

Avaliação da unidade analítica na detecção de *Salmonella* spp. em frangos a varejo

Evaluation of the analytical unit for detecting *Salmonella* spp. in poultry at retail

RIALA6/1423

Ricardo Seiti YAMATOZI*, Julia Arantes GALVÃO, Eduardo Delbon BALDINI, Luiz Carlos Teixeira de SOUZA JUNIOR, Marianna Vaz RODRIGUES, José Paes Almeida Nogueira PINTO

*Endereço para correspondência: Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista – UNESP. Caixa Postal 572, Rubião Jr., Botucatu, SP, Brasil, (14) CEP:18.010.970, (14)38116273, e-mail: rsvet@yahoo.com.br

Recebido: 30.11.2010 – Aceito para publicação: 16.09.2011

RESUMO

Mais de 95% das salmoneloses humanas são de origem alimentar e, entre os alimentos envolvidos na transmissão estão os produtos de origem animal, especialmente os de maior relevância, os produtos avícolas. Diante desta questão, o Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) estabeleceu um programa com a finalidade de reduzir e monitorar a contaminação por *Salmonella* spp. nas carcaças de aves. Neste estudo, foi comparada a eficiência de duas metodologias de análises (o enxágue da carcaça e a excisão da pele) para recuperação de células da bactéria, bem como para a verificação da ocorrência do agente patogênico em amostras coletadas na região de Botucatu, SP. Em 100 carcaças analisadas, computando-se os resultados de ambas as metodologias, 43% (43/100) estavam contaminadas por *Salmonella* spp. Por meio de metodologia de enxágue foram detectadas 81,40% (35/43) amostras com resultados positivos e 51,16% (22/43) pela técnica de excisão. Embora a técnica de enxágue tenha detectado número superior de amostras positivas, não houve diferença estatística ($p > 0,05$) entre os resultados obtidos pelas duas metodologias. Estudos adicionais devem ser realizados, dada à importância das carcaças de frango na veiculação de *Salmonella* spp. e sua consequente introdução no ambiente de preparação de alimentos.

Palavras chave. *Salmonella*, carcaça de frango, enxágue, excisão de 25 gramas.

ABSTRACT

Over 95 % of the cases of human salmonellosis are foodborne. Among the foods involved in transmission of these diseases are the products from animal origin, being the poultry products highly relevant. To deal with this issue, the Ministry of Agriculture, Livestocks Farming and Supply (MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento) established a program, in order to monitor the contamination by *Salmonella* spp. in poultry carcasses. This study aimed at comparing the efficiency of two analytical methodologies (rinsing of chicken carcass and skin excision) for recovering the cells from this bacterium and to verify the occurrence of this pathogen in samples collected in Botucatu, SP. Analyzing 100 carcasses, and computing the results by both techniques, contamination by *Salmonella* spp. was detected in 43% samples. Using the rinsing technique, 81.40% (35/43) showed positive results as well as 51.16% (22/43) using the skin excision methodology. Although the rinsing technique detected high number of positive samples, no statistical difference ($p > 0.05$) was found between the results obtained from two methodologies. Further studies should be conducted on this issue as the poultry carcasses are crucial source for transmission of *Salmonella* spp., and the subsequent introduction of this pathogen on food preparation environment.

Keywords. *Salmonella*, poultry carcass, rinsing, 25 grams excision.

INTRODUÇÃO

As bactérias do gênero *Salmonella*, isoladas e identificadas a partir do final do século XIX, continuam desempenhando um papel importante como agentes etiológicos de enfermidades, tanto em animais, quanto no homem¹. Constituído por mais de 2500 sorotipos, o gênero é responsável por perdas econômicas consideráveis nos plantéis animais e, em relação ao homem, é considerado um dos principais agentes etiológicos das enfermidades transmitidas por alimentos – ETA^{1,2}.

Mais de 95 % das salmoneloses humanas têm origem nos alimentos e, entre os alimentos envolvidos na transmissão estão os produtos de origem animal, especialmente os avícolas³.

