

AVALIAÇÃO BACTERIOLÓGICA DE CARNES E SEUS DERIVADOS COMERCIALIZADOS NA CIDADE DE BAURU - SP

ALICE YOSHIKO TANAKA *
SONIA MARIA MARAFIOTTI GOMES **
DANIEL PLACIDO MATHEUS ***
CLARICE QUEICO FUJIMURA LEITE ****

No período de março de 1992 a fevereiro de 1993 analisou-se a qualidade microbiológica de 98 amostras de alimentos, sendo 52 de carne de primeira, 33 de carne de segunda, 7 de carne moída de segunda, 3 de fígado bovino e 3 de lingüiça de carne suína, coletadas em supermercados da cidade de Bauru. Os clostrídios sulfito redutores estiveram ausentes em todas as amostras analisadas, enquanto bolores e leveduras foram encontrados em apenas duas amostras de carne moída. Das amostras analisadas 34% apresentaram contagem superior a 10^6 UFC/g de bactérias heterotróficas e 100% continham coliformes totais. Contagem acima de 10^3 coliformes fecais e *E. coli*, por grama de amostra foram encontrados em 15,4% de carne de primeira, 15,2% de carne de segunda, 57,2% de carne moída, 33,3% de fígado e 66,7% de lingüiça. Em 4 amostras de carne (uma de primeira, duas de segunda e uma de carne moída) foram isoladas salmonelas, sendo duas do sorotipo *S. agona* e duas do *S. infantis*.

1 INTRODUÇÃO

Pela sua rica composição em nutrientes, a carne em geral constitui-se em meio de cultura excelente para o desenvolvimento de patógenos principalmente os entéricos (4,14). Trabalhos publicados no Brasil (4,10,14,15) têm evidenciado a ocorrência de elevado número de

* Pesquisador Científico, Instituto Adolfo Lutz e Aluna do Curso de Pós-Graduação em Alimentos e Nutrição - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNESP - SP - Brasil.

** Biologista, Laboratório da Divisão Regional de Saúde X (DIR X) - Bauru - SP - Brasil.

*** Médico Veterinário, Vigilância Sanitária da Divisão Regional de Saúde X (DIR X), Bauru, SP - Brasil.

**** Departamento de Ciências Biológicas - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNESP - Araraquara - SP - Brasil.

alimentos cárneos fora dos padrões microbiológicos legais, principalmente pela presença de *Salmonella*, trazendo sérios problemas para a saúde pública, uma vez que são causadores de toxinfecção alimentar (10,15). O *S. aureus*, devido à produção de enterotoxinas, vem se apresentando também como importante agente de intoxicações alimentares (2,4,5). Outras bactérias, como *B. cereus* e os *clostrídios sulfito-redutores*, também têm sido incriminadas como agentes de toxinfecções (6,13).

Na região de Bauru, nos últimos anos, o serviço de Vigilância Sanitária tem recebido com freqüência, denúncias sobre a qualidade dos alimentos, principalmente os de origem animal. Apesar disso, ainda não havia sido realizado trabalho sobre as condições microbiológicas de carnes e derivados cárneos naquela região.

Considerando a importância que a carne representa na alimentação humana e o registro de ocorrência de toxinfecções alimentares na região de Bauru investigou-se a presença de bactérias causadoras de toxinfecções, de indicadores de contaminação fecal e de microrganismos deteriorantes em carnes e seus derivados, comercializadas na Cidade de Bauru - SP. Este trabalho foi desenvolvido num esforço conjunto entre os serviços de Vigilância Sanitária e o Laboratório I da Divisão Regional de Saúde X (DIR X) do SUS-BAURU.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 AMOSTRAGEM

No período de março de 1992 a fevereiro de 1993 analisou-se a qualidade microbiológica de 98 amostras de produtos cárneos, coletados em supermercados do município de Bauru-SP, sendo: 52 de carne de primeira, 33 de carne de segunda, 07 de carne moída de segunda, 03 de fígado bovino e 03 de lingüiça de carne suína. As amostras coletadas foram identificadas e colocadas em caixa de isopor com gelo sendo transportadas imediatamente ao laboratório para análise microbiológica, cujo início nunca ultrapassou 6 horas após a coleta.

