

Avaliação da qualidade microbiológica em frango de corte criado sob estresse térmico

VIVIAN O. GUSHIKEN¹; LUCIANA MIYAGUSKU²; ALINE B. SANTOS³;
IVONETE D. DO N. SANTOS⁴

Nº 11203

RESUMO

A importância do estudo que relaciona o comportamento da microbiota intestinal patogênica em frangos de corte sob estresse térmico, tem aumentado em decorrência das alterações climáticas que estamos presenciando. A partir da identificação do foco de contaminação de um lote de pintainhos e acompanhamento do desenvolvimento do frango de corte e do processo de abate, melhores métodos de criação das aves, dentre outros fatores que influenciam direta ou indiretamente a qualidade do produto final foram investigados. Foram conduzidas avaliações para investigar essa relação, contribuindo para estudos futuros de melhoria da qualidade de carne oferecida à população. Visto que a *Salmonella spp* é uma das bactérias mais prejudiciais ao homem e de grande incidência nos criadouros de frangos de corte e abatedouros. Realizamos testes microbiológicos a partir de dois tipos de métodos para garantir a agilidade e veracidade dos resultados – o método PCR em tempo real e complementado pelo método ISO 6579 (2007) em diferentes tipos de amostras. Os resultados mostraram que houve contaminação cruzada durante o processo de criação até o abate, mas ainda não comprovaram a correlação entre a temperatura e o desenvolvimento de *Salmonella spp* nas aves.

ABSTRACT

Given the importance of study that relates the behavior of pathogenic intestinal flora in broilers under heat stress, heat waves which we are currently witnessing, this project sought to perform analysis to find this relationship, contributing to future

¹ Bolsista CNPq: Graduação em Eng. de Alimentos, UNICAMP, Campinas – SP.

² Orientadora: Pesquisadora, CTC/ITAL, Campinas – SP.

³ Colaborador: Mestrado em Zootecnia, UNESP, Jaboticabal – SP.

⁴ Colaborador: Técnica de Laboratório, CTC-ITAL, Campinas – SP

studies of process improvement slaughter, from the identification of the contaminated area of a lot of chicks, the best methods of creating the poultry, among other factors that directly or indirectly influence the quality of the product. Since *Salmonella spp* is a bacteria more harmful to the man and of great impact on the breeding of broilers and slaughterhouses, we conducted microbiological tests from two types of methods to ensure speed and accuracy of the results – in parallel PCR the method ISO 6579 (2007) – in which chicks were subjected to different thermal oscillations. The results showed that cross-contamination during the process of creation to the slaughter, but not yet proved the correlation between temperature and development of *Salmonella* in poultry.

INTRODUÇÃO

O Brasil é um país que possui grande variação climática e oscilações de temperatura provocadas por ondas de calor, aspecto este que afeta diretamente a produção animal, principalmente no setor avícola. Por isso, o estudo do comportamento das aves em condições de estresse térmico é de suma importância, por simular as condições reais de campo em diferentes regiões do país, associando estas às fases de criação das aves e seus possíveis efeitos sobre as características fisiológicas, produtivas e qualitativas (condições físicas e microbiológicas).

Vários são os estudos que mostram a influência do estresse térmico, principalmente sobre os índices zootécnicos e fisiológicos e sobre qualidade da carne, mas não são encontrados dados na literatura que relacionam o efeito do estresse térmico sobre o desenvolvimento de microrganismos no intestino das aves e consequentemente, na carne.

As infecções provocadas pelas bactérias do gênero *Salmonella spp* são universalmente consideradas as causas mais importantes de doenças de origem alimentar em várias partes do mundo (WHO, 2005) e também no Brasil. A maior parte dessas bactérias é patogênica para o homem, apesar das diferenças quanto às características e gravidade da doença que provocam (GERMANO e GERMANO, 2008). De acordo com a *Food and Drug Administration* (2005) há uma estimativa de dois a quatro milhões de casos no mundo, por ano. Além de ser patogênica, segundo MACIOROWSKI (2004), a *Salmonella spp* adapta-se facilmente a diferentes ambientes e pela ampla possibilidade de transmissão para qualquer animal.

O objetivo do trabalho foi avaliar a influência do estresse térmico agudo sobre a incidência de *Salmonella spp* dentro da cadeia produtiva de frango de corte.

MATERIAIS E MÉTODOS

1. Tratamento da temperatura nas aves

Os experimentos foram conduzidos no galpão e nas câmaras experimentais do setor de Avicultura do Departamento de Zootecnia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP, Campus de Jaboticabal - SP.

