

Área: Tecnologia de Alimentos

DETECÇÃO DE *Campylobacter* spp. EM CARCAÇAS DE FRANGO RESFRIADAS E CONGELADAS

Isabel Cristina Cisco*, Denise Cristina Tedesco, Laura Beatriz Rodrigues, Luciana Ruschel dos Santos

Laboratório de Microbiologia de Alimentos, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária (FAMV), Centro de Pesquisa em Alimentação (CEPA), Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, RS

**E-mail: isabelcisco@upf.br*

RESUMO – As bactérias do gênero *Campylobacter* são responsáveis por uma zoonose de origem alimentar conhecida como campilobacteriose e, por isso, representam um grande problema para a saúde pública. O consumo de carne de frango é responsável pela maior fonte de infecção em humanos por esta bactéria, sendo *C. jejuni* e *C. coli* as principais espécies envolvidas em surtos. A contaminação por espécies termofílicas (*C. jejuni* e *C. coli*) em produtos prontos para consumo humano, como carcaças resfriadas e congeladas apresentam maior risco, uma vez que estes produtos cozidos inadequadamente ou a presença de agentes de contaminação cruzada são capazes de causar doenças transmitidas por alimentos. O objetivo deste trabalho foi verificar a contaminação por *Campylobacter* spp. em carcaças de frango resfriadas e congeladas, pelo método de Microbiologia Convencional. Foram selecionados e amostrados, em duplicata, três abatedouros na região norte do Estado do Rio Grande do Sul e avaliadas, em triplicata, carcaças após resfriamento em *chiller*, carcaças resfriadas a 4°C e carcaças congeladas a -12°C, totalizando 54 amostras. Os resultados demonstraram a presença de *Campylobacter* ssp. em 79,6% das amostras analisadas.

Palavras-chave: campilobacteriose, microbiologia convencional, frangos de corte

1 INTRODUÇÃO

O Brasil tem posição destacada na produção de aves e hoje é o maior exportador e terceiro produtor mundial de carne de frango (ABPA, 2015). O aumento do consumo desta carne fez a indústria intensificar a produção e a tecnologia de abate, que ao tempo em que possibilita o abate de milhares de frangos também pode potencializar contaminações bacterianas oriundas das granjas. Os produtos avícolas brasileiros são competitivos no mercado externo e estima-se que bactérias do gênero *Campylobacter* spp. sejam uma barreira sanitária para as exportações, a exemplo do que já ocorre com as salmoneloses e sua relação com infecções alimentares.

A legislação vigente no Brasil impõe o controle de *Salmonella* spp. nas carcaças de frango, porém não há legislação específica para controle de *Campylobacter* spp. em frangos de corte, evidenciando a necessidade de estudos sobre a ocorrência deste patógeno e seus potenciais riscos à saúde humana. As infecções associadas à

Campylobacter spp. notificadas têm aumentado em muitos países desenvolvidos nos últimos 20 anos, mas a falta de notificação é um problema na maioria dos países e as taxas de incidência correspondem apenas aos casos confirmados em laboratório (FAO, 2015).

As bactérias do gênero *Campylobacter*, particularmente as espécies termofílicas, são reconhecidas como um dos principais patógenos de origem alimentar. A campilobacteriose representa um importante problema para saúde pública, sendo *C. jejuni* e *C. coli* as principais espécies envolvidas nos surtos (BUTZLER, 2004; EFSA, 2014). Aves e produtos avícolas são considerados fontes primárias de campilobacteriose humana e desempenham um papel importante na transmissão da doença, sendo a manipulação, preparação e consumo de carne de frango associadas com 20 a 30% dos casos (EFSA, 2014; HUMPHREY *et al.*, 2007; KOVALENKO *et al.*, 2013).

