

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CAMPUS DE JABOTICABAL

**Avaliação da Qualidade Microbiológica de Peito, Coxa e
Coração de Frango Comercializados em Diferentes
Estabelecimentos da Cidade de Jaboticabal, SP.**

Mariana Casteleti Beraldo Massoli
Biomédica

JABOTICABAL, SÃO PAULO – BRASIL
Fevereiro de 2010

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**Avaliação da Qualidade Microbiológica de Peito, Coxa e
Coração de Frango Comercializados em Diferentes
Estabelecimentos da Cidade de Jaboticabal, SP.**

Mariana Casteleti Beraldo Massoli

Orientador: Prof. Dr. Ruben Pablo Schocken-Iturrino

Dissertação apresentada à Faculdade de
Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp,
Campus de Jaboticabal, como parte das
exigências para obtenção do título de Mestre em
Microbiologia Agropecuária.

JABOTICABAL, SÃO PAULO – BRASIL

Fevereiro de 2010

Massoli, Mariana Casteleti Beraldo
M419a Avaliação da qualidade microbiológica de peito, coxa e
coração de frango comercializados em diferentes estabelecimentos
da cidade de Jaboticabal, SP./ Mariana Casteleti Beraldo Massoli. – –
Jaboticabal, 2010
xii, 44f. : il 6. ; 28cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista,
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2010
Orientador: Ruben Pablo Schocken-Iturrino
Banca examinadora: Helio José Montassier, Maria Luiza Poiatti
Bibliografia

1. Qualidade de alimentos. 2. Microbiologia Aplicada. 3. Produtos
comercializados I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências
Agrárias e Veterinárias.

CDU 576.8:637.5

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

MARIANA CASTELETI BERALDO MASSOLI – Nascida em 07 de abril de 1984, em Ribeirão Preto, estado de São Paulo, filha de Marcos Antonio Beraldo e Rosa Helena Casteleti Beraldo, casada com Antonio Massoli Neto em 2008, tornou-se graduada em Ciências Biológicas (Modalidade Médica) - Biomedicina, em janeiro de 2006, pelo Centro Universitário Barão de Mauá em Ribeirão Preto, SP. Coursou Pós-Graduação (latu senso) em Educação Ambiental no ano de 2006, pela Faculdade São Luis de Jaboticabal, S.P. Realizou Iniciação científica no departamento de anatomia da FCAV/UNESP com bolsa FAPESP sob a orientação da professora Márcia Rita Fernandes Machado, no período de 2003 a 2005. Obteve a primeira colocação no processo seletivo para obtenção de Bolsa do Programa de Pós-graduação em Microbiologia Agropecuária no curso de mestrado, iniciando-o em março de 2008 sob orientação do Prof. Dr. Ruben Pablo Schocken-Iturrino.

“Não há qualquer campo do saber humano, seja na indústria, agricultura, alimentos em conexão com problemas de habilitação ou vestuário, na saúde humana e no combate a doenças em que o microrganismo não desempenhe um papel importante e às vezes dominante”.

Selman Waksan 1942

A meu marido e aos meus pais pelo
amor, apoio e paciência.

Dedico

A meus pais, Irmã e marido, por
sempre me apoiarem e estarem
do meu lado.

Ofereço

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, como não poderia deixar de ser, a Deus por me dar à vida que tenho e me permitir ser a pessoa que sou hoje. Agradeço por me conceder a dádiva de tantos sonhos realizados e por me permitir mais esta conquista. Obrigada por estar sempre presente e, principalmente, me guiando através dos momentos mais difíceis.

Aos meus pais, Marcos e Rosa, que através de inúmeros esforços souberam educar-me dignamente e por sempre acreditarem na minha capacidade. Por todo o amor que me dão. Por todas as oportunidades que me propiciam. Pelo apoio. Pela base e princípios. Pelo exemplo. Não existem palavras suficientes para agradecer todos os esforços que sempre fizeram e fazem por mim, mas tentarei sempre ser um motivo de orgulho pra vocês.

A meu marido, que sempre esteve ao meu lado em todos os momentos, me apoiando e me incentivando em todas as etapas da minha vida. Obrigado por acreditar na minha capacidade e não medir esforços para me apoiar, não tenho palavras para agradecer o apoio, o carinho e o amor que recebo sempre. Espero poder retribuir tudo isso sempre.

À Maisa, minha irmã e amiga. De sua maneira sempre ao meu lado, dando apoio e zelando por mim e ao Leandro seu namorado pela amizade.

Aos meus avós por estarem sempre presentes e ao meu lado, me amando tanto.

À todos meus primos e primas, em especial Ricardo e Renato e suas respectivas, por serem tão especiais e presentes na minha vida.

À minha família. A vocês cujo amor me dá forças pra seguir, que me acalma nos momentos de angústia, que me faz querer ser melhor e buscar o melhor. Sem vocês nada disso teria sentido. Nada disso seria possível.

Ao meu orientador e amigo, Professor Ruben Pablo Schocken-Iturrino, com sua humildade e sempre disposto a me ensinar, conduzir e mostrar caminhos inspirou-me como profissional e me deu muitos exemplos de vida. Obrigada por ter acreditado em mim e me concedido tão valiosa oportunidade. A sua amizade e confiança foram essenciais para que eu pudesse trilhar meu caminho com segurança.

Aos amigos do Laboratório de Anaeróbios, que engrandeceram minha vida, no aspecto profissional e pessoal. Em especial a Carol, a Tammy e a Marcinha, que me ajudaram a crescer profissionalmente com seus exemplos de vida pessoal e profissional; e por estarem sempre

dispostas a ajudar. Ao Juliano, meu amigo, que sempre vou lembrar com muito carinho, pela amizade e companheirismo. À Marita, Ricardo e Silvina pela ajuda e pela amizade. À todos os que lá passaram e conheci nos projetos de pesquisa.

Agradeço a CAPES pelo auxílio concedido através da bolsa.

Ao Prof. Hélio, membro da banca do exame de qualificação e dissertação de mestrado, pelas suas sugestões e críticas essenciais a correção deste trabalho e pela ajuda durante toda minha caminhada.

À Profa. Maria Luiza Poiatti, membro da banca de dissertação de mestrado pelas sugestões essenciais para este trabalho.

A professora Márcia Rita Fernandes Machado pela oportunidade do primeiro estágio e pela iniciação científica, oportunidade esta tão valiosa para minha carreira.

Aos funcionários que em diferentes oportunidades e de maneira distinta contribuíram para a realização deste projeto de pesquisa e o meu desenvolvimento profissional.

Agradeço a todos, os aqui citados e os que por descuido não citei, pois me ensinaram muito mais do que podem imaginar, e porque fizeram desse período uma lição única e serão sempre um capítulo especial na minha vida.

Obrigada a todos

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	X
LISTA DE TABELAS	XI
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	4
3. OBJETIVOS.....	11
4. MATERIAL E MÉTODOS	12
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	16
6. CONCLUSÕES	24
7. REFERÊNCIAS.....	25

LISTA DE FIGURAS

1. Análise microbiológica dos cortes de frango provenientes de diferentes estabelecimentos comerciais do município de Jaboticabal, SP em relação às bactérias mesófilas 16
2. Valores das contagens de mesófilos totais em relação aos diferentes estabelecimentos comerciais 17
3. Análise microbiológica dos cortes de frango provenientes de diferentes estabelecimentos comerciais do município de Jaboticabal, SP em relação às contagens de enterobactérias 18
4. Valores da contagem total de enterobactérias em relação aos diferentes estabelecimentos comerciais 18
5. Análise microbiológica dos cortes de frango provenientes de diferentes estabelecimentos comerciais do município de Jaboticabal, SP em relação ao *Staphylococcus* SP 20
6. Valores das contagens de *Staphylococcus* sp entre os cortes e entre os estabelecimentos 21

LISTA DE TABELAS

1. Valores do Número Mais Provável de Coliformes totais e termotolerantes das amostras analisadas 19

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE PEITO, COXA E CORAÇÃO DE FRANGO COMERCIALIZADOS EM DIFERENTES ESTABELECIMENTOS DA CIDADE DE JABOTICABAL, S.P.

RESUMO

Carcaças e miúdos de frangos podem ser veiculadores de bactérias patogênicas para o homem, provocando intoxicações alimentares. A contaminação da carne de frango pode ocorrer desde a sua criação até a manipulação das peças durante e após a comercialização. Considerando isto, o objetivo do trabalho foi o de avaliar a qualidade microbiológica de peito, coxa e coração de frangos comercializados em seis diferentes estabelecimentos na cidade de Jaboticabal, através da pesquisa dos patógenos reconhecidos como principais indicativos de manipulação inadequada e consequente contaminação desse alimento. De 57 amostras analisadas verificou-se que 3 (5,5%) delas apresentava o número de mesófilos totais acima do limite permitido, e que todas as amostras foram positivas para enterobactérias, sendo 10 (18,5%) dessas foram identificadas como *Escherichia coli*. Ainda em 35 amostras (65%) foram detectadas para o gênero *Staphylococcus* dos quais 10 (29%) foram identificados como *Estafilococos* coagulase positiva, pelos quais o teste de sensibilidade a antimicrobianos mostrou uma cepa resistente a eritromicina. Uma amostra foi positiva para *Clostridium perfringens* cuja a presença não é permitida nas normativas vigentes. O Número Mais Provável de coliformes totais foi confirmado em 89% das amostras e 56% foram positivas para NMP de coliformes termotolerantes; duas amostras de coliformes totais e uma de coliforme termotolerante estavam fora dos padrões. Conclui-se que a conservação, a manipulação e o armazenamento de frango são de grande importância, uma vez que a presença dos microrganismos encontrados pode ser responsável pela deterioração dos alimentos e intoxicações alimentares. A resistência a eritromicina é preocupante, pois ainda é considerado um antibiótico seguro para medidas terapêuticas.