2.2 PREPARO DAS AMOSTRAS

Pesou-se duas porções de 25 g de cada amostra, as quais foram trituradas com 225 mL de solução salina fisiológica peptonada (SSFP), sendo uma delas incubada a 35-37°C por 24 horas, para pré-enriquecimento de *Salmonella*. Da outra porção foram realizadas diluições decimais sucessivas para determinar o número mais provável (NMP) de coliformes totais e fecais, efetuar contagens de bactérias heterotróficas, de

microrganismos anaeróbios sulfito redutores, de *Bacillus cereus*, de *S. aureus* e de bolores e leveduras.

2.3 PROCEDIMENTO DAS ANÁLISES

2.3.1 Pesquisa de *Salmonella* (8,10)

Após o pré-enriquecimento em SSFP, 1 mL de cada amostra foi semeado em 10 mL de caldo selenito-cistina (Difco) e de caldo Rappaport (Difco), os quais foram incubados por 24 horas a 43°C para enriquecimento seletivo de *Salmonella*. Na sequência uma alçada de cada caldo foi semeada em placas de Ágar SS (Difco) e Ágar Verde Brilhante (Difco), incubando-as por 24 a 48 horas a 37°C. As colônias suspeitas que cresceram nos meios de Ágar SS e de Ágar Verde Brilhante foram submetidas à identificação bioquímica e confirmadas sorologicamente com os soros polivalentes, somático (O) e flagelar (H). As cepas assim identificadas foram posteriormente encaminhadas ao Instituto Adolfo Lutz de São Paulo para identificação sorológica completa.

2.3.2 Contagem de bactérias heterotróficas (12)

Realizou-se a semeadura adicionando-se 1 mL das respectivas diluições (10^{-3} a 10^{-5}) em 20 mL do Ágar Contagem Total (Difco) resfriado a 40-45°C. Após homogeneização as placas foram incubadas a 35°C por 48 horas, realizando-se a contagem das colônias formadas. Os resultados foram expressos em Unidade Formadora de Colônias (UFC) por grama de amostra.

2.3.3 Contagem de clostrídios anaeróbicos sulfito redutores (11)

Em 10 mL do Ágar TSC (Difco) fundido e resfriado a 40-45°C adicionou-se 1 mL de cada amostra nas diluições de 10^{-1} a 10^{-3} . Agitou-se suavemente para boa homogeneização, vertendo-as em placas estéreis. Depois da solidificação do meio, colocou-se nestas placas mais 10 mL do mesmo meio de cultura, para vedação, incubando-as a 35-37°C por 24 horas sob anaerobiose, em jarra "Gas Pak". Após a leitura das colônias registrou-se os resultados em UFC/g de amostra.

2.3.4 Contagem de *Bacillus cereus* (16,17)

Utilizou-se o Ágar Manitol (MERCK), semeando-se 1 mL das respectivas diluições 10^{-1} a 10^{-3} na superfície do mesmo, segundo Mossel, citado por SIQUEIRA (17). Após incubação a 35°C por 24 horas foram contadas as

colônias rugosas, secas, com coloração de rosa até púrpura, rodeadas por halo branco, sendo os resultados expressos em UFC/g.

2.3.5 Contagem de bolores e leveduras (12)

Em cada placa de Petri adicionou-se 1 mL das diluições 10^{-1} a 10^{-3} da amostra e 20 mL de Ágar Batata Dextrose (Difco), previamente fundido, resfriado a 44-46°C e pH ajustado em 3,5. Após homogeneização e solidificação, incubou-se as placas por 5 dias a 25°C. As contagens para fungos filamentosos e para leveduras foram feitas separadamente, sendo os resultados expressos em UFC/g.