Foram utilizados 500 pintainhos machos de um dia de idade da linhagem Cobb®, criados durante um período de 42 dias de três fases: inicial (1-21 dias), crescimento (22-35 dias) e acabamento (36-42 dias). Para a parte controle do experimento foram utilizadas 100 aves, criadas em uma câmara climática termoneutra (controle), dividida em 4 boxes com 25 animais cada. As outras 400 aves restantes fizeram parte do grupo foram submetidas ao estresse térmico agudo (tratamento) de 24h, 48h e 72h para cada período citado, sendo alojadas em um galpão climatizado com temperatura ajustada para 32°C e dividido em 16 boxes, que alojaram 25 animais cada um.

Os animais foram vacinados a Doença de Gumboro (cepa intermediária Lukert, com 7 e 19 dias respectivamente) e New Castle (cepa Ulster, com 12 e 24 dias respectivamente). E foram servidos de água e ração à vontade durante todo o período experimental, sendo que nos primeiros dias.

As aves foram abatidas ao final de cada período citado, em um abatedouro frigorífico, inspecionado e regulamentado pelo Serviço de Inspeção Federal (SIF).

2. Avaliação microbiológica

As análises laboratoriais foram realizadas no Laboratório de Microbiologia do Centro de Tecnologia de Carnes (CTC) do Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL), para a análise por Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), para a realização dos cultivos bacterianos e para a confirmação sorológica e bioquímica.

Foram coletadas 64 amostras de cama de aviário através da técnica de arraste de propé, próximo aos comedouros e posterior técnica de enxaguadura, e 64 amostras de suabe cloacal segundo Cary e Blair (BRASIL, 1995). Após o abate, foram coletadas 24 amostras de fezes através da técnica de enxaguadura do intestino, e 72 amostras de pele de pescoço, dentre elas após a depenagem, após a eviceração e após o chiller. Todas as amostras foram coletadas em condições estéreis, de forma a impedir contaminações externas, e conduzidas às análises de contagem de Enterobacteriaceas totais e pesquisa de *Salmonella spp.*

A contagem de Enterobacteriaceas totais foi realizada segundo DOWNES & ITO (2001) e a pesquisa de *Salmonella spp* foi conduzida empregando-se o método PCR (BIOCONTROL, 2010), em paralelo ao método convencional ISO 6579 (2007).

As amostras foram preparadas e pré-enriquecidas para a análise em PCR tempo real, equipamento modelo Assurance GDS Rotor-Gene®, segundo as especificações da BIOCONTROL/USA. As amostras que apresentaram resultados positivos para *Salmonella spp* pelo método de PCR foram conduzidas para as análises para a confirmação da presença de células viáveis do patógeno, seguindo o método sugerido pela “International Organization for Standardization” (ISO 6579, 2007), foi empregado também a série bioquímica do kit comercial Api 20E.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A contagem de Enterobacteriaceas totais foi importante por ser um grupo de microrganismo indicador e freqüentemente presente no trato gastrointestinal das aves. Os resultados da contagem em amostras de suabe cloacal, cama de aviário, intestino e pele de pescoço estão expressas nas Figuras 1 a 6.

