

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DA CARNE DE AVE DE ARRIBAÇÃO

CRISTINA PAIVA DE SOUSA*
ANTONIO WILLIAM OLIVEIRA LIMA**

Avaliou-se a qualidade microbiológica de trinta amostras de carne de aves de arribação (Zenaidura auriculata noronha, Gray) obtidas em feiras livres, na cidade de João Pessoa - PB. Das amostras em estudo constatou-se: coliformes totais em 93% das amostras, sendo que 13% apresentaram NMP maior que $10^4/g$; em 43% das amostras encontrou-se coliformes fecais em número superior a $10^2/g$; 53% destas estavam contaminadas com Escherichia coli (tipos I e II); os estreptococos fecais estavam presentes em 100% das amostras e 77% destas apresentaram NMP maior que $10^3/g$; a contagem total de placas de bactérias mesófilas em 97% das amostras foi superior a $10^6/g$; Staphylococcus coagulase positivo foi encontrado em 70% das amostras e 10% desta contaminação atingiu número superior a $10^7/g$; 100% das amostras estavam contaminadas por fungos filamentosos e leveduras e em 16,7% delas o número era superior a $10^7/g$; detectou-se a presença de Salmonella em 67% das amostras analisadas. Esses resultados indicam as más condições de higiene do abate, evisceração, salga, acondicionamento, transporte e venda do produto, visto que todas as etapas do processamento da carne de ave de arribação, seguem padrão puramente artesanal. Pode-se concluir, portanto, que essas carnes representam uma classe específica de produtos potencialmente perigosos do ponto de vista de saúde pública.

*Professor Assistente do Departamento de Nutrição do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba.

**Professor Adjunto do Departamento de Tecnologia Química e de Alimentos do Centro de Tecnologia da Universidade Federal da Paraíba.

1 INTRODUÇÃO

Nos tempos hodiernos, crescente atenção vem sendo dada à higiene de alimentos e investigações têm demonstrado que inúmeros produtos alimentícios, em particular os de origem animal, encontram-se contaminados por microrganismos produtores de toxinfecções alimentares, visto que os próprios mamíferos, aves e peixes, albergam estes microrganismos. Se o processamento e/ou manipulação forem inadequados sob o ponto de vista sanitário, os produtos acabados podem se tornar contaminados, inclusive com microrganismos produtores de toxinfecções, sendo necessário que se tenha controle de qualidade microbiológico da matéria-prima, do processamento e do produto final, além do conhecimento de suas condições de estocagem (12).

A carne das aves é um dos alimentos que mais freqüentemente permite o desenvolvimento de microrganismos, devido à sua riqueza protéica e seu pH próximo à neutralidade (2, 6, 9). FIELDS considera que a carne de aves é asséptica no animal vivo e são. Entretanto, as manipulações a que são submetidas no abate, as convertem em produto facilmente alterável, uma vez que os microrganismos encontram condições favoráveis para seu desenvolvimento, através da destruição das barreiras naturais de defesa do animal, após sua morte (6).

Anualmente, no período de maio a julho, migra do Arquipélago de Fernando de Noronha para o interior de alguns estados nordestinos para se reproduzir, a arribação (Zenaidura auriculata noronha, Gray). Cerca de oito mil pássaros por dia são abatidos para uma população calculada em um milhão de aves (3).

Nesta região e, em particular na Paraíba, o processamento dessa ave é feito de maneira artesanal. As condições higiênico-sanitárias nas operações de sangria, depenação, evisceração, salga e na comercialização a temperatura ambiente, são insatisfatórias, podendo seu consumo acarretar riscos à saúde pública, tendo em vista a disseminação de microrganismos patógenos, além de bactérias deteriorantes.

Neste trabalho, pretendeu-se avaliar a microbiota contaminante de carcaça de aves de arribação através de indicadores de rotina da qualidade higiênico-sanitária (microrganismos mesófilos, coliformes totais, fecais, Escherichia coli, estreptococos fecais e fungos filamentosos e leveduras) e da pesquisa de Staphylococcus aureus e de bactérias do gênero Salmonella.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Substrato para análise

Foram coletados ao acaso, no período da manhã, durante o ano de 1985, em diferentes pontos de comercialização da cidade de João Pessoa, PB, trinta amostras de carcaças de ave de arrição. Após a coleta, as amostras foram acondicionadas em sacos plásticos estéreis e transportadas para o Laboratório de Microbiologia Alimentar da Universidade Federal da Paraíba.