De acordo com levantamentos realizados em vários países, 30 a 50 % das carcaças de frangos congeladas ou refrigeradas estão contaminadas por *Salmonella* spp.⁴⁻⁶. No Brasil, há registros de até 86,7% de amostras contaminadas⁷.

Preocupada com esta questão e com seus reflexos sobre a saúde, a Secretaria de Defesa Agropecuária, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), instituiu por meio da Instrução Normativa nº 70, de 06 de outubro de 2003, o Programa de Redução de Patógenos - Monitoramento Microbiológico e Controle de *Salmonella* spp. em carcaças de frangos e perus (PRP)⁸.

Segundo esta Instrução Normativa, os abatedouros avícolas fiscalizados pelo Serviço de Inspeção Federal (SIF) brasileiro, devem remeter a laboratórios credenciados carcaças de frangos ou perus para pesquisa de *Salmonella* spp., sendo o número de amostras analisadas relacionado ao volume de abate de cada estabelecimento⁸.

A Instrução Normativa estipula que a pesquisa do patógeno deve ser realizada a partir de 25 ± 0,2 g de cortes de pele e músculo das regiões pericloacal, asas e pescoço das carcaças. Esta metodologia, no entanto, tem sido contestada por vários pesquisadores no Brasil e no exterior, mesmo antes da introdução do PRP, já que o enxágue das carcaças inteiras com volume variável de líquido tem mostrado resultados bastante superiores na recuperação do patógeno quando comparados aos alcançados pela pesagem de 25 g das amostras avaliadas⁸.

Confirmada esta discrepância nos resultados obtidos pelas metodologias, o PRP, instituído no país, poderia estar subestimando a real prevalência de *Salmonella* spp. nas carcaças de frangos produzidas no

Brasil, podendo comprometer os objetivos primários de sua implantação.

Com base em tais considerações, o presente estudo teve como objetivo comparar o método de enxágue com aquele que preconiza a excisão de 25 g de cortes de pele e músculo das regiões pericloacal, asas e pescoço, na recuperação de *Salmonella* spp. de carcaças de frangos, bem como verificar a ocorrência do patógeno em amostras colhidas na região de Botucatu, SP. Tais dados poderão fornecer subsídios ao MAPA no que se refere à escolha da unidade analítica a ser empregada na pesquisa de *Salmonella* spp. e à avaliação da qualidade sanitária do produto encontrado no comércio varejista frente às exigências regulamentares.

MATERIAIS E MÉTODOS

Coleta do material

Foram coletadas aleatoriamente 100 carcaças resfriadas de frangos no comércio varejista da região de Botucatu/SP, sendo as mesmas acondicionadas e enviadas em caixas isotérmicas, contendo gelo reciclável, para o Laboratório de Alimentos do Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública (FMVZ) da UNESP - Botucatu, a fim de serem analisadas.

Isolamento da *Salmonella*

As carcaças de frango coletados foram enxaguadas com 300 mL de água peptonada tamponada a 1 % (Difco, Becton Dickinson) durante três minutos e a solução de enxágue foi transferida para um saco plástico estéril.

A partir da mesma carcaça de frango enxaguada, foram excisados 25 g de pele e músculo conforme descrito pelo Programa de Recuperação de Patógenos (PRP)³, em saco plástico estéril e adicionado de 225 mL de água peptonada tamponada a 1% (Difco, Becton Dickinson), seguidos de homogeneização por três minutos em *stomacher* (ITR).