PALAVRAS CHAVE: qualidade microbiológica, carne de frango, miúdos de frango

MICROBIOLOGICAL QUALITY OF BREAST, THIGH AND HEART OF CHICKENS FROM MARKET IN THE CITY OF JABOTICABAL, SP, BRAZIL.

SUMMARY

Carcasses and offal of chickens may carry pathogenic bacteria to humans, causing food poisoning. Contamination of chicken meat may occur from its creation to the manipulation of parts during and after the sale. Considering this, the objective was to evaluate the microbiological quality of breast, thigh and heart of chicken sold in six different establishments in the town of Jaboticabal, through the detection of the pathogens recognized as the key indicators of mishandling and resulting contamination of food. In 57 samples it was found that 3 (5.5%) of them had the total number of bacteria above the limit, and that all samples were positive for Enterobacteriaceae, 10 (18.5%) of these were identified as *E. coli*. Also in 35 samples (65%) were detected for the genus *Staphylococcus* of which 10 (29%) were identified as coagulase-positive staphylococci, for which the test disk diffusion showed a strain resistant to erythromycin. A sample was positive for *Clostridium perfringens* whose presence is not allowed under current regulations. The most probable number of coliforms was confirmed in 89% of the samples and 56% were positive for MPN of coliforms, two samples of total coliform and thermotolerant coliform were out of the box. We conclude that the conservation, handling and storage of chicken are of great importance, since the presence of microorganisms may be found responsible for food spoilage and food poisoning. Resistance to erythromycin is worrisome because it is still considered a safe antibiotic for therapeutic measures.

KEYWORDS: microbiological quality, chicken meat, offal of chicken

I. INTRODUÇÃO

Vários fatores favorecem o consumo da carne de frango, pois além de ser um alimento de alto valor nutritivo, é economicamente acessível, apresenta melhor digestibilidade, menor valor calórico e níveis de colesterol, quando comparadas com as carnes bovinas, sendo recomendada para recuperação de funções fisiológicas de indivíduos imunocomprometidos. Porém, devido à excelente capacidade nutritiva, é um alimento altamente perecível (LEITE e FRANCO, 2007).

A carne de aves encontra-se entre os alimentos que estão relacionados com maior frequência nos surtos de doenças transmitidas por alimentos, apresenta seu consumo aumentado nos últimos anos, quer em decorrência da elevação do preço de outras fontes protéicas de origem animal, quer em consequência da alteração de hábitos alimentares da população (VALERIANO, et al., 2003).

Muitos estudos têm demonstrado e enfatizado o papel dos alimentos produzidos, processados e conservados em condições inadequadas na transmissão de agentes patogênicos ao ser humano, podendo seu consumo acarretar risco à saúde (LOBO, et al., 2001). A carne de frango se destaca entre os alimentos envolvidos nos surtos de toxinfecções alimentares (MOUNTNEY, et al., 1976; SILLIKER, et al., 1980). Durante o processamento de carcaças de frango, podem ocorrer à contaminação pelo próprio ambiente, manipuladores e contaminação cruzada de outras aves. O rápido crescimento da indústria avícola proporcionou uma fonte de proteína rapidamente disponibilizada e de custo reduzido quando comparada a produção de carne bovina, mas também aumentou a taxa de infecção das aves e conseqüentemente uma maior contaminação das carcaças (FREITAS, et al., 2001; SILVA, 1995; VIEIRA et al., 1997).

Diferentes microrganismos têm sido isolados em carne de frango. Alguns sorogrupos de *Escherichia coli*, presente nos intestinos, podem provocar diversas patologias no homem e animais. Sabe-se que a inoculação oral de *Escherichia coli*

em aves jovens determina o aparecimento de bacteremia e prejudica o seu desenvolvimento (ANDREATTI FILHO *et al.*, 2009).

O *Staphylococcus aureus* encontra-se presente na cama de frango e pode ser o causador de infecções ou coadjuvante no agravamento de outras infecções levando a um menor desempenho zootécnico. Para a microbiologia de alimentos, esse microrganismo, especificamente o *Staphylococcus aureus*, também merece destaque pela sua alta frequência em intoxicações alimentares causadas pelo consumo de alimentos contendo enterotoxinas termoestáveis.

A Enterite Necrótica tem como agente o *Clostridium perfringens* tipo A e C e se apresenta como uma enterotoxemia aguda não-contagiosa, com início súbito, caracterizando-se por necrose confluyente do intestino delgado, que, em infecções subclínicas, provoca redução na absorção dos nutrientes e, conseqüentemente, menor ganho de peso diminuindo a conversão alimentar. É observada principalmente em animais jovens e o agente é capaz de produzir vários tipos de toxinas (SCHOCKEN-ITURRINO *et al.*, 2000) capazes de contaminar o homem.

As aves encaminhadas para o abate normalmente são a fonte inicial de contaminação, e o número de microrganismos presentes nas aves pode ser influenciado pelas condições higiênicas de abate e processamento. Desta maneira, a pesquisa de microrganismos patogênicos e/ou indicadores auxilia na verificação da qualidade do alimento consumido (LÍRIO *et al.*, 1998).

A presença de bactérias mesófilas em grande número indica matéria-prima excessivamente contaminada, limpeza e desinfecção de superfícies inadequadas, higiene insuficiente na produção e condições inapropriadas de tempo e temperatura durante a produção ou conservação dos alimentos (SILVA *et al.* 1997).

Os antimicrobianos primariamente utilizados apenas como medida terapêutica passaram, a serem utilizados na produção animal em doses subterapêuticas como método profilático a infecções e como promotores de crescimento, melhorando assim o ganho de peso e aumentando a eficiência alimentar. Apesar das vantagens do seu uso, a segurança dos antibióticos começou a ser questionada, principalmente pelo uso rotineiro desses aditivos na

alimentação das aves (ROSTAGNO *et al.* 2003). A utilização de antibióticos como promotores de crescimento pertencente aos mesmos grupos de drogas empregadas na terapêutica determinaram o aparecimento de formas microbianas resistentes e prejudiciais à saúde animal e humana, despertando a atenção das autoridades governamentais envolvidas com a saúde pública (MILTEMBURG, 2000; SATO *et al.* 2002).

Apesar de não ser clara a associação entre o uso de aditivos antimicrobianos na unidade de produção animal, o desenvolvimento de resistência e a sua transferência à população humana, vários estudos epidemiológicos sugerem que o consumo de derivados animais seja uma possível via de transmissão de bactérias resistentes (SANTOS *et al.*, 2004).

II. REVISÃO DE LITERATURA

2.1.Comercialização e qualidade da carne de frango

A carne de frango e seus subprodutos contêm uma alta qualidade protéica podendo assim ser uma boa alternativa para o consumo. Isto reflete na produção que está crescendo cada vez mais, colocando o país em posição de destaque no cenário mundial (GIROTTTO; MIELE, 2004). Devido a sua qualidade protéica e seu preço mais acessível em relação aos outros tipos de carnes (PONTES, 2004), apresenta melhor digestibilidade, menor valor calórico e níveis de colesterol, quando comparadas com as carnes bovinas (LEITE e FRANCO, 2006). Em países desenvolvidos é cada vez maior a preocupação com saúde, com isso faz com que haja um aumento na procura de alimentos naturais como frutas, vegetais e carnes brancas (GEHLHAR; REGML, 2005; CARVALHO; SILVA; NEGRI NETO, 2000).

Os microrganismos estão intimamente associados com a disponibilidade, a abundância e a qualidade do alimento para consumo humano. Alimentos podem ser facilmente contaminados durante a manipulação e processamento. Após ter sido contaminado, o alimento serve como meio para o crescimento de microrganismos. Se esses microrganismos tiverem condições para crescer, podem mudar as características físicas e químicas do alimento podendo causar sua deterioração e em muitos casos podem também ser responsáveis por intoxicações e infecções transmitidas por alimentos (PELCZAR Jr. et al., 1996), uma vez que esses microrganismos são capazes de produzir toxinas, podem assim, causar riscos a saúde do consumidor quando ingeridos.

Bactérias patogênicas que se destacam na maioria das infecções e toxiinfecções alimentares são *Salmonella spp.*, *Escherichia coli*, Clostrídio Sulfito Redutor e Estafilococos coagulase positivo. Estes microrganismos estão entre os principais causadores de toxinfecção alimentar originadas a partir de carnes cruas e processadas e a ambientes e instalações de abatedouros (BOULOS et al. 1999).

São várias as fontes de contaminação que podem ocorrer nos produtos de origem animal, a microbiota do próprio animal, o processamento do produto por

meio da água, as instalações, os equipamentos e os manipuladores. A qualidade microbiológica de produtos crus depende do controle desenvolvido durante a produção, preparação, armazenamento e apresentação para a comercialização (BORGES *et al.*, 2002).