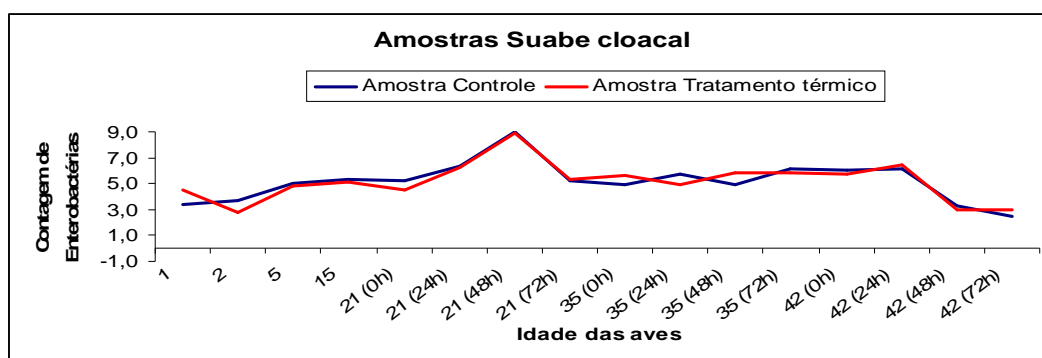


Figura 1. Análise das amostras de suabe cloacal

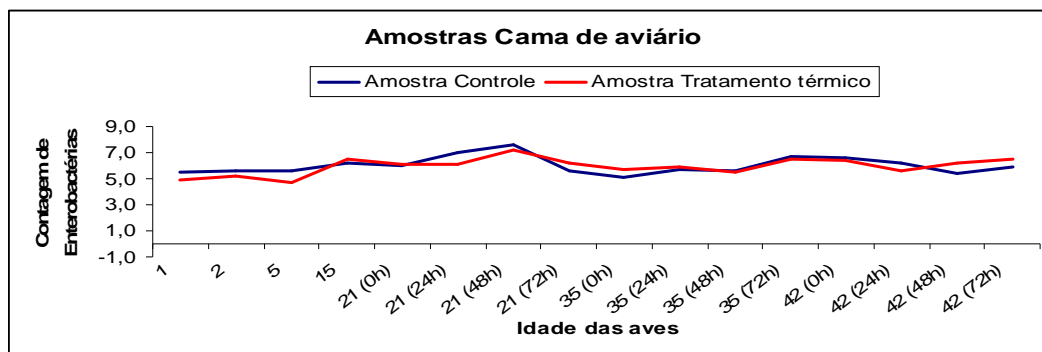


Figura 2. Análise das amostras de cama de aviário

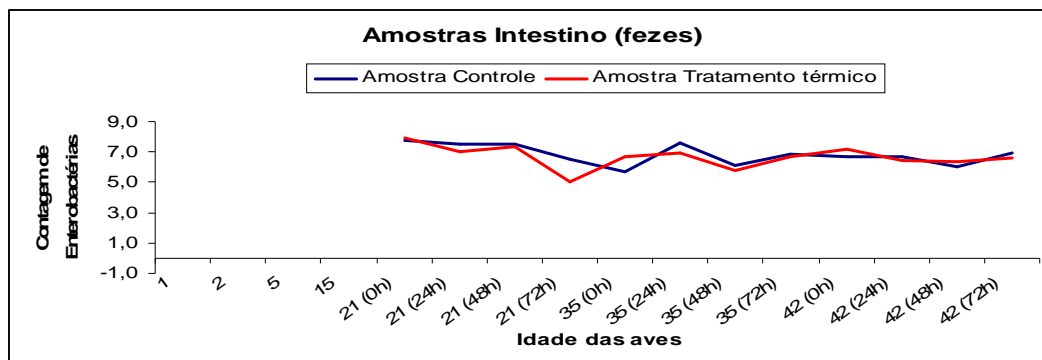


Figura 3. Análise das amostras de intestino (fezes)