O tempo decorrido entre a coleta das amostras e o início das análises microbiológicas não ultrapassou duas horas.

2.2 Preparo das amostras e de suas diluições

Utilizando-se bisturi e pinça esterelizados, cada carcaça de ave de arrição foi cortada em vários pedaços. Após homogeneização em placa de Petri estéril, uma alíquota de 25 g foi colocada em liquidificador estéril, sendo adicionado 225 ml de água pentonada a 0,1 % pH 7,0 esterilizada. A emulsão resultante da liquidificação (por dois minutos), correspondeu a diluição inicial de 10^{-1} . Partindo-se desta diluição, preparou-se uma série de diluições decimais de 10^{-2} a 10^{-8} , empregando-se tubos de ensaio com 9,0 ml do mesmo diluente, de acordo com a técnica recomendada pela INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS (8).

2.3 Contagem de bactérias mesófilas aeróbias e anaeróbias facultativas viáveis (35°C)

Para esta análise foi utilizado o meio Ágar glicose extrato de levedo triptona com 1,0 ml das diluições de 10^{-1} a 10^{-8} em placas de Petri estéreis, em duplicata. As placas foram inoculadas por semeadura em profundidade e incubadas a 36°C por 24-48 horas. Após a incubação, as placas que apresentaram um quântico de 30 a 300 colônias foram contadas. Calculou-se a média exprimindo-se o resultado em Unidades Formadoras de Colônias (UFC) por grama do produto (8).

2.4 Determinação do Número Mais Provável (NMP) de bactérias coliformes totais

Utilizando-se diluição decimal (10^{-1} a 10^{-8}) foi realizada a semeadura em tubos contendo o caldo lauril sulfato triptose com tubos de Durham invertidos, os quais foram incubados em estufa a 36°C, durante 24-48 horas. A prova foi considerada positiva, quando se verificou turvação de meio e produção de gás nos tubos de Durham dentro do período de 24-48 horas. Dos tubos positivos transferiu-se as suspensões de cultura para tubos contendo o meio caldo lactose bile 2% verde brilhante,

com tubos de Durham invertidos e incubados a 36°C, durante 24-48 horas (8). Posteriormente, a partir do número de porções positivas (produção de gás) nas diferentes diluições empregadas utilizou-se a Tabela de Man (1) para determinar o NMP de coliformes totais por grama do alimento analisado.

2.5 Determinação do NMP de bactérias coliformes fecais

Para a determinação deste grupo de bactérias, dos tubos de caldo lactosá bile 2% verde brilhante positivos, transferiu-se um alçada para tubos contendo caldo EC com tubos de Durham invertidos, empregando-se uma alça de níquel-cromo com 3 mm de diâmetro. Estes foram incubados a 44,5°C, em banho-maria por 24-48 horas. Paralelamente, cepas de Escherichia coli e de Enterobacter aerogenes em caldo EC foram incubadas como controles. Quando ocorria produção de gás a prova para coliformes fecais era considerada positiva (8). Para cada diluição anotou-se o número de tubos positivos e conforme a tabela de NMP (1), determinou-se o NMP de bactérias coliformes fecais por grama de produto.

2.6 Pesquisa de Escherichia coli

Para a pesquisa de Escherichia coli, a partir de cada tubo de caldo EC positivo, foi empregado o meio Ágar Eosina Azul de Metileno de Levine (EMB), em placas, efetuando-se semeaduras por esgotamento em estrias e incubando-se por 24 horas a 36°C. Colônias visíveis com características próprias, negras ou com centros negros, brilho verde metálico à luz refletida e colônias mucóides de cor rosa, que confirmaram a presença de coliformes fecais, foram repicadas para o meio Ágar Nutriente Inclinado e incubadas por 24 horas a 36°C. A verificação microscópica da morfologia das colônias suspeitas e isoladas do EMB, foi realizada pelo método de coloração de Gram. As cepas que se revelaram ao exame microscópico como bastões curtos e Gram negativos, foram submetidos à provas bioquímicas (Indol, Vermelho de metila, Voges Proskauer, Citrato) e à presença de gás em tubos com caldo lactosado a 44°C (8).