De modo geral, as análises microbiológicas devem ser realizadas com o objetivo de avaliar a qualidade microbiológica do processo produtivo e do alimento visando diagnosticar um possível agente etiológico causador de surto de toxiinfecção alimentar. Além de avaliar o grau de contaminação por microorganismos deteriorantes, bem como de orientar o monitoramento, indicando medidas corretivas em pontos críticos de controle (ABERC, 2000).

O desenvolvimento na produção e industrialização de alimentos de origem animal sofreu inúmeros avanços, mas ainda continuam a ocorrer surtos de doenças transmissíveis por alimentos (BRASIL, 2001).

As toxiinfecções alimentares têm sido reconhecidas como o problema de saúde pública mais abrangente no mundo atual, capaz de causar importante na diminuição da produtividade, e perdas econômicas que afetam os países, empresas e simples consumidores (MICHELOTTI, 2002; NASCIMENTO, 2007).

2.2. Microrganismos presentes na carne de frango

2.2.1. Mesófilos totais

A pesquisa dos microrganismos indicadores é utilizada para avaliar a qualidade microbiológica dos alimentos e apontar riscos de contaminações de origem fecal com a provável presença de patógenos ou deterioração do alimento, além das indicações relevantes sobre as condições higiênico-sanitárias durante o processamento, a produção e o armazenamento (FRANCO e LANDGRAF, 1996). A maioria dos microrganismos que se encontra nas aves vivas são os aeróbios mesófilos, e poucos conseguem se desenvolver em temperaturas inferiores a 7º C. Sua contagem tem sido usada como indicador de qualidade higiênica dos

alimentos e, quando presente em grande número, indica falhas durante a produção (CARDOSO *et al.*, 2005).

A contagem padrão de mesófilos totais (Silva *et al.*, 1997) em placas tem sido usada como indicador da qualidade higiênica dos alimentos e pode estar relacionado com o tempo útil de conservação. Sua presença em grande número indica matéria-prima excessivamente contaminada, limpeza e desinfecção de superfícies inadequadas, higiene insuficiente na produção e condições inapropriadas de tempo e temperatura durante a produção ou conservação dos alimentos (SIQUEIRA, 1995).

2.2.2. Enterobactérias e *Escherichia coli* e Numero mais Provável de Coliformes Totais e Termotolerantes

A família Enterobacteriaceae são bacilos Gram-negativos, não formadores de esporos e inclui cerca de 20 espécies, dentre as quais encontram-se tanto bactérias originárias do trato gastrointestinal de humanos e outros animais de sangue quente, como também diversos gêneros e espécies de bactérias não-entericas, como *Serratia sp.* e *Aeromonas sp.* (LEITE, e FRANCO, 2006).

A *Escherichia coli* na avicultura comercial aparece como um dos mais freqüentes agentes etiológicos de doenças infecciosas e intoxicações alimentares, causando enormes prejuízos econômicos (SILVA, 1992). O termo cocobacilose aviária refere-se a qualquer infecção, localizada ou sistêmica, causada pela *E. coli* patogênica das aves, sendo comum encontrar no trato intestinal de aves, concentrações acima de 10^6 unidades formadoras de colônias (UFC) de *E. coli* por grama de fezes, sendo que 10-15% destas são potencialmente patogênicas. Há uma excreção continua de *E. coli* portadoras de fatores de virulência através das fezes, o que torna a sua distribuição cosmopolita. A bactéria pode permanecer nas criações por longos períodos, contaminando o alimento e a água que servirão como via de disseminação (BARNES *et al.*, 2003).

Os grupos de coliformes totais e termotolerantes colonizam o trato intestinal de animais de sangue quente, incluindo os humanos, e tem sido empregados como indicadores de qualidade higiênica por muitos anos (CALCI *et al*, 1998).

2.2.3. *Salmonella* sp

As bactérias do gênero *Salmonella* ocorrem geralmente nos animais, especialmente nas aves e nos suínos, estando presente também nos seres humanos, alimentos e meio ambiente, podendo ser patogênica para humanos e muitas espécies de animais (HOLT, J.G. et al., 1994).

Destaca-se o papel especialmente importante das aves dentro da cadeia epidemiológica como reservatórios, pois podem ser portadoras e excretar continuamente salmonela nas fezes (ALMEIDA, R.C.C. & SCHENEIDER, 1993).

Durante o processamento de carcaças de frango, pode ocorrer à contaminação do próprio ambiente, dos manipuladores e contaminação cruzada de outras aves contaminadas. O rápido crescimento da indústria avícola proporcionou uma fonte de proteína rapidamente disponibilizada e de custo reduzido, mas também aumentou a taxa de infecção das aves e conseqüentemente a contaminação das carcaças (GAST, R. K.,1997; SILVA, E. N., 1995; VIEIRA, C. R. N.,1997).

Infecções de aves domésticas por *Salmonella* costumam trazer grandes prejuízos tanto para a indústria avícola como para a sociedade como um todo. Os custos associados com salmonelose em aves recaem em duas amplas categorias. A primeira se refere aos gastos associados com a doença humana, causada pelo consumo de produtos avícolas contaminados. Em países que possuem vigilância e notificação de salmonelose humana observa-se que a doença é responsável por incidências anuais significativas e, conseqüentemente, gera um custo social considerável (SOCKETT, P. N., 1995).

2.2.4. *Staphylococcus* sp e *Staphylococcus coagulase positiva*

O gênero *Staphylococcus* é o principal membro da Família Micrococeae, e apresenta aproximadamente 29 espécies. Destas, apenas 3 a 4 espécies apresentam potencial patogênico para as aves comerciais e silvestres, sendo a espécie mais importante e patogênica, *Staphylococcus aureus* (FERREIRA & FERREIRA 2000).

Esta bactéria habita com frequência a nasofaringe do ser humano, a partir da qual pode facilmente contaminar as mãos do homem e penetrar no alimento, causando a intoxicação alimentar estafilocócica (MURRAY *et al.*, 2000). Nos humanos, o principal reservatório de *Staphylococcus aureus* são a pele, boca e fossas nasais. Desta forma, em geral, a sua presença em alimentos é interpretada como indicativo de contaminação a partir de manipuladores de alimentos, bem como da limpeza e sanitização inadequada dos materiais e equipamentos (DEVRIESE *et al.*, 1975; SIQUEIRA, 1995). Geralmente, os alimentos envolvidos em intoxicações estafilocócicas são aqueles de elevado valor protéico, que sofrem aquecimento durante o processamento, são contaminados posteriormente e deixados em temperatura elevada por várias horas (GENIGEORGIS, 1989). A carne de frango com altos teores protéicos, alta disponibilidade de água e pH próximo à neutralidade favorece a multiplicação bacteriana e, no caso do *Staphylococcus*, estes aumentam sua capacidade de produzir enterotoxinas (EVANGELISTA, citado por NASCIMENTO *et al*, 1999)

Os portadores e os manipuladores de matérias primas de alimentos contaminados com *Staphylococcus aureus* são importantes fontes de contaminação dos alimentos (HOLT, J.G. *et al.*, 1994). Neste contexto, o aquecimento do alimento após sua manipulação torna-se relevante na prevenção de toxinfecções, contudo a toxina do *S. aureus* é termoresistente. Por isso, os cuidados como a refrigeração devem ser tomados após o aquecimento, caso contrário, o microrganismo poderá multiplicar-se e produzir toxina (MOTTA e BELMONT, 2000).

O *Staphylococcus aureus* está frequentemente presente em carnes de frango crua ou cozida, que podem estar envolvidas com intoxicações alimentares (SHIOZAWA *et al*, 1980). Além de ser considerada um poderoso agente de infecção hospitalar e vem apresentando resistência a vários antibióticos (Souza, 1998).

2.2.5. Antimicrobianos

A difusão do uso clínico da penicilina trouxe ao conhecimento o fato de que entre microrganismos sensíveis ao antibiótico havia o encontro de exemplares resistentes, sendo verificado por Kirby, em 1944, que alguns *Staphylococcus aureus* isolados de material clínico mostravam-se resistentes à penicilina devido à produção de penicilinase. Em 1946, nos Estados Unidos da América, cerca de 5% de estafilococos isolados de pacientes ou portadores eram resistentes à penicilina. No Brasil, atualmente, acima de 80% dos *S. aureus* isolados de pacientes hospitalizados e cerca de 70% dos isolados de pacientes da comunidade apresentam resistência às penicilinas naturais e, por extensão, à ampicilina e amoxicilina (DUARTE, et al., 1994 Rangel, et al., 1995; PINTO, et al., 1996).

