



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA – UNB
FACULDADE DE CEILÂNDIA – FCE
CURSO DE FARMÁCIA

LETÍCIA DA ROCHA ABDON

**ESTUDO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE CORTES DE CARNES DE
FRANGO RESFRIADOS COMERCIALIZADOS NO DISTRITO FEDERAL**

BRASÍLIA, 2023

LETÍCIA DA ROCHA ABDON

**ESTUDO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE CORTES DE CARNES DE
FRANGO RESFRIADOS COMERCIALIZADOS NO DISTRITO FEDERAL**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
como requisito para obtenção do grau de Bacharel
em Farmácia, na Universidade de Brasília,
Faculdade de Ceilândia.

Orientadora: Profa. Dra. Daniela Castilho Orsi

BRASÍLIA, 2023

Ficha catalográfica elaborada automaticamente,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Ae Abdon, Leticia
 Estudo da qualidade microbiológica de cortes de carnes de
frango resfriados comercializados no Distrito Federal /
Leticia Abdon; orientador Daniela Orsi. -- Brasília, 2023.
 28 p.

 Monografia (Graduação - Farmácia) -- Universidade de
Brasília, 2023.

 1. Qualidade microbiológica. 2. Carne de frango. 3.
Staphylococcus aureus. 4. Escherichia coli. 5. Resistência
antimicrobiana. I. Orsi, Daniela, orient. II. Título.

LETÍCIA DA ROCHA ABDON

**ESTUDO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE CORTES DE CARNES DE
FRANGO RESFRIADOS COMERCIALIZADOS NO DISTRITO FEDERAL**

BANCA EXAMINADORA

Orientadora: Profa. Dra. Daniela Castilho Orsi
(FCE/ Universidade de Brasília)

Farmacêutica Especialista Karolina Oliveira Gomes
(FCE/ Universidade de Brasília)

Farmacêutica Marta Oliveira de Araujo
(FCE/ Universidade de Brasília)

BRASÍLIA, 2023

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pois foi quem me deu força para trilhar essa caminhada na UnB.

A minha mãe, a pessoa que mais amo e que é tudo em minha vida. Acompanhou de perto todos os momentos difíceis que enfrentei na graduação, sempre me incentivando e acreditando no meu potencial.

Sou muito grata a Profa. Dr^a. Daniela Castilho Orsi por aceitar me orientar e nunca me deixar desassistida, sempre paciente e solícita. A senhora é um exemplo de profissional que tem amor pelo que faz!

As minhas colegas de bancada Júlia Araújo e Maria Eduarda, que me auxiliaram muito e fizeram o período que fiquei no laboratório mais leve.

As minhas amigas Ester e Giovana, que apareceram na minha vida como um presente e me ajudaram muito nessa reta final de graduação.

A todos que fazem parte da minha trajetória, meu muito obrigada!

RESUMO

Atualmente a carne de frango é uma das proteínas mais consumidas no mundo devido ao preço acessível e qualidade nutricional, o que traz grandes desafios à indústria avícola para manter a qualidade do produto. É um alimento perecível e propenso à contaminação microbiana e as medidas de segurança devem ser aplicadas em toda a cadeia produtiva. O presente trabalho de pesquisa teve como objetivo avaliar a qualidade microbiológica de cortes de carne de frango resfriados comercializados no Distrito Federal. Foram colhidas 10 amostras, para realizar as análises bacteriológicas de contagem total dos microrganismos mesófilos e psicotróficos, determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais, pesquisa de *Escherichia coli* e contagem de *Staphylococcus aureus*. As cepas de *E. coli* isoladas das amostras foram submetidas a testes de suscetibilidade antimicrobiana através do método de disco-difusão (Kirby-Bauer). No presente estudo, para contagem de mesófilos 2 amostras (20%) apresentaram qualidade inaceitável e estavam impróprias para consumo segundo a legislação brasileira. Para psicotróficos, 2 amostras (20%) apresentaram contagem acima do limite recomendado. Na contagem de coliformes totais, 2 amostras (20%) apresentaram elevada contagem ($>1,0 \times 10^3$ NMP/g). Para contagem de *S. aureus*, 8 amostras (80%) apresentaram contaminação com contagens entre $5,00 \times 10^2$ e $5,30 \times 10^3$ UFC/g. Por fim, das 12 cepas de *E. coli* analisadas, 9 cepas (75%) apresentaram resistência a pelo menos uma classe de antimicrobianos e 7 cepas (58,3%) foram resistentes a 3 ou mais classes de antimicrobianos. Diante do exposto, percebemos a possibilidade de risco sanitário principalmente pela elevada contaminação das carnes de frango por *S. aureus*, o que nos alerta sobre a necessidade de fiscalização nos estabelecimentos e revisão dos protocolos utilizados para manipulação da carne frango destinada a consumo no Distrito Federal. Além disso, é importante o desenvolvimento de políticas tanto para restrição do uso de antimicrobianos na criação animal, como para o uso racional de antimicrobianos no intuito de reduzir os índices de resistência aos antimicrobianos em bactérias.

Palavras-chave: qualidade microbiológica, carne de frango, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, resistência antimicrobiana.

