitação. As culturas que apresentaram formação de gás (mínimo 1/10 do volume total do tubo de Durhan), ou efervescência quando agitadas suavemente, foram consideradas positivas para coliformes totais e termotolerantes de acordo com a metodologia oficial estabelecida pela Coordenação de Laboratório Animal (CLA) do Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento – MAPA (BRASIL, 2003).

Resultados e Discussão

Das 24 amostras, em 0/24 (0%) não foi constatada a presença de bactérias do gênero *Salmonella*.

O resultado negativo para *Salmonella* spp em carcaças de frango corrobora com as informações de Alcocer et al. (2006) quando citam que, em vários estudos, pesquisadores obtiveram uma variação entre 0,024% a 85,0% de positividade à bactéria. Porém, se levarmos em consideração a procedência das amostras analisadas e a ausência de fiscalização do Serviço de Inspeção Sanitária, conforme citam Cardoso et al. (2008), o resultado negativo das carcaças de frango para a presença de *Salmonella* spp pode ter sido falso-negativo. Em estudo semelhante,

realizado por Tirolli e Costa (2006) em Manaus, cujo abate é considerado um processo puramente empírico e caseiro, a prevalência da *Salmonella* spp foi de 50%. De qualquer forma, é importante ressaltar que Franco e Landgraf (2004) consideram que os resultados negativos dos testes dependem do

número e tamanho das amostras examinadas, da sensibilidade da metodologia empregada e do número de patógenos presentes.

Os resultados da pesquisa para a presença de *Salmonella* spp e coliformes termotolerantes presentes nas carcaças de frango, encontram-se dispostos na Tabela 1.

Tabela 1 – Resultados da contagem de coliformes termotolerantes e temperatura das carcaças de frango comercializadas em estabelecimentos na Cidade do Recife, PE, 2005.

Procedência do estabelecimento	Amostra	<i>Salmonella</i> spp	Coliformes termotolerantes (UFC/g)	Temperatura na comercialização (°C)
A	1	Ausente	$1,0 \times 10^1$	33
B	2	Ausente	$3,6 \times 10^2$	27
C	3	Ausente	$8,0 \times 10$	33
*D	4	Ausente	$2,0 \times 10^4$	31
E	5	Ausente	$1,6 \times 10^2$	27
F	6	Ausente	$3,5 \times 10^2$	33
G	7	Ausente	$6,2 \times 10^2$	27
H	8	Ausente	$6,2 \times 10^2$	28
I	9	Ausente	$7,0 \times 10^2$	28
J	10	Ausente	$7,3 \times 10^2$	34,5
K	11	Ausente	$7,3 \times 10^2$	25
L	12	Ausente	$7,3 \times 10^2$	33
M	13	Ausente	$7,3 \times 10^2$	30
N	14	Ausente	$7,3 \times 10^2$	29
O	15	Ausente	$7,3 \times 10^2$	25
P	16	Ausente	$7,3 \times 10^2$	31
Q	17	Ausente	$7,3 \times 10^2$	26
R	18	Ausente	$7,3 \times 10^2$	27
S	19	Ausente	$7,3 \times 10^2$	27
T	20	Ausente	$7,3 \times 10^2$	27
U	21	Ausente	$7,3 \times 10^2$	26
V	22	Ausente	$7,3 \times 10^2$	33
X	23	Ausente	$7,3 \times 10^2$	29
Z	24	Ausente	$7,3 \times 10^2$	30

Observou-se que das 24 amostras analisadas para coliformes termotolerantes, nenhuma estava fora dos padrões estabelecidos na RDC nº 12/2001 pela ANVISA (BRASIL, 2001b), tendo como limite analítico máximo o valor de 10^4 (UFC). Ao total 24/24 (100%) amostras, mesmo

positivas, encontravam-se com valores dentro do estabelecido pela legislação (BRASIL, 2001b).

Embora os resultados microbiológicos tenham sido favoráveis ao consumo das carcaças de frango, as condições de comercialização do produto estão em

desacordo com o Decreto Estadual nº 20786/98 porque os comerciantes mantinham as carcaças *in natura* sem o acondicionamento máximo a 10°C em expositores ou geladeiras (PERNAMBUCO, 1998). Como não havia alterações organolépticas das amostras no momento da coleta, o Serviço de Vigilância em Saúde (SVS) permitiu que os produtos fossem repassados à população desde que acondicionados em temperatura estabelecida pelo Código Sanitário Estadual de Pernambuco. Naqueles estabelecimentos que não dispunham de equipamentos refrigeradores, houve a apreensão do produto e notificação através do auto de infração.