2.3.6 Contagem de *S. aureus* (18)

Semeou-se na superfície do Agar Baird-Parker (Difco), 0,1 mL de cada diluição (10^{-1} a 10^{-3}) das amostras, incubando-se a 35°C por 48 horas. As colônias negras com lecitinase positiva foram contadas, repicadas e submetidas às provas de catalase e coagulase para confirmação da espécie de *S. aureus*.

2.3.7 Determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais (CT), coliformes fecais (CF) e *E. coli* (12)

A determinação foi realizada pelo método dos tubos múltiplos, utilizando-se 3 séries de 3 tubos (10, 1,0 e 0,1 mL). No teste presuntivo utilizou-se o caldo lauril-triptose (Difco) com incubação a 35°C por 48 horas. O teste confirmatório foi feito empregando-se caldo lactose-bile verde brilhante para os coliformes totais e caldo EC para coliformes fecais e *E. coli*, com temperaturas de incubação de 35 e 44,5°C respectivamente. O teste final para *E. coli* foi realizado semeando-se uma alçada do material proveniente dos tubos com caldo EC positivos em placas com Ágar EMB (Difco) incubando-as a 35°C por 24 horas. As colônias com características de *E. coli* foram identificadas através de provas de IMVIC.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Constatou-se ausência de *clostrídios sulfito redutores* nas 98 amostras analisadas e a presença de bolores e leveduras apenas em duas amostras de carne moída, com contagem de até 10 UFC/g de amostra. Confirmou-se a presença de *B. cereus* em 3,1% e 2%, respectivamente, das amostras de carne de primeira e carne de segunda com contagens inferiores a 100 UFC/g. O *B. cereus* é comumente citado como agente de toxinfecção alimentar decorrente principalmente do consumo de pratos ricos em

carboidratos (13). Os esporos de *B. cereus* encontram-se amplamente distribuídos pela natureza e sua presença já foi constatada em diversos alimentos (13,16). Tendo sido encontrado em níveis baixos, provavelmente sua presença só se tornará problema se, posteriormente, numa associação com alimentos amiláceos, houver condição para ocorrer multiplicação bacilar, uma vez que o número de células necessário para causar toxinfecção é da ordem 10^5 - 10^9 /g do alimento (13).

A presença de *S. aureus* foi confirmada em apenas em 3 das 98 amostras analisadas, sendo uma delas carne de primeira, com contagem de $1,3 \times 10^5$, outra de carne de segunda, com $3,0 \times 10^2$ e a última de carne moída com $5,3 \times 10^3$. Número reduzido de *S. aureus* em carnes cruas foi encontrado também por outros pesquisadores (4,5) e segundo BERGDOLL (2) a carne crua não é um meio adequado para o desenvolvimento de *S. aureus*. Ainda DELAZARI et al. (7) verificaram que o desenvolvimento de *S. aureus* em lingüiças poderia ser inibido pela microbiota contaminante. Efeito inibidor semelhante pode ter ocorrido no presente estudo com as amostras de fígado e lingüiça, no qual verificou-se contagem elevada de bactérias heterotróficas e de coliformes, mas ausência de *S. aureus*. Apesar de ter sido isolado em apenas 3 amostras, provavelmente a pesquisa de cepas enterotoxigênicas teria sido promissora, uma vez que contagem de $1,3 \times 10^5$ UFC/g de *S. aureus* foi detectada na carne de primeira. Segundo BERGDOLL (2), alimentos contendo 10^5 células de *S. aureus*/g têm grande possibilidade de ocasionar intoxicação. Mesmo nas outras duas amostras cujas contagens foram significativamente mais baixas, haveria a possibilidade de serem encontradas cepas enterotoxigênicas. CALDERON & FURLANETTO (4) isolaram cepas de *S. aureus* produtoras de enterotoxina do tipo B numa amostra de carne suína, com $2,8 \times 10^3$ UFC/g.

