**COMPARAÇÃO DE CARGA MICROBIANA E PRESENÇA DE *E. coli* E SEUS GENES DE VIRULÊNCIA EM ÁGUA DE PRÉ-RESFRIAMENTO POR IMERSÃO DE CARCAÇAS DE FRANGO EM ABATEDOURO-FRIGORÍFICO DO TOCANTINS**

**COLARES**, Douglas Rebouças[[1]](#footnote-1); **FERNANDES**, Ângela Borges Pinheiro Silva2, **PEREIRA**, Hiago Martins3, **PEREIRA**, Clair Firmino de Souza4, **ALEXANDRINO**, Bruna5.

**RESUMO**

No Brasil, a carne de frango é um alimento amplamente consumido, tanto no mercado nacional quanto internacional e economicamente importante ao Brasil, pois contribui com 1,5% do PIB nacional. O objetivo da pesquisa foi quantificar microrganismos indicadores de qualidade e a presença de genes de virulência de *E. coli* de carcaças de frango e da água do sistema de resfriamento das carcaças, utilizando Compact Dry® para contagem dos microrganismos e a PCR para pesquisa de genes de virulência. Os valores obtidos da contagem para Mesófilos Aeróbios (3,3x102) e *E. coli* (4,5x102) foram menores que do que preconizados na legislação vigente e foram obtidos os valores máximos de 6,9x102 para *Enterobacteriaceae* e Coliformes Totais e 1,7x102 para *S. aureus*. Foram confirmadas 135 unidades formadoras de colônias (UFC) para *E. coli* e destas, 16 apresentaram gene de virulência sendo eles: EPEC (4), EAEC (2), STEC (8) e EIEC (2). A presença de *E. coli* patogênica e *S. aureus* mostra o potencial risco das carcaças para o consumidor, necessitando implementar medidas de controle e monitoramento para identificar pontos críticos de contaminação.

**Palavras-chave**: Indicadores de qualidade microbiológica. Segurança alimentar. Sistema de resfriamento.

1. **INTRODUÇÃO/JUSTIFICATIVA**

A carne de frango é um alimento de alta demanda no Brasil e no mundo, destacando-se por seu baixo custo e benefícios nutricionais, como baixo teor de gordura e alta quantidade de proteínas (SAENGPHOL; PIRAK, 2018). O trato intestinal das aves, especialmente de galinhas e perus, é um dos principais reservatórios naturais de microrganismos patogênicos como *Salmonella spp.* e *Campylobacter spp*. Porém, além desses, outras bactérias mesófilas, responsáveis por toxinfecções alimentares, como *Escherichia coli* entero-hemorrágica, *Staphylococcus aureus e Listeria monocytogenes*, também podem ser isoladas da carne de aves (OLIVEIRA *et al*., 2011).

A pesquisa se insere na área de Ciências Agrárias, no âmbito de Tecnologia de Alimentos e Segurança Alimentar. As atividades desenvolvidas são cruciais para avaliar se a água utilizada no sistema de refrigeração por imersão de carcaças de frangos pode influenciar na qualidade do produto final. Para profissionais da indústria alimentícia, a pesquisa oferece dados críticos para salientar a atenção dos frigoríficos sobre possíveis pontos críticos durante a etapa de abate.

1. **BASE TEÓRICA**

A contaminação da carcaça dos frangos pode pré-existir anteriormente ao processamento, graças ao contato com equipamentos, fômites, vísceras ou água de escaldagem com presença de microrganismos (CASON, 2000). Contudo, as etapas que acontecem no próprio abatedouro-frigorífico também podem ser uma fonte de contaminação dessas carcaças (BARBALHO *et al*., 2005).

O abate de frangos de corte é um processo complexo que inclui inúmeras etapas, que vão desde a recepção das aves ainda vivas até a estocagem da carne. Nesses procedimentos, há utilização de uma grande quantidade de água. Antes da evisceração, por exemplo, as carcaças são obrigatoriamente lavadas com chuveiros de aspersão com água sob pressão adequada (BRASIL, 1998). Além disso, há também a etapa de pré resfriamento, onde acontece a imersão das carcaças em água gelada com o objetivo de baixar a temperatura destas (MAPA 2010/98).

A qualidade dos produtos pode ser diretamente impactada pela utilização de água inadequada, uma vez que as impurezas presentes na água podem alterar a cor e o odor dos alimentos, bem como causar infecções e intoxicações alimentares que podem constituir riscos à saúde humana (WUJIE, *et al.*, 2011).

1. **OBJETIVOS**

Pesquisar microrganismos indicadores e genes de virulência de *E. coli* isolados de água do sistema de resfriamento por imersão em um abatedouro-frigorífico do norte do Tocantins.