ABSTRACT

Currently, chicken meat is one of the most consumed proteins in the world due to its affordable price and nutritional quality, which brings many challenges to the poultry industry to maintain product quality. It is a perishable food and prone to microbial contamination and safety measures must be applied throughout the production chain. This research work aimed to evaluate the microbiological quality of chilled chicken meat cuts sold in the Federal District. Ten samples were collected to carry out bacteriological analysis of total count of mesophilic and psychrotrophic microorganisms, determination of the Most Probable Number (MPN) of total coliforms, search for *Escherichia coli* and count of *Staphylococcus aureus*. The *E. coli* strains isolated from the samples were submitted to antimicrobial susceptibility tests using the disk-diffusion method (Kirby-Bauer). In the present study, for counting mesophiles, 2 samples (20%) had unacceptable quality and were unfit for consumption according to Brazilian legislation. For psychotrophs, 2 samples (20%) had counts above the recommended limit. In the count of total coliforms, 2 samples (20%) showed high counts ($>1.0 \times 10^3$ MPN/g). For *S. aureus* counting, 8 samples (80%) showed contamination with counts between 5.00×10^2 and 5.30×10^3 CFU/g. Finally, of the 12 strains of *E. coli* analyzed, 9 strains (75%) were resistant to at least one class of antimicrobials and 7 strains (58.3%) were resistant to 3 or more classes of antimicrobials. In view of the above, we perceive the possibility of a health risk mainly due to the high contamination of chicken meat by *S. aureus*, which alerts us to the need for inspection in establishments and review of the protocols used for handling chicken meat intended for consumption in the Federal District. In addition, it is important to develop policies both for restricting the use of antimicrobials in animal husbandry, and for the rational use of antimicrobials in order to reduce the rates of antimicrobial resistance in bacteria.

Keywords: microbiological quality, chicken meat, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, antimicrobial resistance.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos das bactérias <i>E.coli</i> isoladas das amostras de carnes de frango.....	23
---	-----------

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Resultados das análises microbiológicas das amostras de carnes de frango resfriadas comercializadas no Distrito Federal.....	21
--	-----------

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

µg	Micrograma;
ABPA	Associação Brasileira de Proteína Animal;
AMC	Amoxicilina com ácido clavulânico;
CAZ	Ceftazidima;
CIP	Ciprofloxacina;
CLO	Cloranfenicol;
CTX	Cefotaxima;
DTA	Doenças Transmitidas por alimentos;
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i> ;
ESBL	β- lactamases de espectro estendido;
GEN	Gentamicina;
ICMSF	International Commission on Microbiological Specifications for Foods;
IMP	Imipenem;
MRSA	<i>S. aureus</i> resistente à meticilina;
NMP/g	Número Mais Provável por grama;
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> ;
SUL	Sulfonamida;
TET	Tetraciclina.
UFC/g	Unidade Formadora de Colônia por grama;

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO DA LITERATURA	13
2.1 Qualidade e contaminação microbiológica da carne de frango	13
2.2 <i>Staphylococcus aureus</i> na carne de frango.....	14
2.3 <i>Escheria coli</i> na carne de frango.....	15
2.4 Resistência a drogas antimicrobianas	16
3 OBJETIVOS.....	18
3.1 Objetivo geral.....	18
3.2 Objetivos específicos.....	18
4 JUSTIFICATIVA.....	18
5 MATERIAIS E MÉTODOS.....	19
5.1 Coleta das amostras.....	19
5.2 Análises microbiológicas	19
5.3 Perfil de susceptibilidade a antimicrobianos	20
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	21
7 CONCLUSÃO.....	24
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	25
ANEXO.....	28

1 INTRODUÇÃO

A carne de frango é a fonte de proteína animal que mais cresceu em consumo no Brasil nas últimas décadas, e uma das principais causas disso é o preço mais acessível se comparado por exemplo à carne bovina (ABPA, 2021). Atualmente o Brasil é o segundo maior produtor de carne de frango do mundo, sendo esse setor responsável por aproximadamente 1,5% do PIB nacional (ABPA, 2021). Para 2023 é esperado uma produção de até 14.750 milhões de toneladas (2% a mais se comparado à 2022) (ABPA, 2022).

Estudos indicam a carne de frango como um possível veiculador de microrganismos patogênicos capazes de causar doenças transmitidas por alimentos (DTA), tornando-se uma preocupação de saúde pública em todo o mundo (KLAHARN *et al.*, 2022). Na região das Américas aproximadamente 77 milhões de pessoas sofrem com DTA por ano, e mais de 9.000 vêm a óbito em decorrência dessas doenças (Organização Pan-Americana da Saúde, 2022). Devido a isso, a avaliação da qualidade microbiológica dos alimentos é importante, pois determina se a produção está dentro dos padrões microbiológicos nacionais e internacionais (MENEZES *et al.*, 2018). A avaliação da qualidade microbiológica analisa o grau de contaminação do alimento por microrganismos deteriorantes e patogênicos e determina se esse alimento está próprio para o consumo (CINTRA, 2016).

As bactérias mesófilas em grande quantidade nos alimentos indicam matéria-prima contaminada devido a limpeza e desinfecção de superfícies inadequadas, higiene insuficiente na produção e condições inapropriadas de tempo e temperatura durante a produção e/ou conservação dos alimentos (SILVEIRA *et al.*, 2019).

Um dos microrganismos mais encontrados em aves é *Escherichia coli*, que faz parte do grupo dos coliformes termotolerantes e são bactérias presentes no intestino e nas fezes desses animais. A maioria dos sorotipos de *E. coli* não são patogênicos, porém, existem cepas que ao adquirir fatores de virulência se tornam patogênicas (LÓDEA, 2017). *E. coli* possui predisposição para transferência de genes de virulência e de resistência devido à quantidade de suas cepas, e a capacidade de sobrevivência dentro e fora do trato gastrointestinal dos homens e dos animais. A aquisição de novos genes pode resultar em um aumento na virulência das cepas de *E. coli*, o que torna os animais portadores dessas bactérias um problema e preocupação de saúde pública (MOHAMED *et al.*, 2014).

Outro organismo que também pode ser encontrado na carne de frango é *Staphylococcus aureus* e nesse caso, sua presença excessiva indica falha nas Boas Práticas de Fabricação e falta de higiene do manipulador. Essa bactéria é encontrada nas fossas nasais e na pele de pessoas portadoras assintomáticas, e cerca de 25% das pessoas e animais no mundo portam essa bactéria. A legislação brasileira não prevê a contagem de *S. aureus* em carnes de frango, todavia, considerando que a intoxicação estafilocócica é resultante da ingestão de alimentos contaminados por enterotoxinas estafilocócicas termoestáveis pré-formadas, produzidas por linhagens enterotoxigênicas, altas contagens desses microrganismos alertam para um risco sanitário (MENEZES *et al.*, 2018; MONTEZANI *et al.*, 2017).