Na Tabela 1 são apresentados os resultados da contagem de bactérias heterotróficas. Todas as amostras de lingüiça analisadas, bem como 19% das de carne de primeira, 52% das de carne de segunda e 57% das de carne moída apresentaram população superior a 10^6 UFC/g de amostra. A contagem de bactérias heterotróficas tem sido usada como indicador da qualidade dos alimentos (3,12), pois sua presença em número elevado indica manuseio, transporte e conservação inadequados. Segundo o ICMSF (12) número de células superior a 10^6 UFC/g é também indicativa de que o alimento pode estar na fase de deterioração. LEITE et al. (14) em trabalho semelhante, realizado na cidade de Araraquara, verificaram que 64% das amostras de carne crua analisadas apresentavam contagens superiores a 10^6 bactérias heterotróficas/g.

Em relação aos grupos dos coliformes os resultados estão expressos na Tabela 2. A presença de coliformes totais (CT) constatada em todas as amostras analisadas, em muitos casos, com contagem elevada, indica condições higiênicas precárias (3). Presença de coliformes fecais (CF) e *E.*

coli acima de 10^3 foram verificadas em 15,4% das amostras de carne de primeira, 15,2% das de carne de segunda, 57,2% das de carne moída, 33,3% das de fígado e 66,7% das de lingüiça. Este grupo de microrganismos auxiliam na determinação das condições higiênico-sanitárias (3) já que sua presença nos alimentos pode indicar a presença de espécies patogênicas, como *Salmonella*. Esta segundo a Portaria nº 1 da Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária (3) deve estar ausente em 25 g de carnes e derivados. Neste trabalho, as 4 salmonelas isoladas foram obtidas a partir de carne fresca com contagens acima de 10^3 CT e de *E. coli* por grama de amostra, como pode ser observado na Tabela 3. No entanto não se confirmou a presença de salmonelas em fígado e na lingüiça, mesmo nas amostras com contagem elevada de CT e de *E. coli*.

TABELA 1 - CONTAGEM DE BACTÉRIAS HETEROTRÓFICAS EM 98 AMOSTRAS DE CARNES E DERIVADOS

Natureza das Amostras	Nº de Amostras Analisadas	Bactérias Heterotróficas (UFC/g)*					
		0 - 10^5		10^5 - 10^6		> 10^6	
		Nº	%	Nº	%	Nº	%
carne de primeira (contra-filé, alcatra)	52	24	46	18	35	10	19
carne de segunda	33	7	21	9	27	17	52
carne moída	7	-	-	3	43	4	57
fígado	3	3	100	-	-	-	-
lingüiça	3	-	-	-	-	3	100
TOTAL	98	34	35	30	31	34	34

* UFC= Unidade Formadora de Colônia.

Das quatro salmonelas isoladas, duas pertencem ao sorotipo *S. agona* e duas ao *S. infantis*. Em relação aos sorotipos isolados de alimentos, LEITE et al. (14) apesar de verificarem predominância de *S. panamá* nas amostras de carnes e derivados, também encontraram *S. agona*.

PELAYO e SARIDAKIS (15) analisando 194 amostras de produtos cárneos da região de Londrina, isolaram 12 cepas de *Salmonella* com predominância de 75% do sorotipo *S. infantis*. GOMES & FURLANETTO (10) também verificaram predominância do sorotipo *S. infantis* nas amostras de fígado bovino adquiridas em feiras livres do município de São Paulo. Correlacionando estes sorotipos com distúrbios gastrointestinais, no Rio de Janeiro, ASENSI & HOFER (1) estudando 116 sorotipos de *Salmonella* provenientes de coprocultura e hemocultura de crianças com

diarréias, observaram frequência de 7,75% de isolamento de *S. agona*. FERNANDES & GALLES (9) estudando também casos de diarréia infantil, determinaram que excetuando *S. typhimurium*, 95% dos casos de salmoneloses foram causados por *S. agona*. Com exceção da *S. typhi* e *S. paratyphi*, os animais são os principais reservatórios dos outros sorotipos de *Salmonella* (12). Assim, carne e derivados podem ser veiculadores em potencial destas bactérias. A manutenção dos alimentos contaminados em temperatura inadequada, possibilita a sua multiplicação, o que torna possível a ocorrência de surtos de toxinfecções alimentares pela *Salmonella*.