1. **METODOLOGIA**

A coleta do material para a pesquisa foi realizada em um abatedouro-frigorífico localizado na região norte do Estado do Tocantins, sendo realizadas três coletas com intervalo de 28 dias entre elas. Em cada dia foram coletadas água em três pontos distintos do sistema de resfriamento das carcaças de frango, sendo água de entrada no sistema, após o primeiro estágio e no último estágio. As amostras foram mantidas em caixa isotérmica com gelo reciclável, por no máximo seis horas até o processamento no Laboratório de Microbiologia de Alimentos da Universidade Federal do Norte do Tocantins.

As amostras de água foram analisadas quanto a contagem de microrganismos indicadores de qualidade microbiológica como Aeróbios Mesófilos (AM), coliformes a 30°C (CT), Enterobacterias e *Escherichia coli* (CTT) e *Staphylococcus spp*, por meio de Compact Dry® (Nissui Pharmaceutical Co., Ltd., Tokyo, Japan) TC, ETB, XSA e EC, respectivamente, conforme as orientações do fabricante (<https://compact-dry.com/en/products/>), utilizando diluições decimais com solução salina estéril até 10-3; e os psicrotróficos segundo metodologia de Frank; Yousef (2004). Os isolados de *E. coli* foram recuperados em caldo cérebro coração (BHI) e submetidos a extração de DNA conforme Ribeiro Júnior *et al*. (2016). Os isolados foram submetidos a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) para verificar se são *E. coli* enteropatogênica (EPEC), produtora de toxina shiga (STEC), enteroagregativa(EAEC), enteroinvasiva (EIEC), enterotoxigênica (ETEC), e para enterohemorrágica (EHEC) a caracterização será realizada pela positividade simultânea aos genes que codificam STEC e EPEC (eaeA e stx). Todos os genes alvo, primers e as condições de amplificação dessas reações foram as mesmas descritas por Aranda, Fagundes-Neto e Scaletsky (2004).

1. **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

O resultado da análise microbiológica da água indicou que a água de entrada é de boa qualidade, não acarretando em contaminação das carcaças, pois não houve isolamento sugestivo de patógenos em nenhuma das coletas realizadas. Por outro lado, as amostras oriundas das águas coletadas no primeiro e segundo estágio do sistema de resfriamento foi possível observar que tanto no primeiro, quanto no segundo estágio, houve contagem de microrganismos, incluindo isolados sugestivos de patógenos para *E. coli* e *Staphylococcus spp*. (Tabela 1). A contaminação provavelmente se deu pelo contato com as carcaças de frango, uma vez que nesses estágios as carcaças estão nesses tanques.

Tabela 1. Contagem de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) de Aeróbios Mesófilos, *Enterobacteriaceae*, Coliformes Totais, *E. coli* e *S. aureus* em amostras de água do sistema de resfriamento imersão de carcaça de frango em abatedouro – frigorífico do Tocantins, 2024

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | Contagem (UFC\*/cm2) | | | | | |
| Coleta | Amostras | A.M.\*\* | *Entero#* | CT## | *E. coli* | *S. aureus* | |
| 1 | Entrada  1º estágio  2º estágio | <10  2300  840 | <10  690  620 | <10  360  480 | <10  240  330 | <10  160  53 | |
| 2 | Entrada  1º estágio  2º estágio | <10  20  750 | <10  10  120 | <10  <10  690 | <10  <10  450 | <10  30  22 | |
| 3 | Entrada  1º estágio  2º estágio | <10  230  3300 | <10  33  200 | <10  30  290 | <10  18  150 | <10  70  170 | |

\*Unidade Formadora de Colônias; \*\*Aerobios Mesófilos; #*Enterobacteriaceae*, ## Coliformes Totais.

Os parâmetros observados no experimento para AM (3,3x102) e *E. coli* (4,5x102) estão abaixo dos limites preconizados pela legislação*,* 106*/*g de carne e 5x103*/g*, respectivamente (Brasil, 2022). Foram obtidos os valores máximos de 6,9x102 para *Enterobacteriaceae* e Coliformes Totais e 1,7x102 para *S. aureus*. Na PCR foram confirmadas 135 UFC de *E. coli*. Quando analisados os genes de virulência, desses espécimes, foram confirmadas a presença dos genes EPEC (4), EAEC (2), STEC (8) e EIEC (2), não havendo positividade para os genes ETEC e EHEC (Tabela 2).

Das amostras positivas para EPEC foram realizadas a PCR para bfpA tendo como resultado nenhuma positiva, caracterizando EPEC atípica. Do total de isolados 11,9% (16/135) apresentaram ao menos um gene de virulência, caracterizando *E. coli* diarreiogênica (DEC), sendo a STEC a de maior ocorrência (50% - 8/16), seguida pela EPEC (25% - 4/16).