Em seguida realizou-se a pesquisa de *Salmonella* spp. conforme preconizado por Andrews⁹: os produtos foram incubados a 35 °C por 24 horas e, após a incubação, 0,1 mL da amostra incubada foi transferida para 10 mL do caldo de Rappaport-Vassiliadis (Difco, Becton Dickinson) e 1 mL para 10 mL de caldo de Tetrationato (Difco, Becton Dickinson), adicionado de 0,2 mL de solução de iodo e 0,1 mL de solução de verde brilhante a 0,1 %, ambos incubados a 42 °C por 24 horas. Decorrido o tempo de incubação, cada caldo foi estriado com alça bacteriológica

em placas contendo ágar Xilose-lisina-desoxicolato (Difco, Becton Dickinson), ágar Sulfito-Bismuto (Difco, Becton Dickinson) e ágar MLCB (Oxoid), sendo posteriormente incubadas a 35 °C por 24 horas. As colônias suspeitas foram repicadas em Triple sugar iron ágar (Difco, Becton Dickinson) e Lisine iron ágar (Difco, Becton Dickinson) e incubadas por 24 horas a 35 °C. Para os tubos que apresentaram reação característica para *Salmonella* spp., foram realizadas provas bioquímicas complementares (indol, Voges Proskauer, vermelho de metila, citrato, uréia, fenilalanina e movimento). Nos isolados que apresentaram características para *Salmonella* nos testes bioquímicos, foram realizados testes sorológicos para o antígeno polivalente O e H.

Em 50% das amostras avaliadas, a técnica de enxágue foi realizada antes da técnica de excisão e nas restantes o processo foi invertido.

Análise estatística

As proporções de amostras positivas e negativas para *Salmonella* sp. obtidas a partir de cada unidade analítica, foram comparadas entre si pelo teste de Goodman para contraste entre e dentro de populações binomiais, considerando o nível de 5% de significância¹⁰.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 100 carcaças analisadas, 43% apresentaram contaminação por *Salmonella* spp. Deste total, pelo método de enxágue, foram detectadas 35 amostras positivas, correspondendo a 81,40 % do total de positivos. Pela metodologia de excisão, foram detectadas 24 das 43 amostras positivas, correspondendo a 55,80% do total. A pesquisa de *Salmonella* apresentou resultado positivo simultaneamente por ambas as unidades analíticas em 16 das 43 amostras positivas (37,21%). A sequência de utilização dos métodos avaliados, isto é, o emprego do enxague ou da excisão como primeira opção na análise das carcaças não teve influência nos resultados obtidos.

Resultados semelhantes foram observados em outros estudos, onde foram avaliados produtos avícolas comercializados no varejo. Em um estudo realizado na Bélgica por Uyttendaele et al.¹¹, encontrou 36,5% (282/772) de amostras positivas para *Salmonella* em frangos comercializados no varejo. Em Trinidad e Tobago, também foi encontrada alta ocorrência deste agente em amostras coletadas no varejo, totalizando

60,7 % de positividade¹². No Brasil, Santos¹³ analisou um total de 150 carcaças de frangos congeladas de 4 marcas, coletadas no comércio varejista, e encontrou 32 % de positividade para o patógeno.

A alta ocorrência de *Salmonella* nos produtos comercializados no varejo pode ser resultante de vários fatores: abate de lotes provenientes de propriedades com deficiências no controle higiênico-sanitário; transporte inadequado até os abatedouros; e contaminação cruzada durante as operações de abate e processamento das carcaças¹⁴. Em relação a esta última etapa, as operações de escaldagem, depenagem, evisceração e resfriamento das carcaças são importantes, sendo que, medidas de higiene devem ser aplicadas em cada um desses estágios, visando garantir a qualidade sanitária do produto¹⁴.

Quanto aos resultados obtidos pelo emprego de diferentes metodologias de coleta (Tabela 1) verificou-se que o método de enxágue resultou, numericamente, em maior positividade de amostras quando comparado ao de excisão de 25 gramas. Resultados semelhantes foram encontrados por Macvoy et al.¹⁵, tendo o método de enxágue obtido 58 % de positividade e o de excisão 46 %. Ressalte-se, no entanto, que tanto em nosso experimento, quanto no de Macvoy et al.¹⁵, não se observou diferença estatística significativa quando do emprego das duas diferentes unidades analíticas.