TABELA 2 - NMP DE COLIFORMES TOTAIS (CT), COLIFORMES FECALIS (CF) E DE *E. Coli* EM 98 AMOSTRAS DE CARNES E DERIVADOS

Natureza da Amostra	<3 - 10		Bactérias/g 10 ¹ - 10 ³		> 10 ³	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Carne de 1ª (52)						
Coliforme total	8	15,4	23	44,2	21	40,4
Coliforme fecal	32	61,6	12	23,1	8	15,4
<i>E. coli</i>	32	61,6	12	23,1	8	15,4
Carne de 2ª (33)						
Coliforme total	2	6,1	10	30,3	21	63,7
Coliforme fecal	20	60,6	8	24,2	5	15,2
<i>E. coli</i>	20	60,6	8	24,2	5	15,2
Carne moída (7)						
Coliforme total	-	-	-	-	7	100,0
Coliforme fecal	2	28,6	1	14,3	4	57,2
<i>E. coli</i>	2	28,6	1	14,3	4	57,2
Fígado (3)						
Coliforme total	-	-	-	-	3	100,0
Coliforme fecal	2	66,7	-	-	1	33,3
<i>E. coli</i>	2	66,7	-	-	1	33,3
Lingüiça (3)						
Coliforme total	-	-	-	-	3	100,0
Coliforme fecal	1	33,3	-	-	2	66,7
<i>E. coli</i>	1	33,3	-	-	2	66,7

TABELA 3 - PRESENÇA DE *Salmonella* NAS AMOSTRAS ANALISADAS E SUA CORRELAÇÃO COM O NMP DE COLIFORMES FECALIS (CF) E DE *E. coli*

Natureza da amostra	<i>Salmonella</i>	Coliformes fecais NMP/g	<i>E. coli</i> NMP/g
Carne de primeira (52)	<i>S. agona</i>	>10 ³	>10 ³
Carne de segunda (33)	<i>S. agona</i> <i>S. infantis</i>	>10 ³	>10 ³
Carne moída (7)	<i>S. infantis</i>	>10 ³	>10 ³

NMP - Número mais Provável.

3 CONCLUSÃO

Do exposto pode se verificar que porcentagem significativa das amostras de carne e derivados analisados apresentaram contagem elevada de bactérias heterotróficas, CT, CF e *E. coli*, bem como presença de *Salmonella*, indicando provável manuseio ou conservação imprópria. Neste sentido, estes produtos podem participar como elo na cadeia de transmissão de gastroenterite na cidade de Bauru.

É preciso, portanto, fortalecer o Serviço de Vigilância Sanitária e o laboratório de controle microbiológico, bem como melhorar as condições higiênico-sanitárias dos locais de abate, armazenamento e transporte da cidade de Bauru.