Além desses, temos mais microrganismos com potencial patogênico que frequentemente são encontrados em carnes de aves contaminadas, são eles: *Salmonella*, *Campylobacter*, *Listeria* e, em algumas ocasiões, *Yersinia enterocolitica* e *Clostridium perfringens* (BHAISSARE *et al.*, 2014).

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Qualidade e contaminação microbiológica da carne de frango

Atualmente a carne de frango é uma das proteínas mais consumidas no mundo, podendo ser veiculadora de microrganismos (com e sem potencial patogênico) e, portanto, a indústria avícola enfrenta grandes desafios para manter a qualidade do produto. Devido a propensão da carne de frango sofrer contaminação microbiana, as preocupações relacionadas à qualidade devem ser aplicadas em toda a cadeia produtiva (KATARIA e MOREY, 2020; ROUGER *et al.*, 2017; SILVA *et al.*, 2017).

Após o abate dos animais, as carcaças de frango podem ser contaminadas pela microbiota do animal e pelo ambiente do matadouro (superfícies de equipamentos, água). A contaminação cruzada pode ocorrer por contato direto (mistura dos cortes de frango) ou por contato com áreas

contaminadas. Nas carcaças de frango as bactérias estão presentes na superfície da carne, porém, em cortes processados as bactérias podem migrar para o interior dos músculos, o que acelera o processo de deterioração da carne (ROUGER *et al.*, 2017).

A contagem de bactérias totais viáveis (mesófilas e psicotróficas) na carne de frango representa várias espécies bacterianas, que no armazenamento têm a carga bacteriana aumentada. Na maioria dos estudos, essas bactérias têm sido consideradas as responsáveis pela deterioração das carnes que ocorre como consequência do crescimento e das atividades metabólicas das mesmas, e geralmente o critério de aceitabilidade microbiológica de contagem de bactérias totais nas carnes é de no máximo $1,0 \times 10^7$ UFC/g (CHAILLOU *et al.*, 2015; HÖLL *et al.*, 2016). A legislação brasileira determina na carne de frango a contagem máxima de bactérias mesófilas de $1,0 \times 10^6$ UFC/g (BRASIL, 2022).

Outro fator importante a ser considerado na qualidade da carne de frango é a refrigeração. Esse processo retarda o desenvolvimento das bactérias, aumentando a vida útil do produto e impedindo a quebra na cadeia de frio. A vida útil pode ser dobrada quando a temperatura é reduzida para 4°C em comparação com o armazenamento a 10°C. O crescimento de *B. thermosphacta* e *S. putrefaciens* (bactérias comumente relacionadas à deterioração da carne de frango), por exemplo, é retardado a 4°C. As baixas temperaturas diminuem o crescimento de bactérias da família *Enterobacteriaceae*, que podem produzir compostos sulfúricos que levam a deterioração organoléptica da carne. Apesar disso, a vida de prateleira não pode ser prolongada demais pela refrigeração, pois bactérias psicotróficas e agentes patogênicos como *Listeria* podem se multiplicar nessas temperaturas (SMOLANDER *et al.*, 2014).

2.2 *Staphylococcus aureus* na carne de frango

Staphylococcus aureus é uma bactéria cocos Gram-positiva anaeróbia facultativa que pode facilmente contaminar alimentos e o meio ambiente. É um patógeno importante devido à virulência mediada por toxinas, a capacidade de invasão celular e a resistência a antibióticos. Pode crescer em uma ampla faixa

de temperatura (7 a 48,5°C), pH (4,2 a 9,3) e em meios com concentração de cloreto de sódio de até 15%. As condições ótimas de crescimento de *S. aureus* estão entre 30 e 37°C e pH entre 7,0 e 7,5. Além disso, é um organismo tolerante a ambientes e situações estressantes, podendo ser encontrado em superfícies inanimadas. Por possuir essas características, a contaminação e o crescimento dessa bactéria em muitos produtos alimentícios se tornam possível (KADARIYA; SMITH; THAPALIYA 2014).

S. aureus é uma das principais causas de surtos de intoxicação alimentar em todo o mundo. Os principais sintomas são náuseas, vômitos e cólicas abdominais, com ou sem diarreia. O início desse quadro clínico é rápido (30 min a 8 h), e a remissão espontânea é frequentemente observada após 24 h. Por fazer parte da flora normal da pele e mucosas de humanos e animais de sangue quente, *S. aureus* tem sido frequentemente isolado de vários produtos alimentícios (WANG *et al.*, 2013; SALLAM *et al.*, 2015).

Além da intoxicação alimentar nos humanos, essa bactéria pode causar pneumonia, infecções cutâneas, infecções septicêmicas e a síndrome do choque tóxico. Já em animais, causa doenças como mastite, doença supurativa, artrite e infecções do trato urinário (MADAHI *et al.*, 2014).

A presença do *S. aureus* e suas enterotoxinas nos alimentos é indicativa de falta de higiene durante a produção. A contaminação do frango a varejo ocorre, provavelmente, por meio de manipuladores dos alimentos e portadores assintomáticos durante o abate e processamento de aves (SALLAM *et al.*, 2015).

Sendo assim, a contagem de *S. aureus* em aves e seus produtos é realizada para avaliar a segurança microbiológica e a qualidade de armazenamento (MADAHI *et al.*, 2014).

2.3 *Escherichia coli* na carne de frango

Escherichia coli é um membro da família Enterobacteriaceae, e habitante comensal do intestino de aves, sendo constantemente encontrado nas carnes de aves de varejo. Apesar de a maioria das cepas de *E. coli* não serem patogênicas, e existirem como parte da microbiota intestinal normal, algumas cepas podem ser oportunistas e tem alta capacidade de causar

infecções intestinais e extraintestinais (DAVIS *et al.*, 2018; PARVIN *et al.*, 2020).