2.7 Determinação do NMP de Streptococos fecais

Para esta quantificação, alíquotas de 1,0 ml de cada diluição do alimento foram semeadas em uma série de três tubos contendo Caldo Azida Glicose. Os tubos foram incubados por 24-48 horas a 35°C. Considerou-se prova presuntiva positiva quando se observava turvação e mudança de cor através do indicador púrpura de bromo-cresol. A partir destes tubos semeou-se a amostra em outros contendo Caldo Etil Violeta Azida incubando-se a 35°C por 24 horas. Considerou-se positiva a presença de turbidez e sedimento violeta no fundo. Dos tubos positivos, procedeu-se a semeadura pela técnica de esgotamento por estrias na superfície de Ágar Triptose Inclii-

nado incubando-se a 35°C por 24 horas. Deste cultivo realizou-se a verificação microscópica. A partir de cultivos puros de cocos gram positivos, realizou-se as seguintes provas diferenciais: catalase, crescimento a 45°C, crescimento e Caldo Triptose bile 40% e crescimento em NaCl 6,5%, seguindo recomendações do LANARA (10).

2.8 Contagem de Staphylococcus aureus

A partir de cada uma das diluições do alimento em estudo, uma alíquota de 0,2 ml foi depositada e espalhada com alça de Drigalsky na superfície de placas contendo Ágar Baird-Parker e posteriormente incubadas a 37°C durante 24 e 28 horas. A contagem, isolamento e a identificação das colônias suspeitas foram realizadas de acordo com o LANARA (10), realizando-se as seguintes provas: Gram, coagulase e termonuclease.

2.9 Presença de Salmonella

Das amostras do alimento, 25 g foram submetidas a enriquecimento prévio em 225 ml de caldo lactosado durante 24h / 35°C. Posteriormente, 10 ml do homogeneizado foi semeado em 90 ml de caldo tetracionato e mais 10 ml em 90 ml de caldo selenito cistina, com incubação a 43°C e 35°C respectivamente, por 48 horas. Após este enriquecimento seletivo uma alçada de cada caldo foi semeada em placas de Ágar Verde Brilhante e Ágar Bismuto Sulfito e estas, incubadas por 24h a 35°C. As colônias suspeitas foram repicadas para o Ágar LIA e TSI, onde foram observadas as colônias típicas de Salmonella (10).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas Tabelas 1 e 2 são apresentados os resultados obtidos em carcaças de aves de arribação, para o número de microrganismos mesófilos, coliformes totais e fecais, estreptococos fecais, fungos filamentosos e leveduras e Staphylococcus coagulase positivo.

Com relação aos microrganismos mesófilos, os dados obtidos evidenciaram que o intervalo de população foi de $8,1 \times 10^2$ a $1,8 \times 10^8$ UFC/g, ocorrendo predominância de contagens superiores a 10^5 /g em 73 % das amostras analisadas sugerindo, portanto, utilização de matéria-prima altamente contaminada e/ou condições de processamento inadequadas (11, 13, 15).

A ocorrência de coliformes totais no alimento indica condições higiênicas precárias (5, 8). Neste trabalho, a pesquisa desse grupo de bactérias revelou grande variação nos resultados (intervalo de população de 0 a $4,5 \times 10^5$ /g). Através análise da Tabela 2, verifica-se que 60% das amostras

examinadas apresentaram esse grupo em contagens bastante significativas.