Métodos convencionais de detecção são trabalhosos devido aos requisitos de crescimento fastidioso do *Campylobacter* (CORRY *et al.*, 1995). Porém, apesar de serem termofílicas em seus requisitos de crescimento, *C. jejuni* e *C. coli* não resistem a altas temperaturas e, conseqüentemente, não sobrevivem em alimentos pasteurizados ou adequadamente cozidos (PARK, 2002), além de serem sensíveis à dessecação (FORSYTHE, 2012). Entretanto, as superfícies das carcaças de aves e miúdos permanecem úmidas durante a comercialização, protegendo as bactérias da dessecação durante a estocagem, tornando estes produtos possíveis veículos de transmissão de *Campylobacter* spp. ao homem (HOBBS & ROBERTS, 1999).

Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi verificar a contaminação por *Campylobacter* spp. em carcaças de frango resfriadas e congeladas, pelo método de Microbiologia Convencional.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Amostragem e locais de coleta

O trabalho foi realizado em três abatedouros de frangos de corte no norte do estado do Rio Grande do Sul, sendo dois sob Serviço de Inspeção Federal (SIF) e um sob Inspeção Estadual (CISPOA). As coletas foram realizadas entre novembro de 2014 a abril de 2015, com duas visitas em cada abatedouro, e as carcaças coletadas após resfriamento em *chiller*, resfriadas a 4°C e congeladas a -12°C, em triplicata, totalizando 54 carcaças. Estas foram acondicionadas em sacos plásticos individuais, identificadas com lacres oficiais e encaminhadas ao laboratório, onde foram rinsadas com 400 mL de água peptonada tamponada e homogeneizadas por 30 segundos. As análises de microbiologia convencional foram realizadas no Laboratório de Microbiologia de Alimentos do Centro de Pesquisa em Alimentação da Universidade de Passo Fundo (CEPA-UPF).

2.2 Microbiologia convencional para identificação de *Campylobacter* spp.

Para a detecção de *Campylobacter* spp. foi utilizada a metodologia adaptada da ISO 10272-1 (2006), utilizando-se como controle positivo *Campylobacter coli* ATCC 33559 e controles negativos *Escherichia coli* ATCC 25922 e *Proteus mirabilis* ATCC 35659. Para o enriquecimento, 1 mL de cada uma das amostras foi

transferido para tubos contendo 9 mL do caldo Bolton suplementado. Os tubos foram incubados em atmosfera microaerófila a $37 \pm 1^\circ\text{C}$ por 4 horas e posteriormente transferidos para $41,5 \pm 1^\circ\text{C}$ por $44 \pm 4\text{h}$.

Após, de cada cultura do caldo Bolton inoculou-se 100 μL sobre a superfície dos Ágares Charcoal Cefopezarona Desoxicolato Modificado (mCCDA) e Columbia Sangue (CBA) com suplemento seletivo contendo Cefoperazona 32mg/L e Amfotericina B 10mg/L, com o auxílio de alças de Drigalski e as placas incubadas a $41,5 \pm 1^\circ\text{C}$ por $44 \pm 4\text{h}$, em microaerofilia.

As colônias compatíveis com *Campylobacter* spp. foram selecionadas e estriadas por esgotamento em Ágar Columbia Sangue (CBA) e incubadas a $41,5 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 a 48 horas, em microaerofilia. Após, foram realizados os testes de coloração de Gram, motilidade e oxidase para identificação de *Campylobacter* spp.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da pesquisa de *Campylobacter* spp. por Microbiologia Convencional nas carcaças analisadas estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1: Isolamento de *Campylobacter* spp. em abatedouros de frangos de corte por microbiologia convencional

Pontos de Amostragem	Abatedouros e Coletas					
	A		B		C	
	Coleta 1	Coleta 2	Coleta 1	Coleta 2	Coleta 1	Coleta 2
Carcaças depois do <i>chiller</i>	33%	33%	66%	100%	66%	100%
	(1/3)	(1/3)	(2/3)	(3/3)	(2/3)	(3/3)
Carcaças resfriadas a 4°C	33%	100%	100%	100%	100%	100%
	(1/3)	(3/3)	(3/3)	(3/3)	(3/3)	(3/3)
Carcaças congeladas a -12°C	33%	100%	100%	100%	66%	100%
	(1/3)	(3/3)	(3/3)	(3/3)	(2/3)	(3/3)
Total	33%	78%	89%	100%	78%	100%
	(3/9)	(7/9)	(8/9)	(9/9)	(7/9)	(9/9)