Tabela 1. Frequência de *Salmonella* sp. em carcaças de frango, de acordo com o método utilizado

MÉTODO	Resultados		TOTAL
	Negativo	Positivo	
Excisão (25 g)	76 (76 %)aB	24(24 %)aA	100
Enxague	65(65 %)aB	35(35 %)aA	100

a: $p > 0,05$ (métodos)

A,B: $p < 0,05$ (respostas)

CONCLUSÃO

A contaminação das carcaças avaliadas revelou-se alta, com percentuais acima do fixado pela Instrução Normativa nº 708. Dos métodos avaliados, o enxágue foi o que apresentou o melhor desempenho na detecção de *Salmonella* spp. em carcaças de frango. Estudos adicionais devem ser realizados sobre o tema, dada à importância desse produto na veiculação de *Salmonella* spp. e sua consequente introdução no ambiente de preparação de alimentos.

REFERÊNCIAS

1. D'aoust JY, Maurer J, Bailey JS. *Salmonella* species. In: Doyle MP, Beuchat LR, Montville TJ. Food microbiology: fundamentals and frontiers. Washington: ASM Press, 2001. p.141-78.
2. Popoff MY, Bockemühl J, Gheesling LL. Supplement 2002 (nº. 46) to the Kauffmann-White scheme. *Res Microbiol*. 2004; 155:568-70.
3. Tauxe RV. *Salmonella*: a postmodern pathogen. *J Food Prot*. 1991; 54(7):563-8.
4. Fletcher DL. Influence of sampling methodology on reported incidence of salmonella in poultry. *J AOAC Int*. 2006;89(2):512-6.
5. Simmons M, Fletcher DL, Cason JA, Berrang ME. Recovery of *Salmonella* from retail broilers by a whole-carcass enrichment procedure. *J Food Prot*. 2003;66(3):446-50.
6. Silva JA. Microrganismos patogênicos em carne de frangos. *Hig Aliment*. 1998;12(58):9-14.
7. Carvalho ACFB, Cortez ALL. *Salmonella* spp. em carcaças, carne mecanicamente separada, linguiças e cortes comerciais de frango. *Rev Ciênc Rural*. 2005;35(6):1-6.
8. Brasil. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº 70, de 06 de outubro de 2003. Institui o Programa de Redução de Patógenos Monitoramento Microbiológico e Controle de *Salmonella* sp. Em Carcaças de Frangos e Perus. Brasília. [acesso 2010 Nov 18]. Disponível em [<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=3136>].
9. Andrews WH, June GA, Sherrod P, Hammak TS, Amaguana RM. *Salmonella*. In: Food and Drug Administration – Bacteriological Analytical Manual, 8th ed. Gaithersburg: J AOAC Int; 1998.p. 5.01-5.020.
10. Goodman LA. On simultaneous confidence intervals for contrast among multinomial populations. *Technometrics*. 1965;7(2):247-54.
11. Uyttendaele M, Troy P, Debevere J. Incidence of *Salmonella*, *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, and *Listeria monocytogenes* in poultry carcasses and different types of poultry products for sale on the Belgian retail market. *J Food Prot*. 1999; 62(7):735-40.
12. Thomas A, Lallo CHO, Badrie N. Microbiological evaluation of broiler carcasses, wash and rinse water pluck shop (cottage poultry processors) in the country Nariva/Mayaro, Trinidad, Trinidad e Tobago, west indies. *Tropiculture*. 2006;24(3):135-42.
13. Santos DMS, Junior, AB, Fernandes SA, Tavechio AT, Amaral LA. *Salmonella* em carcaças de frango congeladas. *Pesq Vet Bras*. 2000;20(1):39-42.
14. Mead L, Lammerding AM, Cox N, Doyle MP, Humbert F, Kulikovskiy A, et al. Scientific and Technical Factors Affecting the Setting of *Salmonella* Criteria for Raw Poultry: A Global Perspective. *J Food Prot*. 2010;73(08):1566–90.
15. Mcavoy JM, Nde CW, Sherwood JS, Logue CM. An evaluation of sampling methods for the detection of *Escherichia coli* and *Salmonella* on turkey carcasses. *J Food Prot*. 2005;68(1):34-9.