TABELA 1 - INTERVALO DE VARIAÇÃO E CONTAGENS MÉDIAS DOS MICRORGANISMOS PESQUISADOS EM CARÇAÇAS DE AVES DE ARRIBAÇÃO

GRUPO DE MICRORGANISMOS	INTERVALO DE VARIAÇÃO		CONTAGEM MÉDIA	
Bactérias mesófilas	$8,1 \times 10^2$	a	$1,9 \times 10^3$	$1,9 \times 10^7$
Coliformes totais	0	a	$4,6 \times 10^5$	$2,2 \times 10^4$
Coliformes fecais	0	a	$2,4 \times 10^5$	$1,4 \times 10^4$
Estreptococos fecais	$3,0 \times 10^2$	a	$7,6 \times 10^6$	$4,1 \times 10^5$
Bolores/leveduras	$4,1 \times 10^4$	a	$1,8 \times 10^8$	$9,8 \times 10^6$
<u>Staphylococcus</u> coagulase (+)	0	a	$1,8 \times 10^4$	$1,7 \times 10^3$

A presença de coliformes fecais e de E. coli é considerada como indicativa da possibilidade da presença de espécies patogênicas que têm seu habitat no trato intestinal (5, 8). Verificando-se as Tabelas 1 e 2 constata-se que as contagens dos coliformes fecais variaram de 0 a $2,4 \times 10^5/g$ e que 43% das amostras apresentaram NMP acima de $10^2/g$. Além disso, 53% das amostras encontravam-se contaminadas com E. coli (tipos I e II). Estes resultados, confirmam aqueles valores obtidos com relação às contagens de microrganismos mesófilos, demonstrando, novamente, as más condições microbiológicas de grande parte das amostras do produto analisado.

Apesar das limitações no emprego dos estreptococos fecais como indicadores de contaminação fecal, grande parte destes microrganismos nos alimentos, exceto nos fermentados com cepas específicas destes, pode ser resultante de condições relacionadas com práticas deficientes de limpeza e de desinfecção (7, 8). Pela análise das Tabelas 1 e 2, estes organismos foram detectados em 100% das amostras em intervalo de população que variou de $3,0 \times 10^2$ a $7,6 \times 10^6/g$. Estes resultados corroboram, àqueles obtidos anteriormente, sendo indicativos de possibilidade de matéria-prima excessivamente contaminada e manipulada em condições insatisfatórias de higiene. É de se supor que a contagem de estreptococos fecais esteja mais estreitamente relacionada com a contagem de mesófilos que com coliformes (Tabela 3).

TABELA 2 - DISTRIBUIÇÃO SEGUNDO INTERVALOS DE CLASSE DOS MICROORGANISMOS PESQUISADOS EM CARCAÇAS DE AVES DE ARRIBAÇÃO

INTERVALO DE CLASSE	M I C R O R G A N I S M O S M e s ó f i l o s (UFC/g)		C o l i f o r m e s (NMP/g)		F e c a l i s		E s t r e p t o c o c c o s F e c a l i s (NMP/g)		B o l o r e s e S t a p h y l o c o c c u s L e v e d u r a s (UFC/g) c o a g u l a s e (+)			
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%		
0 -- 10	-	-	8	26,7	15	50,0	-	-	-	-	9	30,0
10 -- 10 ²	-	-	4	13,2	2	6,7	-	-	-	-	7	23,3
10 ² -- 10 ³	1	3,3	8	26,7	6	20,2	5	16,7	-	-	9	30,3
10 ³ -- 10 ⁴	2	6,7	6	20,0	4	13,3	9	30,0	-	-	2	6,7
10 ⁴ -- 10 ⁵	5	16,7	2	6,7	1	3,3	9	30,0	9	30,0	3	10,0
10 ⁵ -- 10 ⁶	8	26,7	2	6,7	2	6,7	5	16,7	11	36,7	-	-
10 ⁶ -- 10 ⁷	8	26,7	-	-	-	-	2	6,6	5	16,7	-	-
10 ⁷ -- 10 ⁸	4	13,2	-	-	-	-	-	-	4	13,3	-	-
10 ⁸ -- 10 ⁹	2	6,7	-	-	-	-	-	-	1	3,3	-	-

TABELA 3 - RELAÇÕES ENTRE COLIFORMES TOTAIS, ESTREPTOCOCOS FECAIS E CONTAGENS DE MESÓFILOS EM CARÇAÇAS DE AVES DE ARRIBAÇÃO