A ocorrência de *Campylobacter* em carcaças depois do *chiller* foi de 67%, em carcaças resfriadas foi de 89% e para carcaças congeladas 83%. Os resultados deste trabalho são superiores aos citados por Mulinari *et al.* (2014), que identificou *Campylobacter* em 43,2% carcaças de frangos e em 7,7% dos miúdos e cortes avaliados.

Concordando com este estudo, Franco *et al.* (2004) citam que *C. jejuni* sobrevive em ambientes e alimentos refrigerados melhor do que em temperatura ambiente, contrariando as características tradicionais de outras bactérias. Maziero e Oliveira (2010), ao analisar carne de frango após a embalagem no frigorífico, 4 dias a 4°C e 28 dias a 20°C negativos, citam que houve diferença significativa em UFC/g de *Campylobacter* spp. entre amostras frescas e armazenadas sob refrigeração ou congelamento, indicando que a bactéria pode sobreviver bem ao período de comercialização de carnes resfriadas.

Estes resultados estão em concordância com Bhaduri *et al.* (2004) que ao avaliarem a sobrevivência de *C. jejuni* a 4°C e -20°C em carne de frango artificialmente contaminadas e irradiadas concluíram que a refrigeração reduziu as contagens da bactéria após 3 e 7 dias, mas células viáveis ainda podiam ser detectadas após 14 dias de estocagem.

A sobrevivência de *Campylobacter* em amostras resfriadas é citada por: Azeredo (2010), que avaliou carcaças de frango após o resfriamento e constatou que *Campylobacter* spp. manteve-se viável a 4°C; Badaró (2013), ao citar 44 % de positividade em carcaças de frango provenientes de abatedouros do Estado de Minas Gerais; Oliveira *et al.*, (2013) com 20% de positividade em carcaças na saída do *chiller* e Maziero (2007), com a detecção de *Campylobacter* termotolerantes em 53,3% em amostras de carne de frango resfriadas e 36,67% em amostras congeladas.

A contaminação cruzada devido à manipulação inadequada de alimentos no ambiente doméstico é considerada uma fonte importante de infecção (MATTICK *et al.*, 2003). A positividade encontrada nesse estudo e os resultados demonstrados por outros autores, evidenciando a contaminação por *Campylobacter* spp. nos produtos avícolas é preocupante, visto que a dose infectante para *Campylobacter* spp. é baixa. Por tratar-se de um produto resfriado e/ou congelado, onde microrganismos deste gênero podem sobreviver às condições de armazenamento, deve-se induzir a prevenção das infecções por *Campylobacter* spp. com instruções adequadas ao consumidor final, bem como a aplicação das Boas Práticas de Fabricação e a indicação de cozimento adequado a estes produtos.

4 CONCLUSÃO

Verificou-se a presença de *Campylobacter* spp. em 79,6% das carcaças de aves congeladas e resfriadas avaliadas, indicando que estes produtos finais são prováveis fontes de transmissão de *Campylobacter* spp. para humanos.

5 AGRADECIMENTOS

Ao apoio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS), Programa Pesquisador Gaúcho - PqG – Edital FAPERGS nº 004/2012.

6 REFERÊNCIAS

- ABPA. Associação Brasileira de Proteína Animal. Relatório Anual 2015. Produção e Exportação Brasileira de carne de Frango em 2013. Disponível em: <<http://abpabr.com.br/files/publicacoes/8ca705e70f0cb110ae3aed67d29c8842.pdf>>. Acesso em: 20 maio 2015.
- AZEREDO L.I.; LUCHESE R.H.; LAURIA-FILGUEIRAS A.L. *Campylobacter* spp. em carne de ave crua: avaliação da etapa de resfriamento. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, p.518-524, 2010.