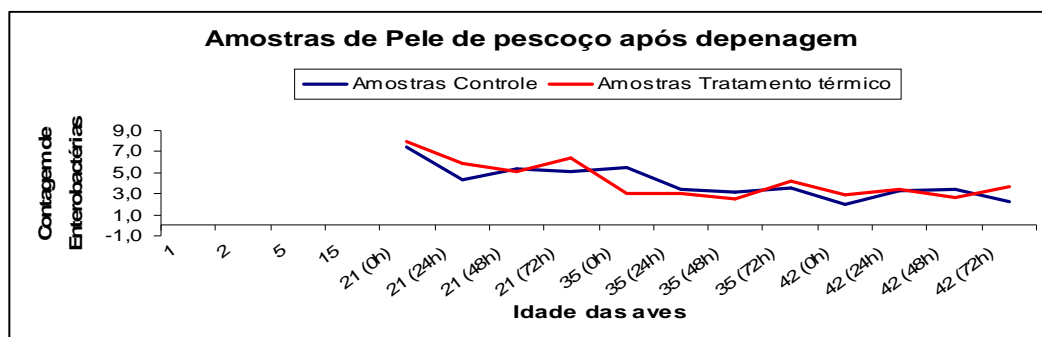


Figura 4. Análise das amostras de pele de pescoço após a depenagem

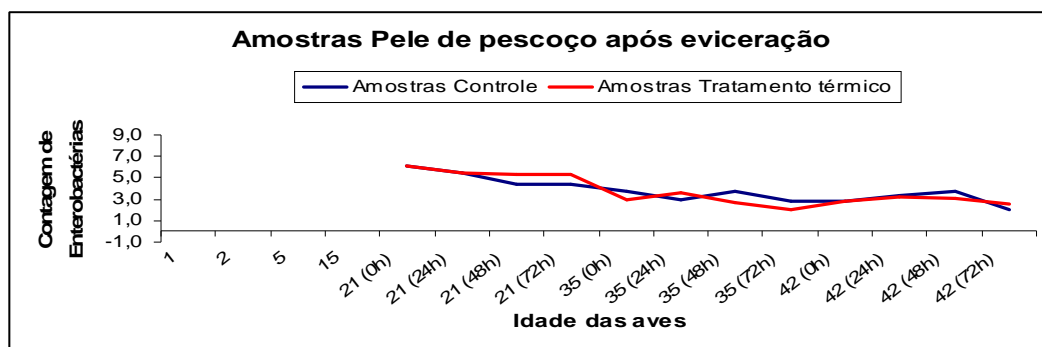


Figura 5. Análise das amostras de pele de pescoço após evisceração

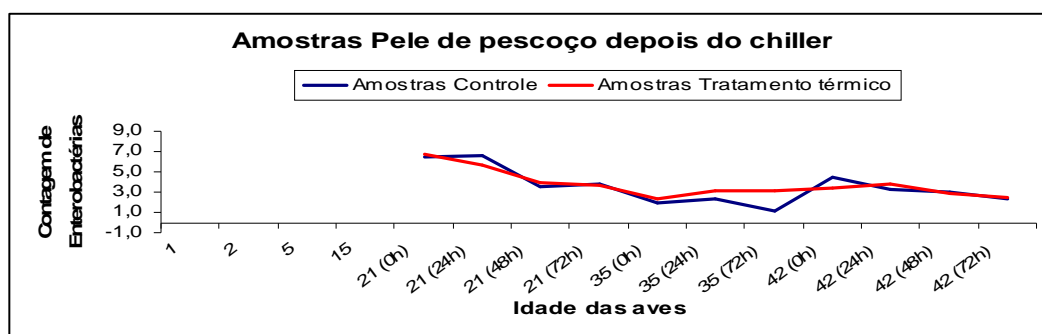


Figura 6. Análise das amostras de pele de pescoço depois do chiller

Os resultados das análises de amostras de suabe cloacal e de cama de aviário nos primeiros 21 dias de vida dos animais foram utilizados para o acompanhamento das condições microbiológicas que antecedem o estresse térmico das aves. Como pintainhos com menos de 21 dias de vida possuem temperatura ideal, para crescimento e desenvolvimento de microrganismos, as amostras de intestino e pele de pescoço foram coletadas apenas após esse período, quando se encontravam mais sensíveis às ondas de calor.

Nota-se que não houve diferença significativa na incidência de Enterobacteriaceas totais entre as amostras controle e tratamento apresentadas nas Figuras 1 a 6. Observa-se também que em todas as amostras, há um aumento significativo do Log UFC/g de Enterobacteriaceas totais no período de 21 dias, porém não podemos afirmar a correlação com o estresse térmico agudo, visto que tanto as amostras controle quanto as amostras de tratamento apresentaram o mesmo perfil.

O fato do patógeno se alojar, em sua maioria, no trato intestinal do homem e dos animais é confirmado quando observamos o perfil de crescimento microbiano apresentado na Figura 3. Nota-se que as amostras de intestino apresentaram maior incidência de Enterobacteriaceas totais em relação às demais amostras.

Com o objetivo de reduzir o tempo de análise e confirmar os resultados, optamos por utilizar duas metodologias para identificar a presença de colônias de *Salmonella* spp, o método PCR, combinado com o teste convencional ISO 6579 (2007).

A Figura 5 mostra o gráfico gerado pelo aparelho GDS®, no qual cada amostra é representada por uma linha colorida. As amostras abaixo da linha horizontal vermelha (*Threshold*) são negativas e as que estão acima da linha são positivas para o teste de PCR para *Salmonella* spp.

No.	Colour	Name	Result	Assay	Kit Lot Number	Description
6		2806	Negative	Salmonella	052810-11	
7		2807	Negative	Salmonella	052810-11	
8		2808	Negative	Salmonella	052810-11	
9		2809	Negative	Salmonella	052810-11	
10		2810	Positive	Salmonella	052810-11	
11		2811	Negative	Salmonella	052810-11	
12		2812	Negative	Salmonella	052810-11	
13		2813	No Amp	Salmonella	052810-11	
14		2814	Negative	Salmonella	052810-11	
15		2815	Negative	Salmonella	052810-11	
16		2816	Negative	Salmonella	052810-11	
17		2817	Negative	Salmonella	052810-11	

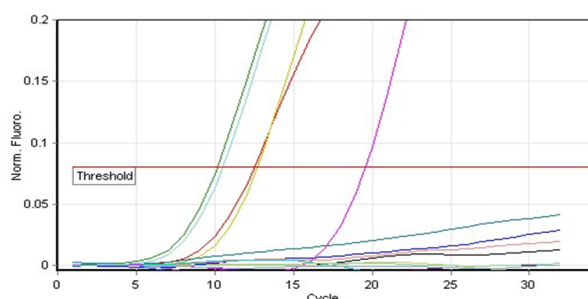


Figura 5. Gráfico de PCR gerado pelo GDS®

A confirmação da presença de células viáveis de *Salmonella* spp foi obtida para todas as amostras positivas no método PCR (Tabela 1).