A - NÚMERO DE AMOSTRAS COM COLIFORMES / CONTAGEM DE MESÓFILOS

Mesófilos (UFC/g)	Coliformes (NMP/g)				
	0 -- 10	10 -- 10 ²	10 ² -- 10 ³	10 ³ -- 10 ⁴	10 ⁴ -- 10 ⁵
10 ² -- 10 ³	1				
10 ³ -- 10 ⁴	2				
10 ⁴ -- 10 ⁵	5				
10 ⁵ -- 10 ⁶	1	3	3		1
10 ⁶ -- 10 ⁷			4	4	
10 ⁷ -- 10 ⁸			1	2	1
10 ⁸ -- 10 ⁹					2

B - NÚMERO DE AMOSTRAS COM ESTREPTOCOCOS FECAIS/CONTAGEM DE MESÓFILOS

Mesófilos (UFC/g)	Estreptococos (NMP/g)				
	10 ² -- 10 ³	10 ³ -- 10 ⁴	10 ⁴ -- 10 ⁵	10 ⁵ -- 10 ⁶	10 ⁶ -- 10 ⁷
10 ² -- 10 ³	1				
10 ³ -- 10 ⁴	2				
10 ⁴ -- 10 ⁵	1	4			
10 ⁵ -- 10 ⁶		4	4		
10 ⁶ -- 10 ⁷	1	1	3	3	
10 ⁷ -- 10 ⁸			2	2	
10 ⁸ -- 10 ⁹					2

C - NÚMERO DE AMOSTRAS COM COLIFORMES FECAIS / ESTREPTOCOCOS FECAIS

Estreptococos (UFC/g)	Coliformes (NMP/g)					
	0--10	10--10 ²	10 ² --10 ³	10 ³ --10 ⁴	10 ⁴ --10 ⁵	10 ⁵ --10 ⁶
10 ² -- 10 ³	4		1			
10 ³ -- 10 ⁴	4	2	2	1		
10 ⁴ -- 10 ⁵		2	3	2	2	
10 ⁵ -- 10 ⁶			2	3		
10 ⁶ -- 10 ⁷						
10 ⁷ -- 10 ⁸						2
10 ⁸ -- 10 ⁹						

A variação das contagens de bolores e leveduras por grama de produto apresentou mínimo de $4,1 \times 10^4$ e máximo de $1,8 \times 10^8/g$ e 30% das amostras analisadas continham contagens maiores que $10^6/g$, caracterizando as más condições do produto.

Salmonella foi isolada em 17% das amostras, principalmente naquelas que se mostraram com NMP de coliformes fecais superior a 10/g. A sua presença indica inadequabilidade de consumo desse produto (8, 14, 16).

Pelos resultados das Tabelas 1 e 3, verifica-se que Staphylococcus coagulase (+) foi isolado em 70% das amostras examinadas com contagens variando de 0 a $1,8 \times 10^4/g$; 47% das carcaças de aves de arriboação encontravam-se com contagens superiores a $10^2/g$. Há possivelmente, grande participação dos manipuladores na contaminação do alimento em estudo, visto que o homem é o principal reservatório desse microrganismo (8).

A Portaria nº 001 de 28 de janeiro de 1987 da Divisão Nacional de Vigilância Sanitária Animal do Ministério da Saúde (4) não estabelece padrões microbiológicos para carne e derivados, entretanto, seu anexo II, item III, oferece instruções para estes casos (Tabela 4).

TABELA 4 - INSTRUÇÕES PARA AVALIAÇÃO DE ALIMENTOS PARA OS QUAIS NÃO EXISTEM PADRÕES ESPECÍFICOS

DETERMINAÇÃO	SITUAÇÃO MICROBIOLÓGICA/INTERPRETAÇÃO		
	Situação A	Situação B	Situação C
<u>Salmonella</u> (25g/ml)	Ausência	Ausência	Presença
<u>S. aureus</u> (g/ml)	Até 1000	>1000 - 10000	>10000 ou tox.
<u>B. cereus</u> (g/ml)	Até 1000	>10000 - 10000	>10000
Clostrídios sulf. redutores (g/ml)	Até 500	>500 - 10000	>10000
Coliformes fecais (g/ml)	Até 100	>100 - 500	>500

Comparando-se estes valores com os resultados obtidos para coliformes fecais, Staphylococcus e Salmonella evidencia-se que treze (43,3%), cinco (16,7%) e quinze (50%) amostras, respectivamente, encontravam-se com números superiores aos permitidos pela legislação vigente.

