

Scientific Electronic Archives

Issue ID: Sci. Elec. Arch. Vol. 10 (4)

August 2017

Article link

<http://www.seasinop.com.br/revista/index.php?journal=SEA&page=article&op=view&path%5B%5D=323&path%5B%5D=pdf>

Included in DOAJ, AGRIS, Latindex, Journal TOCs, CORE, Discoursio Open Science, Science Gate, GFAR, CIARDRING, Academic Journals Database and NTHRYS Technologies, Portal de Periódicos CAPES.



Avaliação microbiológica de farinha de carne e ossos de origem bovina - Sinop- MT, 2016.

Microbiological evaluation of meat and bone meal - Sinop-MT, 2016.

R. B. Moura, R. R. Oliveira, C. C. B. Rosa

Universidade Federal de Mato Grosso – Campus Sinop

Author for correspondence: claudinelirosa@gmail.com

Resumo. Objetivou-se neste estudo avaliar a qualidade microbiológica de farinha de carne e ossos (FCO) de origem bovina provenientes de um matadouro frigorífico local. Foram coletadas 20 amostras, para avaliação da contaminação por coliformes totais, coliformes termotolerantes, *Escherichia coli* e *Salmonella* sp. Verificou-se que as amostras apresentaram baixa ocorrência de coliformes termotolerantes e *E.coli*, porém a ocorrência de coliformes totais foi maior que 3 NMP/g em 50%, evidenciando contaminação pós processamento. Não foi detectada a presença de *Salmonella*, estando as amostras em conformidade com a legislação.

Palavras-chave: Coliformes, *Escherichia coli*, *Salmonella*.

Abstract. The purpose of this work was to evaluate the microbiological quality of meat and bone meal (MBM) from a processing plant local. Were collected 20 samples and examined for the presence of total and thermotolerants coliforms, *Escherichia coli* and *Salmonella* sp. It was found that the samples showed a low incidence of coliforms thermotolerants and *E. coli*, but the incidence of total coliforms was higher than 3 NMP/g in 50%, suggesting contamination after processing. We did not detect the presence of *Salmonella* spp, Were samples within the limits established by legislation .

Keywords: Coliforms, *Escherichia coli*, *Salmonella*.

Introdução

Devido à necessidade de grandes volumes de ingredientes pelas indústrias de rações, há frequentemente escassez de ingredientes alternativos ao milho e ao farelo de soja. As boas fontes proteicas têm em geral alto custo e os ingredientes alternativos podem ser usados, mas dependem do conhecimento de sua qualidade, preço, e do resultado no desempenho dos animais (CAMPESTRINI, 2005).

A Farinha de Carne e Ossos (FCO), subproduto de abatedouros, é muito utilizada como ingrediente proteico alternativo para produção de rações devido ao seu melhor custo benefício. Contudo, nos últimos anos a utilização de produtos de origem animal em rações é discutida

mundialmente, devido aos vários problemas decorrentes principalmente na União Europeia com doenças como o “mal da vaca louca” e a febre aftosa.

O Regulamento Técnico da Inspeção Higiênico-Sanitária e Tecnológica do Processamento de Resíduos de Animais (BRASIL, 2008), orienta que os resíduos animais para fabricação do produto devem ser oriundos de estabelecimentos fornecedores devidamente autorizados pelos órgãos oficiais competentes, e deve-se assegurar que os resíduos animais sejam obtidos de forma higiênica e estejam em condições apropriadas para o processamento.

A qualidade higiênica dos alimentos é avaliada pela determinação de organismos

indicadores com destaque ao grupo dos coliformes, cuja presença está associada a falta de higiene na manipulação e armazenamento de produtos (CAMPESTRINI, 2005).

As temperaturas de processamento de farinhas eliminam grande parte, senão toda a contaminação bacteriana dos subprodutos, mas a recontaminação é algo que tem grande chance de acontecer devido ao manuseio, transporte e outros fatores do ambiente. Entre os microrganismos de importância patogênica, a *Salmonella* sp. Consiste, atualmente, no maior perigo microbiológico para as fábricas de rações. As principais fontes de contaminação são os ingredientes, tanto de origem animal (farinhas de ossos, carne e vísceras) quanto vegetal (milho, soja, sorgo, farelo de arroz, farelo de algodão) (PELLEGRINI, 2011).