ABSTRACT

Between march 1992 and february 1993, 98 food samples (52 first class meat samples, 33 second class meat samples, 7 grounded second class meat samples, 3 cow livers samples and 3 pork sausages samples) were collected from Bauru supermarkets and analysed for microbiological quality. It was observed absence of clostridia sulfite reductor and only 2 samples of grounded meat have molds and yeasts. *B. cereus* and *S. aureus* were present in a few samples. Heterotrophic bacterias were present over 10⁶ UFC/g in 34% of samples and total coliforms in 100% of the meat and derived analysed. Fecal coliforms and *E. coli* over 10³/g were found in 15,4% of 1st class meat, 15,2% of 2nd class meat, 33,3% of cow livers, 57,2% of grounded meat and 66,7% of pork sausages. *Salmonella* was also isolated from 4 meat samples: 2 serotypes of *S. agona* and 2 of *S. infantis*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 ASENSI, M.D., HOFER, E. Serovars and multiple drug resistant *Salmonella* sp isolated from children in Rio de Janeiro - Brazil. **Rev. Microbiol.**, São Paulo, v. 25, p. 149-53, 1994.
- 2 BERGDOLL, M.S., BENNETT, R.W. Staphylococcal enterotoxin. In: SPEACK, M.L. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. Washington D.C. : APHA, 1984. p. 428-57.
- 3 BRASIL. Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária. Divisão Nacional de Vigilância Sanitária de Alimentos. Portaria nº 1. **Diário Oficial [da República Federativa do Brasil]**, Brasília, 12 de fevereiro de 1987. Seção 1, p. 2197.
- 4 CALDERON, D.F., FURLANETO, S.M.P. Análise bacteriológica de carnes suínas comercializadas em açougues da cidade de São Paulo. **Rev. Microbiol.**, São Paulo, v. 21, p. 331-6, 1990.
- 5 CERQUEIRA CAMPOS, M.L. et al. Staphylococcal food poisoning outbreaks in São Paulo - Brasil. **Rev. Microbiol.**, São Paulo, v. 24, p. 261-4, 1993.
- 6 CULLEN, B.T., FALCÃO, D.P., LANDGRAF, M. Análise microbiológica de alimentos infantis. **Rev. Microbiol.**, São Paulo, v. 17, p. 126-31, 1986.
- 7 DELAZARI, I., LEITÃO, M.F.F., HSU, I.A. Efeito da microflora contaminante sobre o desenvolvimento de *Staphylococcus aureus* em linguiças. **Colet. Inst. Tecnol. Alim.**, v. 8, p. 557-71, 1977.
- 8 EWING, W.H. **Edwards and Ewing's Identification of enterobacteriaceae**. 4.ed. New York: Elsevier, 1986. 535 p.
- 9 FERNANDES, L.C., GALLES, M.E.T. Diarréia infantil for *Salmonella agona*: resistência bacteriana e tratamento. **Arq. Bras. Med.**, v. 63, p. 33-6, 1989.
- 10 GOMES, M.F.F.F., FURLANETTO, S.M.P. Salmonelas em amostras de fígado de bovino e avaliação da eficiência de meios de enriquecimento seletivo, tempo e temperatura de incubação no seu isolamento. **Rev. Microbiol.**, São Paulo, v. 16, p. 211-21, 1985.

- 11 HARMON, S.M., DUNCAN, C.L. *Clostridium perfringens*. In: SPEACK, M.L. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. Washington D.C. : APHA, 1984. p. 483-95
- 12 INTERNATIONAL COMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS (ICMSF). **Microrganisms in foods**. 1- Their significance and methods of enumeration. Toronto : University of Toronto, 1978. 434 p.
- 13 KNIGHT, I.C.S.M., LEITÃO, M.F.F., LEITÃO, R.F.F. *Bacillus cereus* em macarrões industrializados. II. Ocorrência em produtos comerciais e sua multiplicação no alimento preparado para consumo. **Rev. Microbiol.**, São Paulo, v. 21, p. 268-75, 1990.
- 14 LEITE, C.Q.F., VALENTINI, S.R., FALCÃO, D.P. Pesquisa de enteropatógenos em alimentos cárneos crus. **Rev. Ciênc. Tecnol. Alim.**, v. 8, p. 155-68, 1988.
- 15 PELAYO, J.S., SARIDAKIS, H.O. Sorotipo de *Salmonella* isolados de produtos cárneos em Londrina-PR. **Rev. Microbiol.**, São Paulo, v. 19, p. 17-21, 1988.
- 16 SILVA, S.M., RABINOVITCH, L., ROBBS, P.G. Quantification and behavioral characterization of *Bacillus cereus* in formulated infant foods. I- Generation time. **Rev. Microbiol.**, São Paulo, v. 24, p. 125-31, 1993.
- 17 SIQUEIRA, R.S. **Manual de microbiologia de alimentos**. Rio de Janeiro : EMBRAPA, CTAA, 1995. 159 p.
- 18 TATINI, S.R., HOOVER, D.G., LACHICA, R.V. Methods for the isolation and enumeration of *Staphylococcus aureus*. In: SPEACK, M.L. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. Washington D.C. : APHA, 1984. p. 411-31