Esse microrganismo é conhecido como um dos mais importantes patógenos de origem alimentar em humanos, podendo facilmente ser disseminado em diferentes ecossistemas através da cadeia alimentar. A carne de frango é contaminada por *E. coli* durante o manuseio e preparo inadequado, falta de limpeza e práticas anti-higiênicas na produção e venda do produto (DAVIS *et al.*, 2018; PARVIN *et al.*, 2020).

A infecção por *E. coli* pode ocorrer por contato direto durante a preparação de alimentos, ou através do consumo de carne mal-cozida ou crua, e os sintomas mais comuns são cólicas abdominais, vômitos e diarreia. Em alguns casos, quando a infecção é causada pela *E. coli* produtora da toxina Shiga, o paciente desenvolve a síndrome hemolítico-urêmica que pode gerar um quadro de insuficiência renal. Todavia, a maioria das infecções é autolimitada (DAVIS *et al.*, 2018; PARVIN *et al.*, 2020).

Nas últimas décadas, as tendências de resistência a antibióticos aumentaram em cepas de *E. coli* isoladas de frangos, e notou-se que, mesmo a bactéria comensal da microbiota desses animais é um importante reservatório de genes de resistência antimicrobiana, que podem eventualmente se espalhar para as cepas patogênicas (FERNANDES *et al.*, 2014; PARVIN *et al.*, 2020; TADESSE *et al.*, 2012).

Assim, a segurança microbiológica da carne de frango é um fator importante de preocupação no contexto dos riscos à saúde pública, e deve-se buscar e investigar a presença de *E. coli* com padrão de resistência a multidrogas.

2.4 Resistência a drogas antimicrobianas

Os antibióticos são utilizados na farmacoterapia de humanos e animais infectados por bactérias, na profilaxia de doenças e até mesmo na promoção do crescimento de animais produtores de alimentos. Muitos estudos descrevem que a seleção inadequada e o abuso desses fármacos levam à resistência de bactérias a essas drogas antimicrobianas e dificultam o tratamento de infecções causadas por esses microrganismos (RASHEED *et al.*, 2014).

A transferência da resistência antimicrobiana para os humanos por meio de alimentos foi documentada em 1975 em um estudo onde foi utilizada clortetraciclina como promotor de crescimento em frangos. O resultado desse estudo foi o aumento de *E. coli* resistente à tetraciclina nos frangos e no trato gastrointestinal da família que manejava e consumia estas aves (ROLAIN, 2013).

O principal mecanismo de resistência microbiana está relacionado com a transferência de genes de resistência, que ocorre entre espécies bacterianas e permite a adaptação de bactérias em diferentes condições e ambientes (BEZERRA *et al.*, 2017).

A resistência à meticilina em *S. aureus* é mediada pelo gene *mecA* que codifica a proteína de ligação à penicilina 2a (PBP2a) com baixa afinidade para todos os antimicrobianos beta-lactâmicos. Nos últimos anos, *S. aureus* resistente à meticilina (MRSA) foi identificado em produtos alimentares provenientes de animais em todo o mundo, sendo o frango e seus derivados amplamente conhecidos por serem um importante reservatório desta bactéria, e considerados como veículos potenciais de transmissão para a população humana em geral (WANG *et al.*, 2013; SALLAM *et al.*, 2015).

Já para *E. coli* um dos mecanismos mais comuns de resistência microbiana é a produção de enzimas β -lactamases que hidrolisam antibióticos β -lactâmicos de espectro estendido (ESBLs). As β -lactamases são um grupo heterogêneo de enzimas, codificadas por genes que hidrolisam eficientemente cefalosporinas de terceira e quarta geração e monobactâmicos (por exemplo, aztreonam), mas são inibidos por inibidores de β -lactamase como ácido clavulânico e tazobactam (FERNANDES *et al.*, 2014; PARVIN *et al.*, 2020; TADESSE *et al.*, 2012).

Cepas de *E. coli* que produzem ESBL são de particular preocupação por causa das implicações para humanos e saúde animal em todo o mundo. O surgimento de ESBLs é considerado uma causa importante de super bactérias multirresistentes transferíveis. Além disso, as cepas de *E. coli* produtoras de ESBL muitas vezes exibem co-resistência a múltiplas classes de antimicrobianos, principalmente: fluorquinolonas, sulfonamidas, aminoglicosídeos, cloranfenicol e tetraciclina, o que pode aumentar o risco de

resultados clínicos ruins devido à falta de opções para tratamentos eficazes (FERNANDES *et al.*, 2014; PARVIN *et al.*, 2020; TADESSE *et al.*, 2012).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

O presente trabalho de pesquisa teve como objetivo avaliar a qualidade microbiológica de cortes de carne de frango resfriados, comercializados no Distrito Federal.

3.2 Objetivos específicos

- Realizar as seguintes análises bacteriológicas: contagem total dos microrganismos mesófilos e psicrotróficos, determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais, pesquisa de *Escherichia coli* e contagem de *Staphylococcus aureus*;
- Realizar testes de suscetibilidade antimicrobiana das cepas de *E. coli* isoladas das amostras coletadas através do método de disco-difusão (Kirby-Bauer).

4 JUSTIFICATIVA

No Brasil, nas últimas décadas, o consumo de carne de frango tem aumentado, com isso cresce também a preocupação em relação ao controle de qualidade deste produto, pois alguns microrganismos veiculados pela carne de frango possuem potencial patogênico e chances de causar doenças transmitidas por alimentos.

Nesse contexto, estudos da qualidade microbiológica e da incidência de microrganismos patogênicos, nos alimentos em geral, têm importância para a saúde pública, e permitem determinar se o alimento exposto ao consumo está dentro dos padrões exigidos pelos órgãos de fiscalização.