O uso indiscriminado ou incorreto de antibióticos na medicina humana, na veterinária e na agricultura, tem contribuído muito para o aumento de resistência dos microrganismos a esses agentes (WHO, 2000). O uso de antimicrobianos está relacionado com seleção de bactérias resistentes no ecossistema de uso. Estas bactérias e seus genes de resistência podem passar entre humanos, animais e outros ecossistemas via contato com animais ou através do consumo de alimento ou água contaminada (WHO, 1997; PALERMO-NETO, 2002)

2.2.6. *Clostridium perfringens*

O *Clostridium perfringens* é uma bactéria patogênica importante que preocupa a criação de aves. É uma bactéria em forma de bastonete, Gram positivo, anaeróbia, com esporos subterminais e centrais (SCHOCKEN-ITURRINO

& ISHI, 2000). Produz vários tipos de toxinas, capazes de provocar patologias diversas, principalmente a enterite necrótica em aves (CARTER, 1998). Esta doença é uma enterotoxemia aguda não-contagiosa, com início súbito, e apresenta necrose confluyente do intestino delgado, que, em infecções subclínicas, provoca redução na absorção dos nutrientes e, conseqüentemente, menor ganho de peso agravando a conversão alimentar. A enterite necrótica é encontrada principalmente em animais jovens, sendo causada pelos tipos A e C de *Clostridium perfringens* podendo contaminar o homem. Análises realizadas em matérias-primas usadas em rações como farinhas de penas farinha de carne e vísceras têm mostrado diversos níveis de contaminação por *C. perfringens*. Acredita-se que mesmo farinhas com baixa contaminação por *C. perfringens* podem servir de inóculo no intestino de aves podendo assim transmitir para o homem (SCHOCKEN-ITURRINO & ISHI, 2000).

De acordo com PARDI, *et al.* (1995) as gastronterites provocadas pela toxina do clostrídio sulfito redutor permanecem como uma das doenças de origem alimentar de maior ocorrência

III. OBJETIVOS

O objetivo do trabalho foi avaliar a qualidade microbiológica de peito, coxa e coração de frango, comercializados em diferentes estabelecimentos da cidade de Jaboticabal, SP. Determinando:

1. Contagem total de mesófilos, enterobactérias e *Escheríchia coli*, *Salmonella sp*, *Clostridium perfringens* e *Staphylococcus sp*.
2. Verificar os Estafilococos coagulase positiva e sua susceptibilidade aos antimicrobianos.
3. Determinar o Número Mais Provável de coliformes totais e termotolerantes.

IV. MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi desenvolvido nas dependências do Laboratório de Anaeróbios, pertencente ao Departamento de Patologia Veterinária da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias FCAV/UNESP, no período de agosto de 2008 a abril de 2009.

As amostras de frango foram obtidas em seis diferentes estabelecimentos comerciais do município de Jaboticabal. E tinham como origem dois diferentes abatedouros, sendo o abatedouro A os estabelecimentos 1, 2 e 3 e o abatedouro B os estabelecimentos 4, 5 e 6.

Microrganismos e condições de cultivo

Para o isolamento dos microrganismos: Mesófilos totais, *Staphylococcus sp*, *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens*, *Salmonella sp* e detecção do número mais provável de coliformes totais e termotolerantes deste trabalho, as amostras foram coletadas nas bandejas de forma homogênea, ou seja, coletadas em 5 pontos diferentes ("X") e levada ao laboratório em caixas isotérmicas. As amostras foram processadas em até trinta minutos depois da coleta.

No laboratório, foram pesados 25g de cada amostra e transferidos para 225 mL de água peptonada a 1% (DIFCO) estéril e homogeneizadas. A partir da diluição inicial, foram realizadas diluições seriadas até 10^{-6} .

Contagem padrão para mesófilos totais

Para a contagem de mesófilos totais, 1mL das diluições até 10^{-6} foram semeadas em duplicata em placas de Petri, nas quais foram vertidos 15mL de meio de cultura Plate Count Agar (PCA, Accumedia®). A semeadura foi realizada pelo método de pour-plate e as placas foram incubadas em condições de aerobiose à temperatura de 37°C durante 24 horas.

Após a incubação as placas que apresentavam entre 30 e 300 colônias foram contadas e os resultados foram dados em Unidades Formadoras de Colônias (UFC)/g de frango.

Contagem de Enterobactérias e isolamento de *Escherichia coli*

Para a contagem e isolamento de *Escherichia coli*, foram semeados 1mL das diluições, em duplicatas, em placas de Petri, nas quais foram vertidos 15mL de meio MacConkey (OXOID®). As placas foram incubadas em condições de aerobiose à 37°C durante 24 horas.

Após a incubação as placas que apresentavam entre 30 e 300 colônias foram contadas e os resultados foram dados em Unidades Formadoras de Colônias (UFC)/g de frango.

As colônias características de *Escherichia coli* foram, com uma agulha de platina, transferidas para tubos contendo meio IAL (Meio Rugai com Lisina, Instituto Adolfo Lutz, Newprov®) e incubados à 37°C por 24 horas. Após esse período a leitura dos tubos foi comparada pela tabela padrão para esse teste e assim identificados como pertencentes à *Escherichia coli*.

Contagem de *Staphylococcus sp* e *Staphylococcus coagulase positiva*

Para a contagem de *Staphylococcus sp* foi transferido 0,1mL de cada diluição, em duplicata, para placas já contendo o meio Baird Parker (Baird Parker, OXOID®). A semeadura foi feita em superfície com o auxílio de uma alça de Drigalsky. As placas foram incubadas em condições de aerobiose à 37°C durante 24 horas.

Após a incubação as placas que apresentavam entre 30 e 300 colônias foram contadas e os resultados apresentados em Unidades Formadoras de Colônias (UFC)/g de frango.

As colônias características foram repicadas em caldo BHI (Brain Heart Infusion, Accumedia®) e incubadas à 37°C por 24 horas. Do BHI foi realizada

prova da coagulase em tubo para determinação de *Staphylococcus* coagulase positiva, a qual coloca-se a cultura junto com o plasma de coelho diluído 1:5 e incuba-se por 24 horas, sendo que é realizada leitura nas primeiras 4 horas e depois após 24 horas. A reação positiva é compatível à coagulação nas 24 horas.

Contagem de *Clostridium sp* e *Clostridium perfringens*

Para a contagem de *Clostridium sp* as diluições 10^{-1} e 10^{-2} foram submetidas a um choque térmico para germinação dos esporos e redução dos contaminantes, depois semeado 1mL em placas de Petri, em duplicata, e vertido 15mL do meio SPS (Sulfite Polymyxin Sulfadiazine, Difco®). As placas foram incubadas em condições de anaerobiose (jarras anaeróbias contendo Gás Pack®) à 37°C por até 72 horas.

As placas contendo colônias sulfito-redutoras foram contadas e as colônias transferidas para caldo BHI e incubadas em condições anaeróbias à 37°C por 24 a 48 horas.

Para identificação do *Clostridium perfringens* as culturas que cresceram em BHI foram confrontadas as seguintes provas bioquímicas: gelatinase, motilidade, fermentação de lactose, maltose, sacarose, salicina, produção de indol, nitrato e H₂S de acordo com CARTER *et al* (1995). As amostras positivas para estes testes foram confirmadas como *Clostridium perfringens*.

Presença/ Ausência de *Salmonella sp*

A presença de *Salmonella sp* foi pesquisado a partir da primeira diluição das amostras de cortes e coração de frangos, a qual foi incubada à 42°C durante 24 horas. Após esse período 1mL de cada amostra foi passado para 10mL de caldo Selenito e 10mL para caldo Rappaport os quais foram incubados à 37 e à 42°C, respectivamente, durante 24 horas. Uma alçada dessas amostras foram passadas para Ágar MacConkey e para Ágar XLD, semeadas em superfície e incubadas à 37°C por 24 horas. As colônias características foram transferidas para

tubos contendo meio TSI (Triplice Soya Agar) os quais foram incubados à 37°C durante 24 horas. As colônias características foram realizadas PCR real time (BAX PCR, Q7, Applied Biosystems®) o qual, emite uma curva de crescimento bacteriano que significa que apresenta o DNA de Salmonela presente na amostra, sendo seguidas as instruções do fornecedor do kit (Applied Biosystems).

Número Mais Provável de coliformes totais e termotolerantes

Para avaliar o Número mais provável de coliformes totais e termotolerantes, as três primeiras diluições foram passadas para 3 tubos de Caldo Lauril Sulfato de Sódio (Accumedia®) com tubos de Durhan invertidos e incubados à 37°C durante 24 a 48 horas. As amostras positivas foram passadas para tubos contendo caldo Verde Brilhante (Accumedia®) e incubados à 37°C por até 48 horas. Os tubos positivos foram passados para caldo E.C. (*Escherichia coli*, Accumedia®) e esses foram incubados à 45°C por até 48 horas. A quantidade de tubos positivos no caldo verde brilhante e no caldo E.C. foram analisados pela tabela do NMP de coliforme, analisando os valores do caldo verde brilhante para coliformes totais e os valores do caldo E.C. para coliformes termotolerantes.