Conclusão

Nas condições em que a pesquisa foi realizada e de acordo com os resultados encontrados, pode-se concluir que das 24 carcaças de frango comercializadas em estabelecimentos do Distrito sanitário V, cadastrados na Vigilância Sanitária do município, todas são próprias ao consumo, conforme estabelecido na RDC nº 12/2001 e RDC nº 13/2001.

Referências

ALCOCER, I. et al. Discriminação de sorovares de *Salmonella* spp. isolados de carcaças de frango por rep e eric-pcr e fagotipagem do sorovar *enteriditis*. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.2, n.26, p.414-420, 2006.

BRASIL. Lei nº 8080, de 19 de setembro de 1990. Dispõe sobre as condições para promoção, proteção e recuperação da saúde, a organização e funcionamento dos serviços correspondentes, e dá outras providências. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília. DF. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em 27 de julho de 2008.

BRASIL. Ministério da Agricultura do Abastecimento e da Reforma Agrária. **Métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para o controle de produtos de origem animal e água.**

Instrução normativa 62, de 26 de agosto de 2003. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, 18 de setembro 2003. Seção I, p.21-32; 40-43; 51-67.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Resolução RDC nº 13, de 02 de janeiro de 2001. Regulamento Técnico para Instruções de Uso, Preparo e Conservação na Rotulagem de Carne de Aves e Seus Miúdos Crus, Resfriados ou Congelados. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília. (2001a). DF. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em 28 de julho de 2008.

BRASIL, Ministério da Saúde. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília. (2001b). DF. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em 28 de julho de 2008.

CARDOSO, R.C.V. et al. A comercialização de carnes na feira livre de Mutuípe, BA: uma questão de segurança alimentar. **Revista Higiene Alimentar**, v.22, n.160, p.48-53, 2008.

COSTA, F.N. et al. Avaliação microbiológica da carne bovina moída comercializada no município de Jaboticabal, SP. **Revista Higiene Alimentar**, v.22, n.160, p.62-65, 2008.

FRANCO, D.G.M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2004. p.55-60.

LOPES, M. et al. Pesquisa de *Salmonella* spp. e microrganismos indicadores em carcaças de frango e água de tanques de pré-resfriamento em abatedouro de aves **Seminário: Ciências Agrárias**, v.28, n.3, p.465-476, 2007.

MATHEUS, D.P. et al. Ocorrência de *Salmonella* spp em carne de frango comercializada no município de Bauru, SP,

Brasil. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.2, n.62, p.111 - 115, 2003.

MOURA, A.P.B.L. et al. Pesquisa de coliformes termotolerantes, totais e *Salmonella* spp. em carnes caprinas comercializadas na cidade do Recife, Pernambuco. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 74, n. 4, p. 293-299, 2007.

PERNAMBUCO. **Legislação em Vigilância Sanitária**. Decreto nº 20786, de 10 de agosto de 1998. Aprova o Regulamento do Código Sanitário do Estado de Pernambuco. Disponível em: < e-legis.bvs.br/ leisref/public/ search.php ? & Lang = pt& words=(Rodenticidas+or+raticidas)+and+ilega%24>. Acesso em: 03 de agosto de 2008.

QUINTILIANO, C.R. et al. Avaliação das condições higiêncio-sanitárias em restaurantes, com aplicação de ficha de

inspeção baseada na Legislação Federal, RDC, 216/2004. **Revista Higiene Alimentar**, v.22, n.160, p.25-30, 2008.

SILVA, J.A. Microrganismos patogênicos em carne de frangos. **Revista Higiene Alimentar**, v.12, n.58, p.9-14, 1998.

SOUSA, C.L. et al. Pesquisa de *Salmoellella* em cortes cárneos e avaliação da temperatura de armazenamento do setor de carnes, em supermercado as cidade de Belém, PA. **Revista Higiene Alimentar**, v.22, n.159, p.73-78, 2008.

TIROLI, I.C.C.; COSTA, C.A. **Ocorrência de *Salmonella* spp. em carcaças de frangos recém abatidos em feiras e mercados da cidade de Manaus-AM**. 2006. Disponível em: <<http://www.acta.inpa.gov.br/fasciculos/36-2/BODY/v36n2a10.html> - 23k>. Acesso em: 25 de julho de 2008.