Por esse motivo, a pesquisa de grupos microbianos indicadores de contaminação e a presença de *Salmonella* sp são importantes no controle microbiológico dos subprodutos utilizados na formulação de ração.

Métodos

O presente trabalho foi realizado no Laboratório de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Mato Grosso, *Campus Sinop*.

Foram coletadas um total de 20 amostras de farinhas de carne e ossos de origem bovina, obtidas em um matadouro-frigorífico com registro no Serviço de Inspeção Estadual, localizado no Estado de Mato Grosso.

As amostras foram acondicionadas em sacos de polietileno estéreis e transportadas até o Laboratório de Tecnologia de Alimentos, onde foi avaliada a contaminação por coliformes totais, coliformes termotolerantes, *Escherichia coli* e *Salmonella* sp.

Para determinação do número mais provável de por coliformes totais, coliformes termotolerantes e *Escherichia coli* (NMP/g) foi efetuada a técnica de tubos múltiplos, com 3 tubos por diluição, utilizando-se a metodologia da *American Public Health Association*, descrita no *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods* (HITCHINS et al., 1992).

Alíquotas de 25 g de cada amostra de farinha de carne e ossos foram pesadas assepticamente em frascos de erlenmeyer e homogeneizadas com 225 mL de água peptonada a 0,1%, obtendo-se a diluição 10^{-1} .

A partir dessa diluição foram obtidas as demais 10^{-2} e 10^{-3} em tubos de ensaio contendo 9 ml de água peptona 0,1%. De cada diluição foi feita a retirada de 1ml e transferido para tubos de ensaio com tampa de rosca esterilizado com 6 ml de Caldo de Verde Brilhante Lactose Bile 2% em 3 séries de 3 tubos (contendo tubos de Durham), e incubados

por 24/48 horas em estufa a 35°C, para o teste confirmativo de coliformes totais. Passado o tempo de incubação, nos tubos que apresentavam produção de gás, as amostras dos mesmos eram transferidos para tubos (contendo tubos de Durham) com caldo EC, com o auxílio de uma alça de níquel-cromo e incubados por 24 horas a 45°C em banho-maria, para o teste confirmativo de coliformes termotolerantes.

De cada tubo de EC que apresentou produção de gás em 24h ou 48h de incubação, foi estriada uma alçada da cultura em placas de Ágar Eosina Azul de Metileno (EMB). Estas placas foram incubadas a 35°C por 24 horas, onde após esse período foram observadas quanto ao desenvolvimento de colônias típicas de *Escherichia coli* (nucleadas com centro preto, com ou sem brilho metálico). Das placas de Ágar EMB que apresentaram crescimento de colônias típicas, foram transferidas duas colônias bem isoladas de cada placa, para tubos de Ágar Padrão para Contagem, (PCA) inclinados. Estes tubos de PCA foram incubados a 35°C por 24 horas. A partir das culturas puras em PCA, foram realizadas as provas bioquímicas de Indol, VM-VP e Citrato.

A metodologia utilizada para a pesquisa de *Salmonella* sp. nas amostras de farinhas de carne e ossos foi a da American Public Health Association, descrita no *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods* (VANDERZANT e SPLITTSTOESSER, 1992).

Os meios utilizados para a detecção de *Salmonella* foram divididos de acordo com as fases em que foram empregados. O pré-enriquecimento foi realizado em água peptonada tamponada (APT). E para o enriquecimento foi utilizado os caldos seletivos Caldo Tetrionato (TT) e Caldo Selenito-Cistina (SC). Posteriormente as colônias de *Salmonella* sp. com características típicas foram estriadas em placas de HE e SS.

Para confirmação preliminar inicialmente, as colônias foram submetidas aos testes de descarboxilação da lisina, fermentação da lactose e/ou sacarose e produção de H₂S, no Ágar Lisina Ferro (LIA) e Ágar Tríplice Açúcar Ferro (TSI). Este procedimento evita que colônias não típicas de *Salmonella* sejam submetidas as etapas posteriores. Tanto o LIA como o TSI foram preparados na forma inclinada em tubos de ensaio com tampa de rosca e esterilizados em autoclave a 121°C/1atm, por 30 minutos. Com o auxílio de uma agulha de inoculação, foi removida uma porção da massa de células do centro da colônia típica de *Salmonella* e a mesma foi inoculada em tubos inclinados de TSI e LIA. Posteriormente os tubos foram incubados a 35°C por 24 horas, após foi observado as reações em tubos de LIA e TSI.