Delineamento experimental

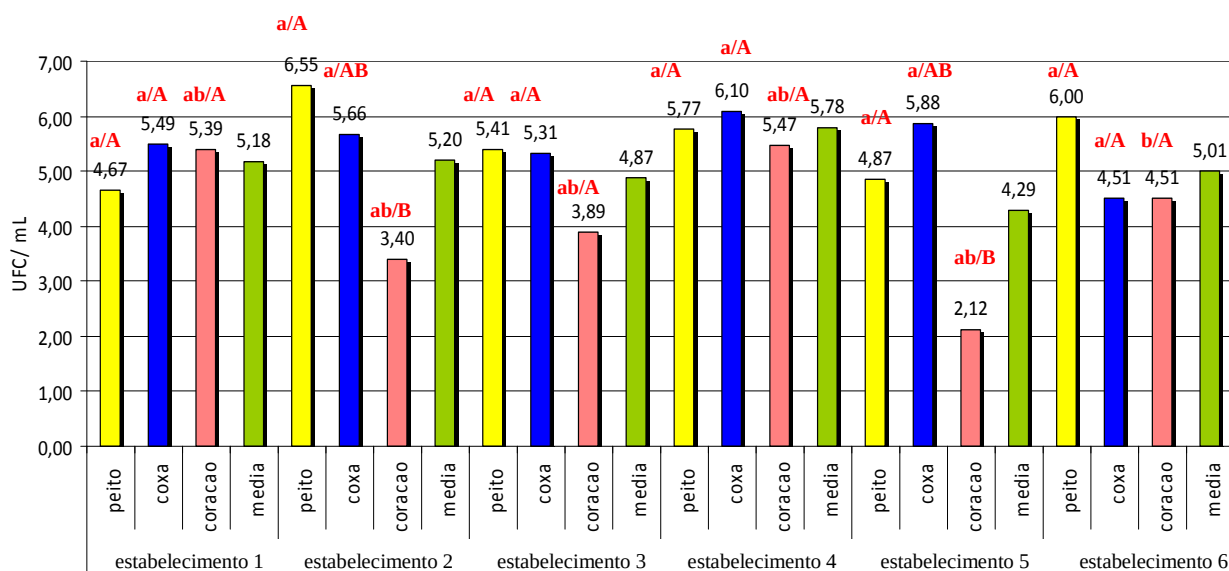
O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado num esquema de parcelas subdivididas, sendo a parcela principal os estabelecimentos de amostragem e as sub-parcelas os cortes peito, coxa e coração de frangos. Os dados foram analisados estatisticamente pelos procedimentos da análise de variância e as médias comparadas pelo teste Tukey ao nível de significância de 5%, utilizando o programa de Análise Estatística ESTAT, desenvolvido pelo Departamento de Ciências Exatas da FCAV/UNESP.

V. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Avaliação da qualidade microbiológica através dos mesófilos totais

Os resultados das análises microbiológicas de mesófilos totais realizadas em todas as amostras de peito, coxa e coração de frango, estão apresentados na figura 1.

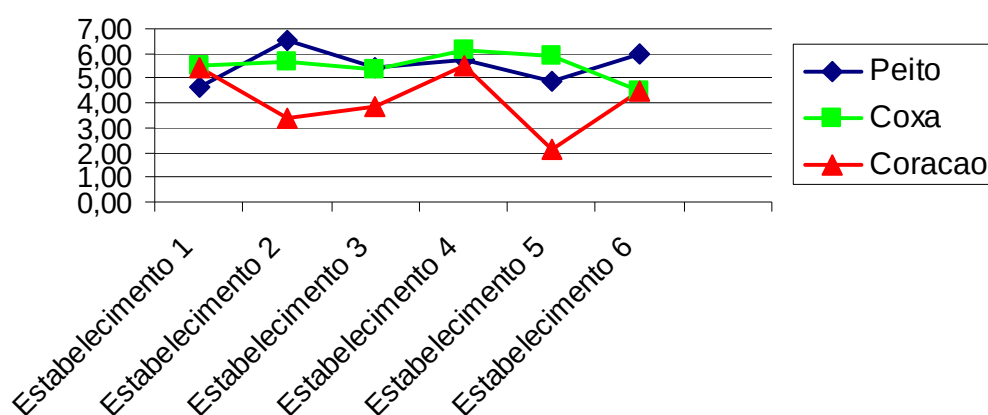
Figura 1. Análise microbiológica dos cortes de frango provenientes de diferentes estabelecimentos comerciais do município de Jaboticabal, SP em relação às bactérias mesófilas.



Os valores médios para bactérias mesófilas foram de 5×10^5 UFC/log. De acordo com Silva *et al.* (1997) As contagens dessas bactérias têm sido usadas como indicador da qualidade higiênica dos alimentos, sendo possível questionar tanto por condições higiênicas, de manipulação e de armazenamento dos alimentos, como os riscos potenciais de saúde que podem apresentar ao consumidor (GOMES e FURLANETTO 1987). A literatura informa que uma contaminação de 10^6 UFC/g de bactérias mesófilas é capaz de causar

deterioração nos alimentos (BOURGEOIS *et al.*, 1993). Dessa forma, três amostras estão acima deste valor, sendo duas de peito e uma de coxa, dos lugares dois, seis e quatro respectivamente, apresentados na figura 2 que apresentam as contagens dos cortes em relação aos diferentes estabelecimentos de coleta.

FIGURA 2. A figura 2 apresenta os valores das contagens de mesófilos totais em relação aos diferentes estabelecimentos comerciais.



Avaliação da contagem de enterobactérias e *Escherichia coli*

A contagem média de enterobactérias foi de 4×10^5 UFC/log. Os lugares dois e cinco apresentaram valores significativos ($p > 5\%$) em relação aos cortes de peito e coração no estabelecimento 2 e coxa e coração no estabelecimento 5, os quais podem ser observados na figura 3 e 4. Das contagens totais de enterobactérias, 10 (18,5%) foram identificados como *Escherichia coli*.

Figura 3. Análise microbiológica dos cortes de frango provenientes de diferentes estabelecimentos comerciais do município de Jaboticabal, SP em relação às contagens de enterobactérias.

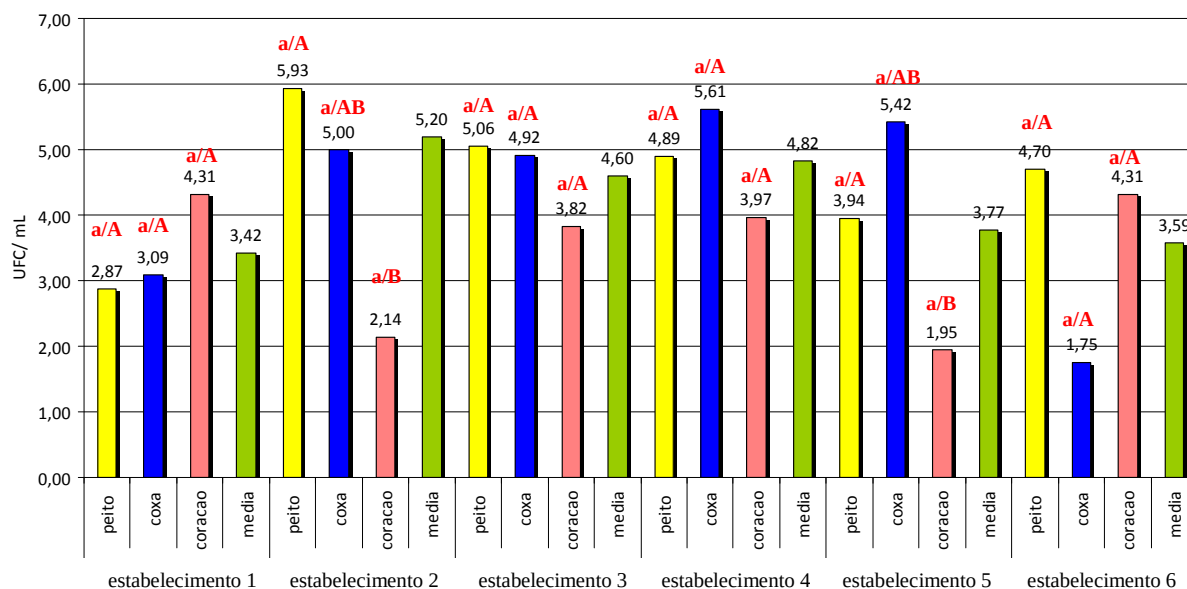
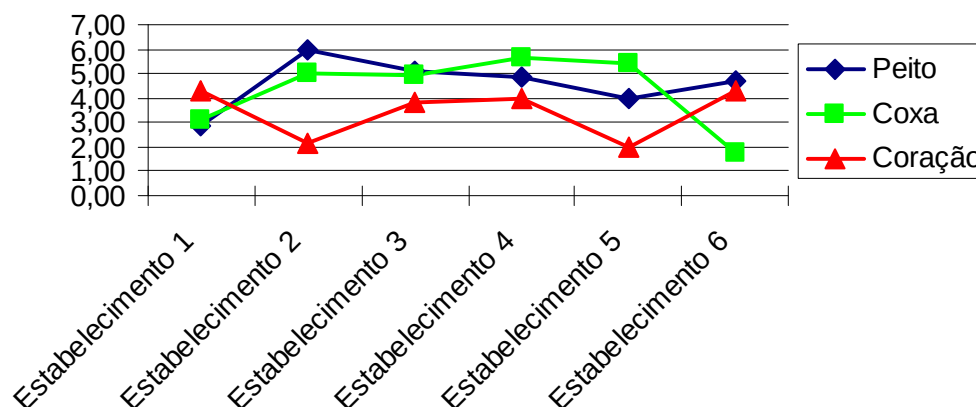


FIGURA 4. A figura 4 apresenta os valores da contagem total de enterobactérias em relação aos diferentes estabelecimentos comerciais.