5 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 Coleta das amostras

Foram colhidas 10 amostras de carne de frango (peito, coxa, sobrecoxa e outros cortes) embaladas em bandejas e expostas ao consumo nos balcões refrigerados, de diferentes estabelecimentos comerciais como supermercados e padarias do Distrito Federal. Todas foram transportadas resfriadas dos locais de estudo para o laboratório no tempo de 30 a 50 minutos, e no prazo máximo de 1 hora após a coleta foram iniciadas as análises microbiológicas. As amostras foram analisadas em duplicata e os resultados expressos como média.

5.2 Análises microbiológicas

Para o preparo das amostras, foram pesadas, assepticamente, 25 g de cada amostra e diluídas em 225 mL de água peptonada 0,1% (p/v). Para a contagem total de bactérias mesófilas e psicotrópicas, as diluições foram semeadas pelo método de superfície, em placas de Petri contendo o meio de cultivo Ágar Padrão. As placas foram incubadas a 37°C por 24 h para bactérias mesófilas e a 7°C ± 1°C por 7 dias para bactérias psicotrópicas. Os resultados obtidos foram expressos em média de UFC/g ou log UFC/g.

Na determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais as amostras foram analisadas conforme a técnica de tubos múltiplos, iniciando-se com o teste presuntivo que consiste na inoculação de cada diluição das amostras em caldo Lauril Sulfato Tryptose. Os tubos foram incubados a 37°C por 24 h. A positividade desse teste caracteriza-se pela turvação do caldo com a produção de gás nos tubos de Durham. Alíquotas dos tubos positivos no teste presuntivo foram inoculadas em tubos de ensaio contendo caldo verde brilhante bile lactose a 2% (para a confirmação de coliformes totais). Os tubos foram incubados em estufa bacteriológica a 37°C por 24 h. Os resultados obtidos foram expressos em NMP/g ou log NMP/g.

Para a contagem de *Staphylococcus aureus*, as diluições das amostras foram semeadas pelo método de superfície, em placas de Petri contendo o

meio de cultivo Ágar Padrão suplementado com cloreto de sódio 6% (p/v). As placas foram incubadas a 37°C por 48 horas. As colônias suspeitas de *S. aureus* foram isoladas em tubos de Ágar Sal Manitol. Para a confirmação de *S. aureus*, as colônias fermentadoras de manitol foram submetidas à coloração de Gram e a prova da coagulase, realizada conforme recomendações do fabricante (Coaguloplasma LABORCLIN®). Os resultados obtidos foram expressos em média de UFC/g ou log UFC/g.

5.3 Perfil de susceptibilidade a antimicrobianos

A susceptibilidade das cepas *Escherichia coli* aos antimicrobianos foi avaliada pela técnica de disco difusão, onde as zonas de inibição foram medidas e classificadas utilizando protocolo recomendado pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2019).

Os antimicrobianos e as concentrações em microgramas testados foram: amoxicilina com ácido clavulânico (AMC 10 µg) (β-lactâmico/penicilina), ceftazidima (CAZ 30 µg) (β-lactâmico/cefalosporina), cefotaxima (CTX 30 µg) (β-lactâmico/cefalosporina), gentamicina (10 µg) (GEN aminoglicosídeo), cloranfenicol (CLO 30 µg) (fenicol), imipenem (IPM 10 µg) (β-lactâmico/carbapenem), tetraciclina (TET 30 µg) (tetraciclina), ciprofloxacina (CIP 5 µg) (quinolona) e sulfonamida (SUL 300 µg) (sulfonamida) (NEWPROV®).

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1 apresenta os resultados das análises microbiológicas das amostras de carnes de frango resfriadas comercializadas no Distrito Federal.

Tabela 1 – Resultados das análises microbiológicas das amostras decarnes de frango resfriadas comercializadas no Distrito Federal.

Amostras	Cortes	Bactérias Mesófilas (UFC/g)	Bactérias Psicotróficas (UFC/g)	Coliformes Totais (NMP/g)	<i>S. aureus</i> (UFC/g)
1	Peito	7,75x10 ⁵	1,23x10⁷	1,10x10³	5,30x10³
2	Coxa e sobrecoxa	2,85x10 ⁴	1,88x10 ⁶	7,80x10 ²	5,00x10 ²
3	Peito	2,35x10⁶	3,53x10⁷	1,10x10³	2,30x10³
4	Coxinha da asa	2,27x10 ⁵	5,30x10 ⁵	2,51x10 ²	8,00x10 ²
5	Coxinha da asa	1,75x10 ⁴	3,57x10 ⁵	3,50x10 ²	6,00x10 ²
6	Coxa e sobrecoxa	2,39x10⁶	5,50x10 ⁵	2,76x10 ²	ND
7	Coxinha da asa	2,30x10 ⁵	7,80x10 ⁶	1,66x10 ²	ND
8	Peito	2,24x10 ⁵	4,00x10 ³	1,31x10 ²	1,70x10³
9	Peito	5,39x10 ⁵	1,40x10 ⁵	1,26x10 ²	6,00x10 ²
10	Coxa	4,07x10 ⁵	2,28x10 ⁶	7,80x10 ²	6,00x10 ²

*Os resultados foram expressos como valores de média de medidas em duplicata.

A legislação brasileira determina que a contagem de bactérias mesófilas de 1,0x10⁵ UFC/g é classificada com qualidade intermediária, e a contagem ≥ 1,0x10⁶ UFC/g como qualidade inaceitável (BRASIL, 2022). Assim, das 10 amostras analisadas no estudo, 2 amostras (20%) apresentaram qualidade aceitável, 6 amostras (60%) qualidade intermediária e 2 amostras (20%) qualidade inaceitável.