- BADARÓ, A. C. L. Qualidade de carcaças de frango de abatedouros do estado de Minas Gerais: ocorrência de *Campylobacter jejuni* e perfil de resistência a antimicrobianos. 174f. Tese de doutorado – Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, 2013.
- BHADURI, S.; COTTRELL, B. Survival of cold-stressed *Campylobacter jejuni* on ground chickens and chicken skin during frozen storage. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 70, p. 7103-7109, 2004.
- BUTZLER, J. P. *Campylobacter*, from obscurity to celebrity. **Clin Microbiol Infect**, v. 10, n. 10, p.868–876, 2004.
- CORRY, J. E.; POST, D. E.; COLIN, P.; LAISNEY, M. J. Culture media for the isolation of *Campylobacters*. **J Food Microbiol.**, v. 26, n. 1, p. 43-76, 1995.
- EFSA. European Food Safety Authority. The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2012. **The EFSA Journal**, v. 12, p.1-314, 2014.
- FAO. Food and Agriculture Organization. Risk Assessment of thermophilic *Campylobacter* spp. in broiler chickens. Disponível em: < <http://www.fao.org/docrep/008/y8145e/y8145e07.htm>>. Acesso em: 1 jul. 2015.
- FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da segurança alimentar**. Rio Grande do Sul: Artmed, p. 208-212, 2012.
- FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo. Ed. Atheneu, 182p. 2004.
- HOBBS, B.C.; ROBERTS, D. **Toxinfecções e controle higiênico-sanitário de alimentos**. 2ª Ed, São Paulo: Varela, p.123-124, 1999.
- HUMPHREY, T.; O'BRIEN, S.; MADSEN, M. *Campylobacters* as zoonotic pathogens: a food production perspective. **J Food Microbiol.**, v. 117, n. 3, p. 237–257, 2007.
- ISO 10272-1:2006. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection and enumeration of *Campylobacter* spp. Part 1: Detection method. International Standard -ISO. Geneva 20, Switzerland; p. 1–16, 2006.
- KOVALENKO, K.; ROASTO, M.; LIEPINS, E.; MAESSAR, M.; HORMAN, A. High occurrence of *Campylobacter* spp. in Latvian broiler chicken production. **Food Control**, v. 29, n.1, p. 188-191, 2013.
- MATTICK, K.; DURHMAN, K.; DOMINIGUE, G.; JORGENSEN, F.; SEN, M.; SCHAFFNER, D. W.; HUMPHREY, T. The survival of foodborne pathogens during domestic washing up and subsequent transfer onto washing-up sponges, kitchen surfaces, and food. **International Journal of Food Microbiology**, v. 85, p. 213-226, 2003.
- MAZIERO, M. T. Contaminação de carcaças de frango por *Campylobacter jejuni* antes e após o armazenamento sob resfriamento ou congelamento. 2007. 56f. Dissertação de mestrado - Curso de Pós-graduação em Ciência de Alimentos, Universidade Estadual de Londrina.
- MAZIERO, M. T.; OLIVEIRA, T. C. R. M. Effect of refrigeration and frozen storage on the *Campylobacter jejuni* recovery from naturally contaminated broiler carcasses. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 41, p. 501-505, 2010.
- MULINARI, E. L.; SALVATORI, R. U.; MAJOLO, C. Enumeração de *Campylobacter* em carcaças, cortes e miúdos de frango produzidos no Rio Grande do Sul. **Caderno Pedagógico**, v.11, p. 91-98, 2014.
- OLIVEIRA, A. L.; OLIVEIRA, L. B. P. Enumeração de *Campylobacter* spp., e presença de *Campylobacter jejuni* em carcaças de frango no Estado de Minas Gerais. **Ciência Rural**, v.43, p. 480-484, 2013.



PARK, S.F. The physiology of *Campylobacter* species and its relevance to their role as foodborne pathogens.
International Journal of Food Microbiology, v. 74, p. 177-188, 2002.