Avaliação do Número mais Provável de coliformes totais e termotolerantes

A análise do número mais provável de coliformes está apresentada na tabela 1 a qual mostra que 16 das amostras analisadas apresentaram contaminação por

coliformes, sendo que 3 das amostras de coliformes totais e 1 das amostras de coliformes termotolerantes foram consideradas insatisfatórias para o consumo, pois estavam maiores que 10^4 . A normativa vigente (BRASIL.2001) exige a numeração de coliformes termotolerantes como prova analítica para liberação de carnes de aves para consumo (LEITE e FRANCO, 2007), porém, não deixa claros os valores para todos os cortes. Essa mesma normativa estabelece contagens de até 10^4 para carnes e até 10^5 para miúdos. Entretanto, apresenta que contagens entre 10^4 e 10^5 ficam entre o limite do aceitável e inaceitável para o consumo de miúdos, o que deixa a amostra de coração do estabelecimento 4 entre o satisfatório e o insatisfatório.

Tabela 1. Apresenta os valores do Número Mais Provável de Coliformes totais e termotolerantes das amostras analisadas.

Número Mais Provável de Coliformes Totais e Termotolerantes				
Estabelecimento		Coliformes Totais	Coliformes Termotolerantes	Situação
1	Peito	9,3x10 ¹	4,3x10 ¹	Satisfatória
	Coxa	7,5x10 ¹	2,3x10 ¹	Satisfatória
	Coração	4,3x10 ¹	3,6x10 ¹	Satisfatória
2	Peito	2,9x10 ²	1,6x10 ²	Satisfatória
	Coxa	2,9x10 ²	2,9x10 ²	Satisfatória
	Coração	0	0	Satisfatória
3	Peito	2,4x10 ²	2,3x10 ¹	Satisfatória
	Coxa	1,1x10 ⁴	1,1x10 ⁴	Insatisfatória
	Coração	0	0	Satisfatória
4	Peito	2,3x10 ¹	3,6x10 ¹	Satisfatória
	Coxa	9,3x10 ¹	9,3x10 ¹	Satisfatória
	Coração	1,1x10 ⁴	1,1x10 ⁴	Satisfatória
5	Peito	9,3x10 ¹	0	Satisfatória
	Coxa	1,1x10 ⁴	0	Satisfatória
	Coração	9,4x10 ¹	0	Satisfatória
6	Peito	9,4x10 ¹	0	Satisfatória
	Coxa	9,4x10 ¹	0	Satisfatória
	Coração	9,4x10 ¹	0	Satisfatória

Avaliação da contagem de *Staphylococcus sp* e *Staphylococcus coagulase positiva*

A figura 5 e 6 apresentam as contagens de *Staphylococcus sp* isolados de peito, coxa e coração das amostras de frango analisadas.

Figura 5. Análise microbiológica dos cortes de frango provenientes de diferentes estabelecimentos comerciais do município de Jaboticabal, SP em relação ao *Staphylococcus sp.*

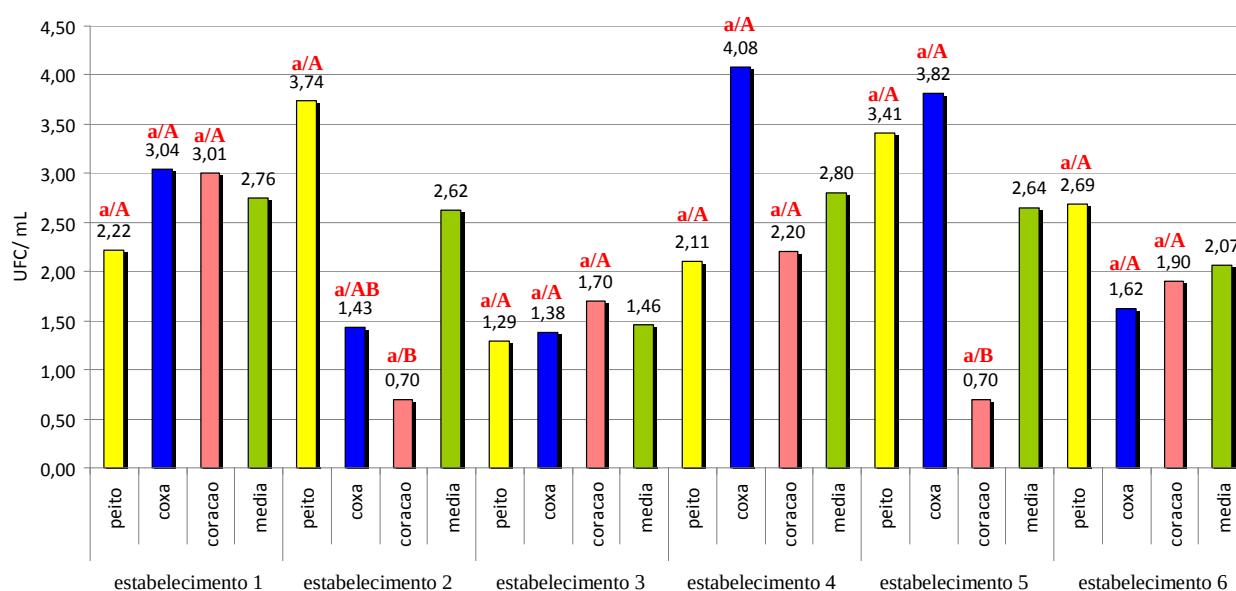
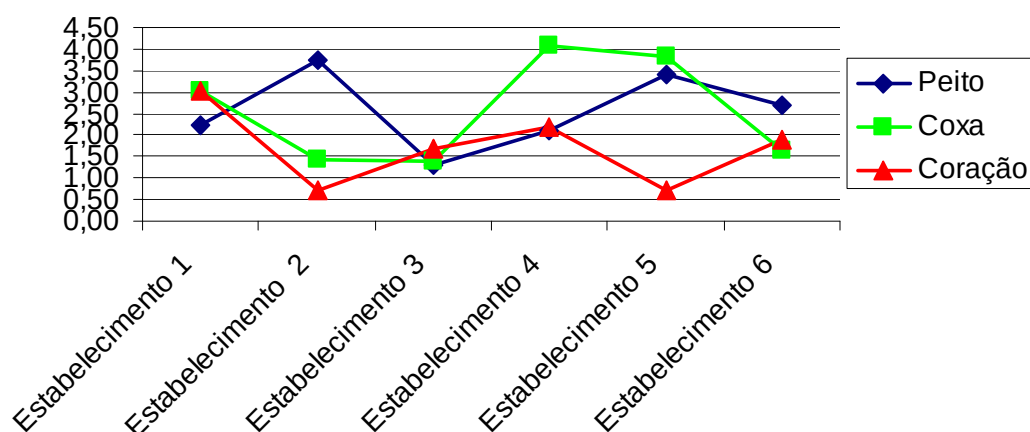


Figura 6. A figura 6 apresenta os valores das contagens de *Staphylococcus sp* entre os cortes e entre os estabelecimentos.



A contagem média para *Staphylococcus sp* foi de 2,3 UFC/log. Das 54 amostras analisadas 35 (65%) foram positivas para *Staphylococcus sp* e destas,

10 (29%) foram positivas para *Staphylococcus* coagulase positiva, das quais 5 (20%) foram isoladas de peito, 3 (6%) isoladas de coxa e 1 (3%) isoladas de coração. FREITAS, M.F.L *et al.* (2001) observaram nas carcaças de frango *in natura* contagens com variação de 10^3 a 10^4 UFC/g, neste trabalho as amostras para *Staphylococcus sp* variaram de 10^1 a 10^4 para os cortes de peito e coração e de 10^1 a 10^3 para os cortes de coxa. Treze (50%) das amostras de FERNANDES *et al.* (2009), estavam fora dos padrões estabelecidos por BRASIL (2001) para carnes resfriadas, ou congeladas “in natura” de aves. Segundo JAY (2005), amostras que apresentam contagem de *Staphylococcus spp.* acima de 5×10^3 UFC/g são inaceitáveis para o consumo. Portanto neste trabalho seis amostras estavam acima do padrão. Já OLIMPIO *et al.* (2001) relatam que trabalhando com vinte carcaças de frango no Estado do Rio de Janeiro, não observaram a presença de *Staphylococcus aureus* em nenhuma das amostras analisadas. Embora a legislação vigente não estabeleça padrões para este microrganismo, sabe-se que com a presença de *Staphylococcus sp* na matéria prima o processamento deve ser mais rigoroso, quanto aos métodos de conservação a frio (MESQUITA *et al.*, 2006) já que o aquecimento dos alimentos após sua manipulação torna-se relevante na prevenção de toxinfecções, contudo a toxina do *Staphylococcus aureus* é termoresistente (MOTTA e BELMONT, 2000).