Para a contagem de bactérias totais (que inclui bactérias mesófilas e psicotróficas) utilizamos como parâmetro a recomendação do International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF, 1986), para alimentos em geral, que determina uma contagem máxima de 1,0 x 10⁷ UFC/g. Nossos resultados mostraram que das 10 amostras analisadas no estudo, 2 amostras (20%) apresentaram contagem de bactérias psicotróficas acima do limite recomendado. Bactérias psicotróficas são conhecidas como diferentes espécies bacterianas que são capazes de crescer a 7°C ou temperaturas inferiores, independentemente da sua

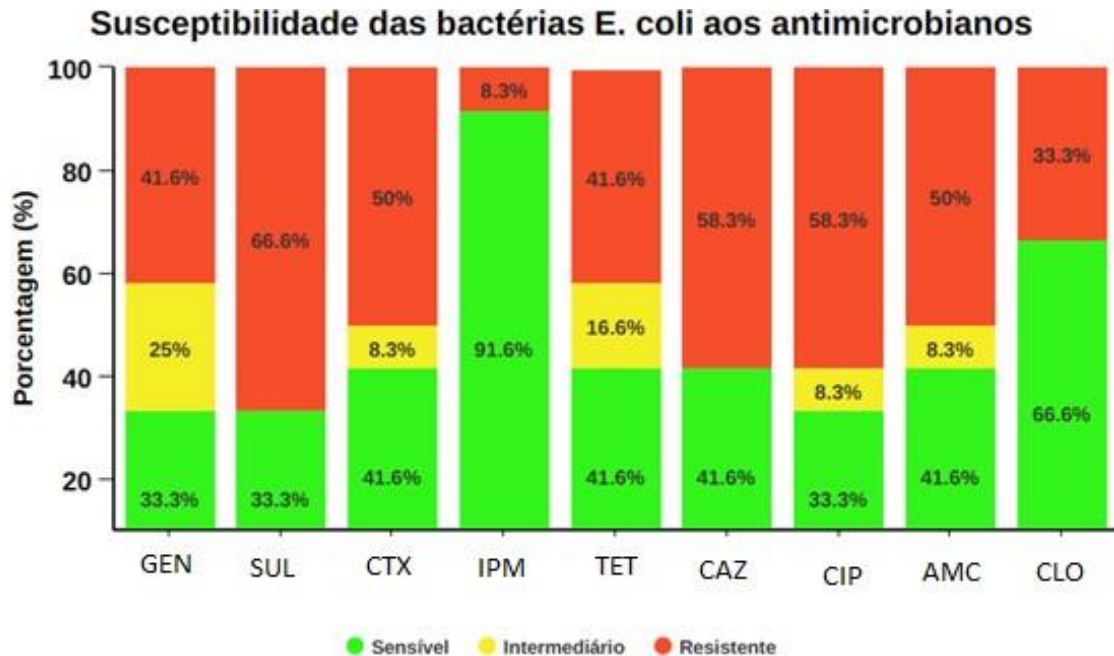
temperatura ótima de crescimento. Eles são o principal grupo de microrganismos responsáveis pela deterioração de alimentos frescos armazenados em temperatura refrigerada (BAZARGANI-GILANI *et al.*, 2015).

Já para a análise microbiológica de coliformes totais na carne de frango, a legislação brasileira (BRASIL, 2022) não estabelece parâmetros, porém, a sua determinação é um indicador útil para avaliação das condições higiênico-sanitárias da carne frango, indicando falhas higiênicas ao longo do processamento e armazenamento do produto (RAEISI *et al.*, 2016). Conforme a Comissão do Codex Alimentarius, considera-se qualidade inaceitável para coliformes totais com valores acima de $1,0 \times 10^3$ NMP/g (ODWAR *et al.*, 2014). Em nosso estudo, das 10 amostras analisadas, 2 amostras (20%) apresentaram elevada enumeração de coliformes totais ($>1,0 \times 10^3$ NMP/g), e as demais amostras (80%) apresentaram enumeração de coliformes totais entre $1,26 \times 10^2$ e $7,80 \times 10^2$ NMP/g.

Quanto à contagem de *S. aureus*, a legislação em vigor (BRASIL, 2022) exige somente para os produtos cárneos semielaborados, sendo o padrão de qualidade intermediário $\geq 1,0 \times 10^2$ UFC/g e qualidade inaceitável $\geq 1,0 \times 10^4$ UFC/g. Nossos resultados indicaram que, das 10 amostras analisadas, 8 amostras (80%) apresentaram contaminação por *S. aureus*, com contagens entre $5,00 \times 10^2$ e $5,30 \times 10^3$ UFC/g. A figura 1 apresenta a coloração de Gram de cepas de *S. aureus* isoladas das amostras de frango.

Neste estudo, foram identificadas 12 cepas de *E. coli* e os perfis de susceptibilidade aos antimicrobianos estão apresentados na Figura 2. As bactérias apresentaram maior resistência aos seguintes antimicrobianos: sulfonamidas (66,6%), ceftazidima e ciprofloxacina (ambas com 58,3%). Quando somados os valores de resistência e perfil intermediário também houve destaque para: gentamicina (66,6%), cefotaxima e amoxicilina com ácido clavulânico (ambas com 58,3%) e tetraciclina (58,2%). Os antimicrobianos aos quais as cepas apresentaram maior sensibilidade foram: imipenem (91,6%) e cloranfenicol (66,6%).

Figura 1 - Perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos das bactérias *E.coli* isoladas das amostras de carnes de frango



Fonte: Autoria própria, 2023.

Outros estudos também reportaram valores elevados de resistência antimicrobiana em cepas de *E. coli* isoladas de carnes de frango. Parvin *et al.* (2020) reportaram maior resistência em cepas de *E. coli* isoladas de carnes de frango congeladas em Bangladesh contra oxitetraciclina (93%), amoxicilina (91,9%), trimetoprima-sulfametoxazol (88,4%) e tetraciclina (84,9%).

Papouskova *et al.* (2020) determinaram os perfis de susceptibilidade aos antimicrobianos de cepas de *E. coli* patogênica aviária (APEC) isoladas de frangos na República Checa e a resistência à ampicilina foi registrada em 78 isolados (82,0%), seguido de resistência a ácido nalidíxico (62 isolados; 65,3%), sulfonamidas (45; 47,4%) e sulfonamidas-trimetoprima (28; 29,5%). Dezenove isolados (20,0%) mostraram suscetibilidade reduzida para ciprofloxacina.