As culturas que apresentaram reação típica em TSI ou LIA foram submetidas a testes

bioquímicos (confirmação adicional).

Para confirmação adicional as culturas com teste positivo ou duvidoso em LIA e TSI foram submetidas a testes bioquímicos adicionais para confirmação da identidade das colônias: Teste de Citrato, Teste de indol, Teste de motilidade em meio SIM, Teste de urease e Teste de VM-VP.

Resultados e discussão

Os resultados encontrados para as

análises de coliformes totais, coliformes termotolerantes e *E. coli* de Farinhas de Carne e ossos de origem bovina são apresentados na Tabela 1 e Tabela 2.

De acordo com a Tabela 1, o Número Mais Provável de coliformes totais, coliformes termotolerantes e *E. coli* encontrado variou de <3 a ≥2400 microrganismos por grama de Farinha de Carne e Ossos.

Tabela 1. Avaliação de coliformes totais, coliformes termotolerantes e *Escherichia coli* de farinhas de carne e ossos (FCO) de origem bovina.

Amostra	Coliformes totais NMP/g	Coliformes a 45 °C NMP/g	<i>Escherichia coli</i> NMP/g
FCO 1	≥ 240	<3	<3
FCO 2	≥ 2 400	<3	<3
FCO 3	4	<3	<3
FCO 4	15	<3	<3
FCO 5	<3	<3	<3
FCO 6	<3	<3	<3
FCO 7	43	<3	<3
FCO 8	240	<3	<3
FCO 9	<3	<3	<3
FCO 10	<3	<3	<3
FCO 11	1100	<3	<3
FCO 12	43	<3	<3
FCO 13	43	<3	<3
FCO 14	<3	<3	<3
FCO 15	<3	<3	<3
FCO 16	20	20	<3
FCO 17	<3	<3	<3
FCO 18	<3	<3	<3
FCO 19	<3	<3	<3
FCO 20	<3	<3	<3

Embora a legislação (BRASIL, 1952) não especifique limites para o grupo de coliformes em Farinha de Carne e Ossos, a presença desses microrganismos reflete condições higiênico-sanitárias não satisfatórias do alimento, decorrente provavelmente do manuseio inadequado do produto pós processamento e/ou armazenamento inadequado.

A ocorrência de coliformes totais foi maior que 3 NMP/g em 50% das amostras analisadas, evidenciando contaminação pós processamento (Tabela 2). Sendo assim, os resultados obtidos na pesquisa sugerem que as condições de manuseio e armazenamento não foram realizadas

adequadamente em conformidade com o Regulamento Técnico da Inspeção Higiênico-Sanitária e Tecnológica do Processamento de Resíduos de Animais (BRASIL, 2008), que diz que o estabelecimento processador deve tomar medidas eficazes para evitar a contaminação do produto acabado, por contato direto ou indireto, nas diversas fases do processamento.

A contagem de *E. coli* é utilizada como indicador de condições de higiene dos processos de fabricação porque são facilmente inativados por sanitizantes e capazes de colonizar nichos de plantas de processamento quando a sanitização é falha (SILVA et al., 2010).

Tabela 2. Número e porcentagem de amostras de farinhas de carne e ossos (FCO) de origem bovina que apresentaram contaminação por coliformes totais, coliformes termotolerantes e *Escherichia coli*.

NMP/g	Coliformes totais	Coliformes a 45 °C	<i>Escherichia coli</i>
<3	10 (50%)	19 (95,5%)	20 (100%)
3-100	6 (30 %)	1 (0,5%)	-----
>100	4 (20%)	-----	-----

(----) Não detectado em nenhuma amostra

Tabela 3. Resultados dos testes bioquímicos das colônias suspeitas de *Salmonella* em Agar *Salmonella-Shigella*.