Resistência a antimicrobianos dos *Staphylococcus* coagulase positiva

A resistência antimicrobiana é em muitas indústrias considerada um obstáculo para a exportação de carne de frango e por isso vários países estão cada vez mais exigentes para o consumo de carne, uma vez que essas podem ser consideradas um risco para a saúde pública. Neste trabalho os testes de sensibilidade a antimicrobianos mostraram-se sensíveis a 90% das cepas de *Staphylococcus* coagulase positiva isoladas, as quais foram sensíveis a Bacitracina, Cefalotina, Clindamicina, Cloranfenicol, Eritromicina, Gentamicina, Oxacilina, Penicilina, Sulfametoxazol e Tetraciclina. Uma das 10 amostras analisadas revelou-se resistente a Eritromicina. ADESIYUN E KWAGA (1984)

observaram resistência à eritromicina, em um estudo com cepas de *Staphylococcus aureus* provenientes de amostras de frango assado.

Avaliação da contagem de *Clostridium perfringens*

A média das contagens para *Clostridium sp* foi de 4,3 log por UFC/g. Na figura 7 Uma amostra de coração apresentou contagem média de 3×10^4 , valor esse capaz de provocar uma toxiinfecção, pois as legislações vigentes não permitem a presença de esporos de *Clostridium perfringens* em amostras de carne. Considerando isto uma das amostras de coração estava fora dos padrões estabelecidos, sendo essa identificada como *Clostridium perfringens*.

Avaliação da presença/ ausência de *Salmonella sp*

Muitos trabalhos relatam a presença de *Salmonella spp* em carne de frango. Porém MESQUITA, *et.al* (2006), FERREIRA, *et. al* (2008), DELÚ *et. al.* (2006) não verificaram a presença de *Salmonella sp* em nenhuma das amostras analisadas, resultado esse condizente com este trabalho. CONCEIÇÃO *et al.* (2008), analisando cortes de frango também tiveram dificuldade em isolar *Salmonella* quando fez um teste comparando duas metodologias e argumentou a dificuldade de isolar esse microrganismo. O presente trabalho teve o cuidado de submeter às amostras características de *Salmonella sp* a testes moleculares para confirmação. As colônias foram analisadas pelo PCR real time, BAX[®]Q₇ System, o qual as amostras positivas são gerados gráficos no sistema indicando a presença de DNA de *Salmonella sp*. Mesmo com essa ferramenta não foi possível o isolamento bacteriano.

Considerações Finais

Programas de conscientização pela vigilância sanitária nas escolas e nos estabelecimentos comerciais dos municípios seriam de grande importância uma

vez que apresentaria os riscos que podem ser provocados pela falta de higiene pessoal e ambiental.

A legislação também nem sempre estabelece padrões de contagens para os microrganismos patogênicos aos alimentos, dificultando assim a avaliação necessária para alguns tipos de cortes.

VI. CONCLUSÕES

- Em todos os estabelecimentos foi encontrado algum tipo de contaminação dos cortes de frango.
- As amostras de alguns estabelecimentos em relação aos microrganismos mesófilos totais, *Staphylococcus sp*, estafilococos coagulase positiva, coliformes totais e terotolerantes e *Clostridium perfringens* avaliados estavam impróprias para o consumo.
- A contaminação de alimentos por Estafilococos coagulase positiva é preocupante uma vez que essa bactéria é capaz de produzir uma toxina que é termorresistente, ou seja, não é destruída pelo cozimento.
- A legislação não permite a presença de esporos de *Clostridium perfringens*, portanto a amostra positiva deveria ser condenada pois a presente contagem seria capaz de causar uma intoxicação alimentar.
- A resistência a Eritromicina é preocupante uma vez que esse antimicrobiano é muito utilizado nas práticas médicas. Entretanto, observou-se apenas uma cepa resistente, mostrando assim um resultado ainda satisfatório.

VII. REFERÊNCIAS

ABERC. **Manual Aberc de práticas de elaboração e serviço de refeições para coletividades**. São Paulo, p. 136, 2000

ADESIYUN,A.A.; KWAGA, J.K.P. Antibigrams of *Staphylococcus aureus* isolates from same ready-to-eat products. **Journal of Food Protection.**, v.47, p.865-867, 1984.

ALMEIDA R. C. C.; SCHNEIDER, I, S. Aspectos microbiológicos e químicos de produtos alimentícios elaborados com carnes moídas vendidas no varejo no município de Campinas.**Revista Higiene Alimentar**, v. 2, n. 1/2, p. 37- 41, 1993.

ANDREATTI FILHO, R.L., *et al.* Pesquisa de Salmonella ssp em suabes de arrasto provenientes de granjas avícolas. **Veterinária e Zootecnia**, p.190-194, v.16, n1, março 2009.

AVISITE. Estatísticas e preços de carne de frango. Capturado em 20 de out. 2004. Online. Disponível na Internet: <http://www.avisite.com.br/noticias/default.asp>.

BARNES, H.J.; VAILLANCOURT, J.P.; GROSS, W.B. Colibacillosis. In.: SAIF, Y.M. **Diseases of Poultry**. 11 ed. Ames, Iowa: Iowa State Press, 2003, p.631-656.

BORGES, T.S.B.; FREITAS, A.S. Aplicação do Sistema Hazard Analysis and Critical Control Points (HACCP) no processamento de carne bovina fresca. **B. CEPPA**, v. 20, n. 1, p. 1-18, jan.-jun. de 2002.

BOURGEOIS,C. M.; *et al.* J. **Microbiologia alimentar**, v. 1. 2. ed. Zaragoza: Acribia, 1993.

Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001. **Regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos.** 2001. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.Br/Regis/reso1/12_oirac.num>. Acesso em 19 jan. 2002

CALCI, K.R., BURKHARDT III, W., WATKINS, W.D. *et al.* Occurrence of male-specific bacteriophage in fecal and domestic animal wastes, human feces and human-associated wastewaters. **Applied and Environmental Microbiology**, v.64, n.12, p.5027-5029, dec, 1998.

CARDOSO, L. S. P. *et al.* Pesquisa de *Salmonella* spp, coliformes totais, coliformes fecais e mesófilos em carcaças e cortes de frango. **Revista Higiene Alimentar**, v. 19, n. 128, p. 144-150, jan./fev. 2005.

CARTER, G.R. **Fundamentos de bacteriologia e micologia veterinária.** 3.ed. São Paulo: Roca, 1998. 249p

CARVALHO, M.A.; SILVA, C.R.L.; NEGRI NETO, A Exportações brasileiras de produtos agrícolas e mudanças na demanda mundial de alimentos. In: **Encontro nacional de Economia**, 28, Campinas/SP, Anais..., 2000.

CONCEIÇÃO, R.C.S. *et al.*; Detection of *Salmonella* sp in chicken cuts using immunomagnetic separation; **Brazilian Journal of Microbiology**. 2008, 39:173-177; ISSN 1517-8382.

DELÚ, M. A. F. ; SBAMPATO, C. G. ; MENDONÇA, A. T. ; PICCOLI, R. H. ; MAIA, S. C. Avaliação microbiologica de cortes de frango resfriado, comercializados no município de Lavras, MG. **Revista Higiene Alimentar**, v. 20, p. 83-85, 2006.

DEVRIESE, L. A.; DEVOS, A. H. ; VAN DAMME, L. R. Quantitative aspects of the *Staphylococcus aureus* flora of poultry. **Poultry Science**, v. 54, p. 95-101, 1975

DUARTE D, VERAS MA, MARTINS JA. Perfil evolutivo da resistência do *Staphylococcus aureus* A experiência do Hospital Adventista Silvestre. In: Programa Oficial e Resumo de Trabalhos do VIII Congresso Brasileiro de Infectologia, Porto Alegre. Resumo nº 91, p. 82, 1994.

FERNANDES *et al.* Contaminação por *Staphylococcus spp.*, *Salmonella spp.*, Coliformes totais e termotolerantes em carcaças de codornas (*Coturnix coturnix japonica*) comercializadas no município do Recife-PE. **Medicina Veterinária**, Recife, v.3, n.2, p.9-14, abr-jun, 2009. ISSN 1809-4678

FERREIRA, I. M., BONNAS, D. S., GUIMARÃES, E. C., REZENDE, M. T. N. P., ROSSI, D. A., **Veterinária Notícias**, Uberlândia, v. 14, n. 2, p. 9-12, jul./dez. 2008, Bacteriologia de “espetinhos de frango” fabricados no município de Uberlândia-MG sob inspeção municipal.

FRANCO, G. M. B. ; LANDGRAF , M . **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo; Editora Atheneu, 1996 . cap. 4, p. 33 - 81.

FREITAS, M.F.L. *et al.*, Cepas de *Staphylococcus spp.* Isoladas de carcaças de frango comercializadas na cidade do Recife – PE, Brasil. **Ciência Animal Brasileira** 2 (2): 139-145, julho/dezembro, 2001.

GAST, R. K., Paratyphoid infections. In: Calnek, B.N. *Diseases of poultry*. 10ed. Ames: Iowa State University Press,1997, p.97-121.

GEHLHAR, M.; REGML, A. Factores shaping global food markets. In: REGML, A.; GEHLHAR,M.; (eds.). **New directions in global food markets**. UDDA-Agricultura Information Bulletin, n.794, p.5-17, Feb. 2005.

GENIGEORGIS, C. Present state of knowledge on Staphylococcal intoxication. **Int. Journal of Food Microbiology**., v. 9, n. 4, p. 327-60, 1989.