Tabela 1. Tabela de resultados positivos para *Salmonella spp*

Amostra		Controle	Tratamento
Suabe cloacal		0%	0%
Cama de aviário		56,25%	34,37%
Intestino		16,70%	33,30%
Pele de pescoço	Após depenagem	8,33%	0%
	Após evisceração	16,67%	0%
	Após <i>chiller</i> (resfriamento)	0%	8,33%

Segundo Silva & Duarte (2002), a *Salmonella spp* está amplamente difundida na natureza e a importância da sua disseminação vem sendo muito estudada, principalmente na produção avícola. Essa disseminação na natureza pode ser uma das explicações para a ausência de *Salmonella spp* no ambiente e nos animais antes da introdução dos mesmos nos galpões e o posterior surgimento do microorganismo no ambiente.

Diferentemente dos resultados das amostras de cama de aviário, as amostras de intestino tiveram maior incidência de *Salmonella spp* após o tratamento térmico. Podemos explicar esse fato supondo que o aumento da temperatura no tratamento tenha provocado estresse e diminuição da imunidade das aves, propiciado uma maior colonização de *Salmonella spp* no intestino desses animais.

Em análises realizadas em amostras de pele de pescoço observamos que há um aumento da contaminação pela *Salmonella spp* nas amostras controle, após a evisceração. Isso pode ser explicado pela manipulação das carcaças, aumentando a probabilidade do contato entre o patógeno e a carne do frango.

No último período analisado (42 dias), podemos observar que a diminuição da incidência de *Salmonella spp* pode estar relacionada à diminuição populacional das aves no galpão, pela retirada de amostras para as análises microbiológicas.

Segundo KAMPELMACHER (1987) as três maiores fontes de contaminação de aves de interesse comercial são a introdução de lote, ambiente e ração contaminados. Visto que não havia contaminação no lote introduzido nos galpões e no mesmo antes da introdução dos pintainhos, a qualidade microbiológica da ração fornecida aos animais poderia também ter sido um fator que contribuiu para o surgimento da *Salmonella spp*, além dos galpões.

CONCLUSÃO

A metodologia de PCR reduziu o tempo de análise, sendo eficiente para liberação de lotes de amostras negativas para pesquisa de *Salmonella spp.*

No caso de amostras positivas para *Salmonella spp* no método PCR, há necessidade de confirmação da presença de microrganismos viáveis com a complementação com ensaios bioquímicos tradicionais uma vez que a técnica de PCR detecta a presença do patógeno por meio de fragmentos de DNA.

Após estudos, conclui-se que ainda não podemos identificar a correlação entre as ondas de calor (estresse térmico agudo) e a contaminação de *Salmonella spp* em frangos de corte.

A identificação detalhada das etapas onde ocorre a contaminação das carcaças ao longo do abate é um estudo importante a ser feito, para que soluções de melhoria da qualidade do produto sejam propostas.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPQ – PIBIC, pela bolsa concedida e ao CTC – ITAL, pela oportunidade de estágio.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BIOCONTROL. Assurenace GDS Genetic Detection System. USA. 2010
- DOWNES, F.P., K. ITO. Compendium of methods for the microbiological examination of foods, 4th ed. Washington, D.C.: American Public Health Association, 2001.
- FDA/CFSAN. FoodBorne Pathogenic Microorganisms And Natural Toxins Handbook "Bad Bug Book". Food and Drug Administration, Center for Food Safety & Applied Nutrition, December 2, 2005.
- GERMANO, P.M.L.; GERMANO, M.I.S. Higiene e Vigilância Sanitária de Alimentos: qualidade das matérias-primas, doenças transmitidas por alimentos, treinamentos de recursos humanos. 3ªed. Barueri, SP: Manole, 2008.
- KAMPELMACHER, E.H. Poultry disease and public healt. Brazilian Poultry Science, v.28, p.3-13, 1987.
- MACIOROWSKI, K. G. Incidence, sources, and control of food-borne *Salmonella spp.* In poultry feeds. World's Poultry Science Journal, v. 60, n. 4, p. 446-457, 2004.
- SILVA, E.N.; DUARTE, A. *Salmonella* Enteritidis em aves: Retrospectiva no Brasil. Revista Brasileira de Ciências Avícola, v.4, n.2, p.85-100, 2002.
- WHO (WORLD HEALTH ORGANIZATION), 2005. Drug-resistant *Salmonella*. Fact Sheet Nº 139, Revised April 2005.