Amostra	Colônia	Urease	Indol	VP	VM	SIM	Citrato	Resultado
FCO 1	A	-	-	+	+	+	+	Ausente
FCO 2	A	+	+	+	-	+	+	Ausente
	B	-	-	+	+	+	+	Ausente
FCO 3	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	Ausente
FCO 4	A	-	+	+	+	+	-	Ausente
FCO 5	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	Ausente
FCO 6	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	Ausente
FCO 7	A	-	-	+	+	+	+	Ausente
FCO 8	A	+	-	+	+	+	+	Ausente
FCO 9	A	-	+	-	+	+	+	Ausente
FCO 10	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	Ausente
FCO 11	A	+	-	+	+	+	+	Ausente
	B	+	+	-	+	+	+	Ausente
FCO 12	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	Ausente
FCO 13	A	+	-	+	+	+	+	Ausente
	B	-	+	-	+	+	+	Ausente
FCO 14	A	-	-	+	+	+	+	Ausente
FCO 15	A	+	-	+	+	+	+	Ausente
FCO 16	A	+	+	+	-	+	+	Ausente
FCO 17	A	-	+	+	+	+	-	Ausente
FCO 18	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	Ausente
FCO 19	A	+	-	+	+	+	+	Ausente
FCO 20	A	-	-	+	+	+	+	Ausente

(---) Ausência de colônia suspeita (-)Negativo (+)Positivo

Com relação a presença de coliformes termotolerantes e *E. coli*, o NMP foi inferior a 3/g em 95,5% e 100% das amostras, respectivamente. Em um estudo realizado por Santos et al.,(2000), também verificou-se valores inferiores a 3 NMP/g de coliformes termotolerantes. Esses resultados demonstram que as amostras encontram-se em

boas condições em relação a esses indicadores.

Na Tabela 3 são apresentados os resultados dos testes bioquímicos das colônias suspeitas de *Salmonella* sp. no ágar *Salmonella-Shigella*.

Na Tabela 4 são apresentados os resultados dos testes bioquímicos das colônias

suspeitas de *Salmonella* sp. no ágar Entérico de Hektoen.

Das 14 amostras que apresentaram colônias características de *Salmonella* sp. em ágar

Salmonella-Shigella e 17 em ágar Entérico de Hektoen, nenhuma delas foi confirmada como sendo este microrganismo pelas provas bioquímicas.

Tabela 4. Resultados dos testes bioquímicos das colônias suspeitas de *Salmonella* em ágar Entérico de Hektoen.

Amostra	Colônia	Urease	Indol	VP	VM	SIM	Citrato	Resultado
FCO 1	A	-	-	+	+	+	+	Ausente
	B	+	-	+	+	-	+	Ausente
	C	-	+	+	+	+	-	Ausente
FCO 2	A	-	+	+	+	-	+	Ausente
	B	-	+	+	+	-	+	Ausente
FCO 3	A	-	+	+	+	+	+	Ausente
	B	-	+	+	+	+		Ausente
FCO 4	A	+	-	+	-	+	+	Ausente
	B	-	-	+	+	+	+	Ausente
	C	-	-	+	+	+	+	Ausente
FCO 5	A	-	+	+	+	-	+	Ausente
	B	-	-	+	+	-	+	Ausente
FCO 6	A	+	+	+	+	+	+	Ausente
	B	+	-	+	+	+	+	Ausente
FCO 7	A	+	-	+	+	-	+	Ausente
	B	-	+	+	+	+	+	Ausente
FCO 8	A	+	-	+	+	+	+	Ausente
	B	+	-	+	+	+	+	Ausente
FCO 9	A	-	+	+	-	-	-	Ausente
FCO 10	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	Ausente
FCO 11	A	-	+	+	-	-	+	Ausente
	B	-	+	-	+	-	-	Ausente
FCO 12	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	Ausente
FCO 13	A	+	-	+	+	+	+	Ausente
FCO 14	A	-	+	+	-	-	+	Ausente
FCO 15	A	-	-	+	+	+	+	Ausente
FCO 16	A	+	-	+	+	-	+	Ausente
FCO 17	A	+	-	+	+	+	+	Ausente
FCO 18	A	-	+	-	+	-	-	Ausente
FCO 19	A	+	-	+	+	+	+	Ausente
FCO 20	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	Ausente

(---) Ausência de colônia suspeita (-)Negativo (+)Positivo

Diferente dos resultados encontrados neste trabalho, Santos et al. (2000) detectaram a presença de *Salmonella* em 90% (10 amostras) das

amostras proveniente de diferentes frigoríficos do Estado de Minas Gerais, e Souza et al. (2002) também encontraram *Salmonella* na farinha de

carne e ossos utilizada na ração das poedeiras. Bosquiroli (1996), também obteve resultados diferentes do presente estudo, com níveis de 46,2% a 55% de contaminação por *Salmonella* spp. em amostras de farinhas de carne.