Rahman *et al.* (2020) testaram 381 isolados de *E. coli* quanto à resistência a sete diferentes agentes antimicrobianos pelo método de difusão em disco. A resistência à ampicilina, eritromicina e tetraciclina foram as mais prevalentes nos isolados (98,95%, 89,5% e 85,3%, respectivamente).

Nesse estudo, das 12 cepas de *E. coli* analisadas, 9 cepas (75%) apresentaram resistência a pelo menos uma classe de antimicrobianos e 7 (58,3%)

foram resistentes a 3 ou mais classes. Papouskova *et al.* (2020) observaram que 69,5% das cepas de *E. coli* (APEC) isolada de frangos na República Checa eram resistentes a três ou mais grupos de antimicrobianos, o que consideramos como critério de multirresistência. Rahman *et al.* (2020) reportaram que dos 381 isolados de *E. coli*, 286 (75,1%) foram multirresistentes.

Os estudos indicam que a utilização de antibióticos em animais de produção pode contribuir para o aumento da multirresistência bacteriana. A exposição constante a antimicrobianos causa uma pressão seletiva, que aumenta os genes de resistência. Um relatório emitido pelo US Food and Drug Administration, demonstrou que os animais destinados à alimentação humana em 2013 consumiram mais de 14 mil toneladas de antimicrobianos (FDA, 2015).

7 CONCLUSÃO

Nesse estudo, das 10 amostras de carne de frango analisadas, 4 amostras (40%) apresentaram falta de qualidade microbiológica, sendo que as amostras 3 e 6 (20%) estavam impróprias para o consumo por excederem o limite de contagem de bactérias mesófilas segundo a legislação brasileira. Além disso, a amostra 1 teve elevada contagem de psicotróficos, coliformes totais e *S. aureus* e a amostra 8 teve elevada contagem de *S. aureus*. Por fim, 8 amostras (80%) apresentaram contaminação por *S. aureus*, com contagens entre $5,00 \times 10^2$ e $5,30 \times 10^3$ UFC/g.

Notou-se que a maioria das amostras de cortes de carnes de frangos analisadas estavam contaminadas por *S. aureus*. Isso nos alerta sobre falhas nos locais de venda, nas rotinas de limpeza e desinfecção de superfícies, na higiene dos manipuladores e nos protocolos de Boas Práticas de Fabricação. Diante do exposto, percebeu-se a possibilidade de risco sanitário, sendo necessário então uma fiscalização nos estabelecimentos e uma revisão dos protocolos utilizados para manipulação da carne frango destinada a consumo no Distrito Federal.

Além disso, das 12 cepas de *E. coli* analisadas 7 cepas (58,3%) foram multirresistentes, o que demonstra a necessidade de desenvolver políticas tanto para restrição do uso de antimicrobianos em animais de produção, como para o uso racional de antimicrobianos no intuito de reduzir os índices de resistência microbiana no Brasil.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABPA. Associação Brasileira De Proteína Animal. 2022. Acesso em: 22 de junho de 2023. Disponível em: ABPA - Associação Brasileira de Proteína Animal (abpa-br.org)
- ABPA. Associação Brasileira De Proteína Animal. **Relatório anual de 2021**. Brasil. 2021. Acesso em: 07 fev. 2022. Disponível em: <http://abpa-br.org/mercados/#relatorios>
- BAZARGANI-GILANI, B.; ALIAKBARLU, J.; TAJIK, H., Effect of pomegranate juice dipping and chitosan coating enriched with *Zataria multiflora Boiss* essential oil on the shelf-life of chicken meat during refrigerated storage. **Innovative Food Science Emergence Technology**, v.29, p. 280–287, 2015.
- BEZERRA, W. G. A. *et al.* Antibióticos no setor avícola: uma revisão sobre a resistência microbiana. **Archivos de zootecnia**, v. 66, n. 254, p. 301-307, 2017.
- BHAISARE, D. B. *et al.* Bacterial pathogens in chicken meat: review, **International Journal of Life Sciences Research**, v. 2, n. 3, 2014.
- BRASIL. (2022) Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Instrução normativa nº 161, de 01 de julho de 2022. **Estabelece as listas de padrões microbiológicos para alimentos**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 01 jul. 2022.
- CINTRA, A. P. R. *et al.* Influence of cutting room temperature on the microbiological quality of chicken breast meat. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 68, n. 3, p. 814–820, 2016.
- CLSI - Clinical and Laboratory Standards Institute. 2019. **Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: twenty-third informational supplement**. CLSI M100-S23, Wayne.
- DAVIS, G.S. *et al.* Antibiotic-resistant *Escherichia coli* from retail poultry meat with different antibiotic use claims. **BMC Microbiology**, v. 18, n. 174, 2018.
- FDA. 2015. CVM reports on antimicrobials sold or distributed for food producing animals. <http://www.fda.gov/AnimalVeterinary/NewsEvents/CVMUpdates/ucm440585.htm>
- FERNANDES, R. *et al.* Molecular characterization of ESBL-producing Enterobacteriaceae in northern Portugal. **Scientific World Journal**, p. 1–6, 2014.
- HAILLOU, S. *et al.* Origin and ecological selection of core and food-specific bacterial communities associated with meat and seafood spoilage. **ISME Journal**, v. 9, p. 1105–1118, 2015.
- HÖLL, L.; BEHR, J.; VOGEL, R.F. Identification and growth dynamics of meat spoilage microorganisms in modified atmosphere packaged poultry meat by MALDI-TOF MS. **Food Microbiology**, v. 60, p. 84–91, 2016.

KADARIYA, J.; SMITH, T. C.; THAPALIYA, D. *Staphylococcus aureus* and staphylococcal food-borne disease: an ongoing challenge in public health. **BioMed Research International**, 2014.

KATARIA, J.; MOREY, A. Antimicrobial interventions in poultry processing to improve shelf life and safety of poultry meat: a review with special attention to *Salmonella* spp. **Journal of Food Quality and Hazards Control**, v. 7, n. 2, p. 52-59, 2020.