GIROTTI, A.F.; MIELE, M. Situação atual e tendências para a avicultura de corte nos próximos anos. **Anuário Avicultura Industrial**, n.11, p.20-28, 2004

GOMES, M. F. F. F.; FURLANETTO, S. M. P. Grupos de bactérias isoladas a partir de amostra de fígado bovino. **Revista Microbiologia**, São Paulo, v. 18, n. 4, p. 335-343, out/dez. 1987.

HOLT, J. G. et al. **Bergey's manual of determinative bacteriology**. 9th. ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1994. 787 p

IAL. **Diagnóstico Laboratorial de agentes patogênicos de doenças veiculadas por Alimentos**. São Paulo, 2000

ICMSF. **Microorganisms of enumeration**. Toronto: University Toronto Press, p.23-31, 1978

JAY, J.M. **Microbiologia dos Alimentos**. 1. ed. Porto Alegre: Ed. Artmed, 2005. p 710.

HUGHES, L.; *et al.* Risk factors for the use of prescription antibiotics on UK broiler farms. **Journal Antimicrobial Agents and Chemotherapy**. 2008. 1-6.

LEITE, A. M. O. ; FRANCO, R. M. . Coliformes totais e *Escherichia coli* em coxas de frango comercializados no Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 13, p. 80-83, 2007

LÍRIO, V.S.; SILVA, E.A.; STEFONI, S.; CAMARGO, D.; RECCO, E.A.P.; MALUF, Y.T.; MIYAZAWA, T.T.; NEVES, D.V.D.A.; OLIVEIRA, V.M.R. Frequência de 17 sorotipos de salmonella isoladas em alimentos. **Revista Higiene Alimentar**, v.55, p.36-42, 1998.

LOBO, M.U.; *et al.* Avaliação microbiológica de salames comercializados no Município de Santa Maria-RS. **Revista Higiene Alimentar**, v15, n.88, p.57-61, 2001.

MESQUITA *et al.*, Qualidade Microbiológica no Processamento do Frango Assado em Unidade de Alimentação e Nutrição, Unidade de Alimentação e Nutrição, **Ciências e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, 26(1): 198-203, jan.-mar. 2006.

MICHELOTTI, A. C. P. Avaliação do sistema de controle de qualidade utilizado na elaboração de alimentos destinados a pacientes transplantados de medula óssea. **Dissertação de Mestrado**, 2002

MILTEMBURG, G. Promotores e aditivos promotores de crescimento em avicultura. In: **Conferência APINCO 2000 de Ciência e Tecnologia Avícolas**. Campinas. Anais..., FACTA, p. 204-215, 2000.

MOUNTNEY, G. J., **Poultry products technology**. 2. ed Connecticut AVI, 141-9, 1976.

VIEIRA, C.R.N.; TEIXEIRA, C.G. Condições higiênico-sanitárias de carcaças resfriadas de frango comercializadas em Poços de Caldas-MG. **Revista Higiene Alimentar**, v.11, n.48, p.36-40, 1997

MOTTA, M. R. A.; BELMONT, M. A. Avaliação microbiológica de amostras de carne moída comercializadas em supermercados da região Oeste de São Paulo. **Revista Higiene Alimentar**, v. 11, nº78/79, p. 59-62, 2000.

NASCIMENTO, A. R.; JESUS, J.R.; PEREIRA, M. S. S. Pesquisa de *Staphylococcus aureus* e bactérias aeróbicas mesófilas em camarão fresco,

sururu e carne moída comercializado em São Luís-Maranhão. **Caderno de Pesquisa**, v. 10, n.1 jan./jun. p. 9-18,1999

NASCIMENTO, F. C. A. Aspectos sócio-econômicos das doenças veiculadas pelos alimentos. Disponível em: <<http://nutricaoempauta.com.br/novo/40/foodservice.html>>. Acesso em: 18 jul. 2007.

OLÍMPIO, F. C.; PEREIRA, B. M.; OLIVEIRA, V. M. Avaliação da qualidade das carcaças de frango comercializadas no município de Seropédica-RJ. **Revista Higiene Alimentar**, v. 15, n. 80/81, jan./fev. p. 142, 2001.

PALERMO-NETO, J.; TITZE, R. A. Antimicrobianos como aditivos em animais de produção. In: SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. 3. ed. São Paulo: Guanabara Koogan, 2002. p. 558-573.

PARDI, M.C.; SANTOS, I.F.; SOUZA, E.R.; PARDI, H.S. **Ciência, higiene e tecnologia da carne**: Riscos microbiológicos da carne, Goiânia: UFG, 1995. v.1, p.294-308.

PELCZAR JR, M.J; CHAN, E.C.S.; KRIEG, N.R. Microbiologia de alimentos. In: **Microbiologia Conceitos e Aplicações**. 2 ed., 1996.

Pinto CAG, Santi LQ, Santos AAM, Souza APG, Melo V, Belmok TTA, Silva EB, Roesberg JAQ, Deschamps AVM, Pena PM, Pereira ID, Ochua D. Comportamento microbiológico das infecções comunitárias no Hospital Municipal Odilon Behrens (HNOB) □ jan/94 a dez/95. In: Programa Científico Oficial do IX Congresso Brasileiro de Infectologia, Recife. Resumo nº 413, p. 184, 1996.

PONTES, A.P. Programa de controle de Salmonella em batedouros de aves. In.: Conferência APINCO de Ciência e Tecnologia Avícola. Santos- SP, **Anais...** 2004, p.102.

Rangel E, Furtado, A, Furtado W, Macedo J, Cunha Jr. AC, Macedo V, Moretto D. Avaliação das culturas de secreções do laboratório do Hospital Universitário de Brasília (HUB)-DF e do perfil de resistência aos antimicrobianos, de outubro/93 a março/94. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** 28(supl 1):263, 1995.

ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; FERES, F. A.; TOLEDO, R. S. Utilização de probióticos e prebióticos em aves. In: Ferreira, C.L.L.F. **Prebióticos e Probióticos: Atualização e Prospecção**. Viçosa, MG, p.181-202, 2003

SATO, R. N.; LODDI, M. M.; NAKAGHI, L. S. O. Uso de antibiótico e/ou probiótico como promotores de crescimento em rações iniciais de frangos. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Suplemento 4, p. 37, 2002

SANTOS, I. I; POLI, A.; PADILHA, M. T. S. Desempenho zootécnico e rendimento de carcaça de frangos de corte suplementados com diferentes probióticos e antimicrobianos. **Acta Scientiarum. Animal Science** Maringá, v.26, n. 1, p.29-33, 2004.

SCHOCKEN-ITURRINO, R.P; ISHI, M., Clostridioses em aves. In: Berchieri Jr, A.; Macari, M. **Doenças das aves**. Campinas: Facta, 2000. Cap.4.6, p.242-243.

SHIOZAWA, K.; KATO, E.; SHIMIZU, A. Enterotoxigenicity of *Staphylococcus aureus* strains isolated from chickens. **Journal of Food Protection**, v. 43, p. 683-685, 1980.

SILVA, A. B. **Colibacilose**. Centro de Diagnóstico e Pesquisa em Patologia Aviária, Faculdade de Veterinária/IPVDF. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1992. 8p.

SILVA, E. N., *Salmonella Enteritidis* em aves e saúde pública. **Revista Higiene Alimentar**, 9: 7-13,1995.

SILVA,N. *et al*. Manual de métodos de análise. **Microbiológica de alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, p.111-124.1997

SILVA EM, DUARTE A. *Salmonella Enteritidis* em Aves: Retrospectiva no Brasil. **Revista Brasileira de Ciencia Avicola** 2002;4(2):85-100.

SI LLIKER, J. H. Status of Salmonella- Ten years later. **Journal of Food Protection**, 43 (4): 307-13,1980.

SIQUEIRA, R. S. **Manual de microbiologia de alimentos**. Brasília, DF: Embrapa,1995, p.154

SOCKETT, P. N., **The Epidemiology and Costs of Diseases of Public Health Significance, in Relation to Meat and Meat Products**, Published Online: Apr 3 2007 12:00AM
DOI: 10.1111/j.1745-4565.1995.tb00126.x; p. 91-112. 1995

SOUZA, E. C. Bactérias ultra-resistentes. **Revista Ciência Hoje**, v. 23, n. 138, maio, p. 35, 1998.

VALERIANO, C.; *et al*. Avaliação higiênico-sanitária de miúdos de frango comercializados na cidade de Lavras- MG. **Revista Higiene Alimentar**, v.17, n.104/105, p.214-215, 2003.

VIEIRA, C.R.N.; TEIXEIRA, C.G. Condições higiênico-sanitárias de carcaças resfriadas de frango comercializadas em Poços de Caldas-MG. **Revista Higiene Alimentar**, v.11, n.48, p.36-40, 1997

TAVARES, WALTER. Bactérias gram-positivas problemas: resistência do estafilococo, do enterococo e do pneumococo aos antimicrobianos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. vol.33 n.3 Uberaba May/June 2000;

WHO - World Health Organization. Use of quinolones in food animals and potential impact on human health. Report of a WHO Meeting; 1998; Geneve, Switzerland.

WHO. World Health Organization WHO global principles for the containment of antimicrobial resistance in animals intended for food. Disponível em: <http://whqlibdoc.who.int/hq/2000/WHO_CDS_CSRAPH_2000.4.pdf>. Acesso em: 15 de outubro de 2008.