Conforme Santos et al. (2000), as farinhas de origem animal são constantemente mencionadas na literatura como a principal fonte de transmissão de salmonelas para rações e conseqüentemente para as aves. Elas se contaminam geralmente após a saída dos digestores, por falha ou contaminação cruzada entre a planta de abate e graxaria. Portanto essas duas áreas devem ser isoladas, tanto o pessoal como os equipamentos.

As matérias-primas utilizadas na fabricação de rações animais são fontes conhecidas de contaminação por *Salmonella* spp. desde 1948. Sendo assim, farinhas de carne e ossos utilizadas como matéria-prima para a fabricação de rações animais, devem ser constantemente monitoradas (ANDREATTI, 2007).

Considerações Finais

As Farinha de carne e ossos analisadas apresentaram baixa ocorrência de coliformes termotolerantes e *E. coli*, porém a presença de coliformes totais foi de 50%, indicando a possibilidade de contaminação pós-processamento.

Não foi detectada a presença de *Salmonella* sp. nas amostras analisadas, o que reflete uma baixa ocorrência deste patógeno.

Referências bibliográficas

ANDREATTI FILHO, R.L. Paratifo Aviário. In: **Saúde Aviária e Doenças**. 1 ed. São Paulo:

ANDRIGUETTO, J.M.; PERLY, L.; MINARDI, J.S.; SOUZA, G.A. de; BONA FILHO, A. **Nutrição animal: as bases e os fundamentos da nutrição animal: os alimentos**. 4.ed. São Paulo: Nobel, 2002. 395p.

BOSQUIROLI, S.L. **Estudo epidemiológico sobre a ocorrência de salmonelas em uma empresa de inegração de frangos de corte**. 58 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia dos Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1996.

BRASIL., Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA. MEMO CGI/DIPOA Nº 006/2006. Instrução normativa nº 34, de 28 de maio de 2008. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do>>. Acesso em 18 de abril de 2012.

BRASIL., Ministério da Agricultura, Pecuária e

Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária – DAS. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal – DIPOA. Divisão de Normas Técnicas – DNT. Decreto Lei nº 30691, de 29 de março de 1952. Alterados pelos Decretos nº 1255 de 25/06/62, nº 1236 de 02/09/94, nº 1812 de 08/02/96 e nº 2244 de 04/06/97. **Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal – RIISPOA**. Brasília, 1997. 241 p.

CAMPESTRINI, E. Farinha de carne e ossos. 2005. **Revista Eletrônica Nutritime**, v.2, nº4, p.221–234 julho/agosto de 2005. Disponível em: <http://www.nutritime.com.br/nutritime2/revista.asp>. Acesso em 10 abr. 2012.

HITCHINS, A. D.; HARTMAN, P. A.; TODD, E. C. D. **Coliforms** : *Escherichia coli* and its toxins. In: VANDERZANT, C.; SPLITTSTOESSER, D. F. **Compendium of Methods for the Microbiological Examinations of Foods**. 3ed. Washington: American Public Health Association (APHA). 1992. p. 325–369.

PELLEGRINI, D. C. P. Fatores de risco a contaminação por *Salmonella* ao longo da cadeia de produção de rações de suínos. In: **6º SUNSUI. Congresso Internacional de Suinocultura**, 2011. Porto Alegre. Disponível em: <http://www.suinotec.com.br/arquivos_edicao/sinsui_2011_04_Debora_Pellegrini.pdf>.

SANTOS, E. J., CARVALHO, E. P., SANCHES, R. L., BARROS, B. E. B. **Qualidade microbiológica de farinhas de carne e ossos produzidas no Estado de Minas Gerais para produção de ração animal**. Ciência Agropecuária, Lavras, v.24, n.2, p.425-433, 2000.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R. F. S.; GOMES, R. A. R. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. 4ª ed. São Paulo: Livraria Varela, 2010. p. 632.

VANDERZANT, C.; SPLITTSTOESSER, D. F. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 3ed. Washington: American Public Health Association, 1992. p. 1219.