4 CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos e nas condições em que foi executado o presente trabalho, pode-se concluir que as carcaças de aves de arribação (Zenaidura auriculata noronha, Gray) encontravam-se impróprias para o consumo e potencialmente capazes de causar toxinfecções alimentares.

Abstract

The microbiological quality of thirty samples of game birds (Zenaidura auriculata noronha, Gray), being sold at free markets in João Pessoa - PB Brazil was studied. The results indicated the presence of total coliforms in 93% of the samples analysed and the most probable number (MPN) revealed counts greater than $10^4/g$ for 13% of the samples. In 43% of the samples the MPN for fecal coliform was superior to $10^2/g$ and 53% of these contaminated samples accounted for the presence of Escherichia coli types I and II. The faecal Streptococcus was found in 100% of the samples and the MPN were greater than $10^3/g$ in 77% of these. The count of mesophile microorganisms was superior to $10^3CFU/g$ of the samples analysed. The presence of coagulase positive Staphylococcus and Salmonella was, respectively reported, in 70 and 67% of the samples surveyed. All the samples were contaminated with filamentous fungi and yeast with counts greater than $10^7CFU/g$. The above results indicated that, due to unclean and improper sanitary conditions during handling and marketing, this product is inadequate and could be hazardous, from a public health viewpoint, when used for human consumption.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. Washington : ALPHA, 1976. 701 p.
- 2 BANWART, G.J. Basic food microbiology. Westport : AVI, 1981. 519 p.
- 3 BICHO incômodo. Veja, v. 24, n. 31, p. 56, jul.1991.

- 4 BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Divisão Nacional de Vigilância Sanitária Animal. Aprova os padrões microbiológicos para os produtos expostos à venda ou de alguma forma destinados ao consumo. Diário Oficial [da República Federativa do Brasil], Brasília, 12 fev.1987, p. 1977-2000, Seção 1.
- 5 CHORDASH, R.A., INSALATA, N.F. Incidence and pathological significance of Escherichia coli and other sanitary indicator organisms in food and water. Food Technol., v. 32, p. 54-63, 1978.
- 6 FIELDS, M.L. Fundamentals of food microbiology. Westport : AVI, 1979. 332 p.
- 7 INSALATA, N.F., WITZEMAN, J.S., SUNGA, F.C.A. Fecal streptococci in industrially processed foods: an incidence study. Food Technol., v.23, p. 1316-1318, 1969.
- 8 INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS. Microorganisms in foods: their significance and methods of enumeration. 2. ed. Canada : University of Toronto Press, 1982. v. 1.
- 9 JAY, J.M. Microbiologia moderna de los alimentos. 2. ed. Zaragoza : Acribia, 1978. 491 p.
- 10 LABORATÓRIO NACIONAL DE REFERÊNCIA ANIMAL (LANARA). Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes. Brasília : Ministério da Agricultura, 1981. v. 1 (Métodos microbiológicos)
- 11 MEAD, G.G. Bacteriological control in the processing of poultry. Vet. Rec., v.95, p. 569-572, 1974.
- 12 _____. Microbiology of the poultry carcass and processing plant. Royal Society of Health Journal, v. 4, p. 164-192, 1976.
- 13 PATTERSON, J.T. Microbiological aspects of poultry processing. Br.Poult.Sci., v. 12, p. 197, 1971.
- 14 TODD, E.C.D. Poultry associated foodborne diseases: its occurrence, cost, sources and prevention. J.Food Protected, v. 43, p., 129, 1980.
- 15 TOMPKIN, R.B. Indicator organisms in meat an poultry products. Food Technol, v. 37, p. 107-110, 1983.

16 WATSON, W.A. Salmonellosis and meat hygiene: red meat.
Vet.Rec., v.96, p. 374-376, 1975.