KLAHARN, K. *et al.* Bacterial contamination of chicken meat in slaughterhouses and the associated risk factors: A nationwide study in Thailand. **PLoS ONE**, v. 17, n. 6, 2022.

LODÉA, P. **Contagem bacteriana em filé de peito de frango após o sistema de resfriamento**. Mestrado em Tecnologia de Alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Londrina, 2017.

MADAH, H. *et al.* Prevalence of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* isolated from chicken nugget in Iran. **Jundishapur Journal of Microbiology**, v.7, n. 8, p. e10237, 2014.

MENEZES, L. D. M. *et al.* Caracterização microbiológica de carcaças de frangos de corte produzidas no estado de Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 70, n. 02, p. 623-627, 2018.

MOHAMED, M. A.; SHEHATA, M. A.; RAFEEK, E. Virulence genes content and antimicrobial resistance in *Escherichia coli* form broiler chickens. **Veterinary Medicine International**, p.1-6, 2014.

MONTEZANI, E. *et al.* Isolamento de *Salmonella* spp. e *Staphylococcus aureus* em carne de frango e condições dos estabelecimentos comerciais no município de Tupã-SP. **Colloquium Vitae**, v. 9, n. 2, p. 30–36, 2017.

ODWAR, J.A. *et al.* A cross-sectional study on the microbiological quality and safety of raw chicken meats sold in Nairobi, Kenya. **BMC Research Notes**, v.7,2014,

Organização Pan-Americana da Saúde (2022). PANAFITSA alerta que doenças transmitidas por alimentos podem ser evitadas com ações preventivas do campo à mesa. Acessado em: 22 de junho de 2023. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/noticias/7-6-2022-panaftosa-alerta-que-doencas-transmitidas-por-alimentos-podem-ser-evitadas-com>

PAPOUSKOVA, A. *et al.* Genomic analysis of *Escherichia coli* strains isolated from diseased chicken in the Czech Republic. **BMC Veterinary Research**, v. 16, n. 1, 2020.

PARVIN, M. S. *et al.* Antimicrobial resistance pattern of *Escherichia coli* isolated from frozen chicken meat in Bangladesh. **Pathogens**, v. 9, n. 6, p. 420, 2020.

RAEISI, M. *et al.* Effect of sodium alginate coating incorporated with nisin, *Cinnamomum zeylanicum*, and rosemary essential oils on microbial quality of chicken meat and fate of *Listeria monocytogenes* during refrigeration. **International Journal of Food Microbiology**, v. 238, p. 139-145, 2016.

RAHMAN, M. M. *et al.* Isolation and molecular characterization of multidrug-resistant *Escherichia coli* from chicken meat. **Science Reports**, v. 10, n. 1, 2020.

RASHEED, M. U. *et al.* Antimicrobial drug resistance in strains of *Escherichia coli* isolated from food sources. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 56, p. 341-346, 2014.

ROLAIN, J.M. Food, and human gut as reservoirs of transferable antibiotic resistance encoding genes. **Frontiers in Microbiology**, v. 4, 2013.

ROUGER, A. *et al.* Bacterial contaminants of poultry meat: sources, species, and dynamics. **Microorganisms**, v. 5, n. 3, 2017.

SALLAM, K. I. *et al.* Molecular characterization and antimicrobial resistance profile of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in retail chicken. **Journal of Food Protection**, v. 78, n. 10, p. 1879-84, 2015.

SILVA, F. *et al.* Trends in microbial control techniques for poultry products. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 58, n. 4, p. 591–609, 2017.

SILVEIRA, D. R. *et al.* Qualidade microbiológica de produtos de origem animal encaminhados para alimentação escolar. **Ciência Animal Brasileira**, v. 20, n. e-43226, p. 1–8, 2019.

SMOLANDER, M. *et al.* Monitoring of the quality of modified atmosphere packaged broiler chicken cuts stored in different temperature conditions. A. Time-temperature indicators as quality-indicating tools. **Food Control**, v. 15, p. 217–229, 2014.

TADESSE, D.A. *et al.* Antimicrobial drug resistance in *Escherichia coli* from humans and food animals, United States, 1950–2002. **Emerging Infectious Diseases**, v.18, p. 741–749, 2012.

WANG, X. *et al.* *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in retail raw chicken in China. **Food Control**, v. 29, n. 1, p. 103–106, 2013.

ANEXO

Anexo 1 – Antibiogramas das bactérias *E. coli* isoladas das amostras de carnes de frango.

Cepas de <i>E. coli</i>		CLO		CAZ		TET		GEN		SUL		CTX		IPM		CIP		AMC	
M1-1	1	23	S	31	S	30	S	16	S	0	R	35	S	35	S	19	R	20	S
M1.1-1	2	25	S	0	R	0	R	10	R	0	R	0	R	32	S	19	R	22	S
M1-2	3	26	S	15	R	8	R	13	I	0	R	8	R	31	S	26	S	15	I
M3-2	4	29	S	29	S	22	S	14	I	29	S	33	S	36	S	24	I	28	S
M5-1	5	29	S	30	S	25	S	14	I	26	S	29	S	35	S	30	S	13	R
M5.1-1	6	0	R	16	R	0	R	10	R	0	R	0	R	31	S	14	R	19	S
M5.2-1	7	30	S	18	I	25	S	15	S	27	S	25	I	33	S	27	S	16	I
M8.1-1	8	6	R	9	R	6	R	6	R	0	R	4	R	26	S	7	R	7	R
M8.2-1	9	24	S	27	S	21	S	17	S	20	S	31	S	28	S	29	S	25	S
M12.1-1	10	7	R	7	R	5	R	7	R	0	R	7	R	26	S	10	R	0	R
M12.2-1	11	7	R	8	R	6	R	6	R	5	R	0	R	13	R	0	R	6	R
M15-1	12	25	S	13	R	9	R	17	S	6	R	32	S	24	S	29	S	6	R

Fonte: Autoria própria, 2023