Tabela 2. Genes de virulência de *E. coli* isoladas de água do sistema de resfriamento por imersão de carcaças de frango em abatedouro - frigorífico do Tocantins em 2024

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Coleta | Amostra | Isolados | EPEC | BfpA EPEC | EAEC | ETEC | STEC | EIEC | EHEC |
| 1 | 1º Estágio | 24 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 |
| 2º Estágio | 33 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 2 | 1º Estágio | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 2º Estágio | 45 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| 3 | 1º Estágio | 18 | 3 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 2º Estágio | 15 | 1 | 0 | 0 | 0 | 6 | 1 | 0 |
|  | Total | 135 | 4 | 0 | 2 | 0 | 8 | 2 | 0 |

1. **CONCLUSÃO/CONSIDERAÇÕES FINAIS**

A presença de *E. coli* patogênica mostra o potencial risco das carcaças para o consumidor, necessitando implementar medidas de controle e monitoramento para identificar pontos críticos de contaminação. Isso pode incluir revisão de procedimentos operacionais e a adoção de práticas de higiene mais rigorosas no frigorífico.

1. **AGRADECIMENTOS**

O presente trabalho foi realizado com apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Tocantins - FAPT pela concessão da bolsa PIBIC e apoio do Programa Nacional de Cooperação Acadêmica na Amazônia – PROCAD/Amazônia da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES/Brasil.

1. **REFERÊNCIAS**

ARANDA, K. R. S.; FAGUNDES-NETO, U.; SCALETSKY, I. C. A. Evaluation of multiplex PCRs for diagnosis of infection with diarrheagenic Escherichia coli and Shigella spp. **Journal of clinical microbiology**, v. 42, n. 12, p. 5849-5853, 2004.

BARBALHO, T. C. F. et al. Prevalence of Listeria spp. at a poultry processing plant in Brazil and a phage test for a rapid test confirmation of suspect colonies. **Food Control**, v. 16, n. 3, p. 211-216, 2005.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento – MAPA. DCI/DIPOA. Circular nº 38, de 08 de novembro de 2010. Disponível em: . Acesso em: 16 mar. 2019.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento de inspeção de produtos de origem animal. Secretaria de defesa agropecuária. Regulamento técnico de Inspeção Tecnológica e Higiênica Sanitario de Carnes de Aves. Portaria n. 210, 10 nov. 1998. Disponível em: Acesso em: 05 set. 2017.

CASON, J.A., HINTON, A; INGRAM, K.D. Coliform, Escherichia coli and salmonellae concentrations in a multiple-tank counter flow poultry scalder. **Journal of Food Protection**, Tennessee, v.63, p. 1184-1188, 2000.

FRANK, J.F.; YOUSEF, A.E. Test for groups of microrganisms. In: WEHR, H.M.; FRANK, J.K (Eds.), Standard Methods for the Examination of Dairy Products, 17th **Ed. American Public Health Association**, Washington, D.C., 2004. Chapter 8, Section 8.090 an 8.100, p. 239-242.

OLIVEIRA, A.V.B.; SILVA, R.A.; ARAÚJO, A.S. et al. Padrões microbiológicos da carne de frango de corte - referencial teórico. Rev. Verde, v.6, p.1-16, 2011.

RIBEIRO JÚNIOR, J.C.; TAMANINI, R.; SOARES, B.F.; OLIVEIRA, A.M.; SILVA, F.G.; SILVA, F.F.; AUGUSTO, N.A.; BELOTI, V. Efficiency of boiling and four other methods for genomic DNA extraction of deteriorating spore-forming bacteria from milk. **Semina Ciências Agrárias**, v. 7, p. 3069–3078, 2016.

SAENGPHOL, E.; PIRAK, T. Hoary basil seed mucilage as fat replacer and its effect on quality characteristics of chicken meat model. **Agriculture and Natural Resources**, v. 52, n. 4, p. 382-387, 2018.

WUJIE, J., ZHUFEI, M.; XUJING, H. T. (2011). The influence of water quality on food quality and the treatment of water for food processing. **Procedia Environmental Sciences**, 1:2671-2676.

1. Bolsista do Programa de Iniciação Científica (PIBIC/PIBITI). Universidade Federal do Norte do Tocantins (UFNT), Centro de Ciências Agrárias. [douglas.colares@ufnt.edu.br](mailto:douglas.colares@ufnt.edu.br)

   2 Acadêmica do Programa de Pós-graduação em Sanidade Animal e Saúde Pública nos trópicos, curso de Mestrado, Centro de Ciências Agrárias. [angela\_borgesmv@hotmail.com](mailto:angela_borgesmv@hotmail.com)

   3 Bolsista do Programa de Iniciação Científica (PIBIC). Universidade Federal do Norte do Tocantins (UFNT), Centro de Ciências Agrárias. [hiago.pereira@ufnt.edu.br](mailto:hiago.pereira@ufnt.edu.br)

   4 Bolsista do Programa de Iniciação Científica (PIBIC). Universidade Federal do Norte do Tocantins (UFNT), Centro de Ciências Agrárias. [clair.pereira@ufnt.edu.br](mailto:clair.pereira@ufnt.edu.br)

   5 Professora Doutora da Universidade Federal do Norte do Tocantins (UFNT), Orientadora do projeto de Iniciação Científica. [bruna.alexandrino@ufnt.edu.br](mailto:bruna.alexandrino@ufnt.edu.br) [↑](#footnote-ref-1)