

Detecção e quantificação de *Salmonella* spp. por microbiologia convencional e PCR em tempo real em amostras de abatedouros avícolas

AUTOR PRINCIPAL: KAREN LOUISE BECKER

CO-AUTORES: Eduarda Boff Martelo, Nathanyelle Soraya Martins de Aquino, Isabel Cristina Cisco, Denise Tedesco, Bruna Webber, Jonas Lucas Klein, Natalie Nadi Rizzo, Max Weber, Kristian Emanuel Kissmann, Luciane Manto, Emanuele Serro Pottker, Suelen Priscila Santos, Laura Beatriz Rodrigues, Fernando Pilotto, Luciana Ruschel dos Santos.

ORIENTADOR: Luciana Ruschel dos Santos

UNIVERSIDADE: Universidade de Passo Fundo

INTRODUÇÃO:

A avicultura é um dos principais agentes do agronegócio brasileiro e o consumo de carne de frango vem aumentando gradativamente. Este aumento intensificou a tecnologia de produção, possibilitando o abate de milhares de frangos, mas também podendo potencializar contaminações bacterianas oriundas das granjas. Medidas de profilaxia e normas de biossegurança na avicultura industrial dificultam, mas não impedem a presença de patógenos. A quantificação de *Salmonella* spp. é fundamental para estimar a extensão da contaminação e avaliar a efetividade das boas práticas de produção utilizadas para controle deste patógeno nos produtos finais (COLLA *et al.*, 2011). A PCR em tempo real é uma técnica de amplificação e quantificação de DNA rápida e precisa para identificação e enumeração de microrganismos. Desta forma, utilizou-se a PCR em tempo real para quantificação de *Salmonella* spp. em diferentes pontos da tecnologia de abate de frangos de corte em abatedouros avícolas.

DESENVOLVIMENTO:

As amostras foram previamente coletadas em cinco lotes de quatro abatedouros sob Inspeção Federal no Rio Grande do Sul entre 2011 e 2014. Os pontos analisados foram swabs cloacais, esponjas de gaiolas de transporte antes e após a higienização, carcaças (antes e após escaldagem, após depenagem, lavagem, evisceração, *chiller*, lavagem final, resfriadas a 4°C, congeladas a -12°C por 24 horas, 30 e 60 dias) e água (da escaldagem, de abastecimento do *pré-chiller* e do *chiller*). Para a detecção de *Salmonella* spp. por microbiologia utilizou-se metodologia adaptada conforme Santos (2015).

Alíquotas do processamento microbiológico foram congeladas até a realização da PCR, totalizando 139 amostras. Para quantificação foi realizada a extração de DNA utilizando *kit* comercial *mericon DNA Bacteria Kit* (Qiagen®) conforme orientações do fabricante. Para a amplificação de *Salmonella* spp. por PCR em tempo real utilizou-se o *mericon Salmonella spp. kit* (Qiagen®). Com os resultados obtidos (Tabela 01), observou-se que das 139 amostras, 15 (10,8%) apresentaram positividade para *Salmonella* spp. por Microbiologia Convencional (MC) e 68 (49%) pelo método de PCR em tempo real. Em todos os lotes a maior detecção de *Salmonella* ocorreu com a utilização da PCR, demonstrando a sensibilidade e eficácia da técnica. Para Gonçalves (2014), a PCR em tempo real também mostrou ser um método rápido e sensível na detecção de agentes patogênicos ao avaliar o limite de detecção da técnica para *Salmonella* spp. e *L. monocytogenes*, observando boa sensibilidade da técnica, com 2 e 5 UFC/g, respectivamente. Dentro dos lotes avaliados (FIGURA 1), a contaminação variou de 0,00 log₁₀ UFC/mL até 5,32 log₁₀ UFC/mL (*swab* de gaiola de transporte após higienização). Este último resultado gera bastante preocupação, tendo em vista que as gaiolas podem não estar sendo higienizadas e sanitizadas de forma adequada, retornando para as granjas contaminadas por este patógeno, agravando o problema e dificultando seu controle. Em alguns lotes os *swabs* de cloacas mostraram menor quantificação quando comparadas com os *swabs* das gaiolas antes da higienização, ratificando a necessidade da adequada higienização das gaiolas de transporte para evitar a recontaminação dos lotes a partir de gaiolas mal higienizadas. Estes resultados permitem inferir que a contaminação por *Salmonella* spp. nos abatedouros é variável, mas que geralmente as aves chegam ao abatedouro com uma maior contaminação, que é reduzida ao longo da tecnologia de abate, ressaltando a importância da biossegurança nas granjas e a aplicação das Boas Práticas de Fabricação nos abatedouros. O controle microbiológico através de estudos de métodos para detectar e quantificar *Salmonella* spp. são necessários para a adoção de medidas eficazes de BPF, PPHO e APPC visando minimizar a contaminação por este patógeno em produtos avícolas.

CONSIDERAÇÕES FINAIS:

A PCR em tempo real mostrou ser sensível e eficaz para a quantificação de *Salmonella* spp. em diferentes etapas da cadeia avícola. A higienização das gaiolas é um dos pontos mais importantes para a veiculação deste patógeno e a inocuidade do produto final está

vinculada a todas as etapas de produção, desde a criação, transporte até manipulação dos produtos finais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

COLLA, F. L.; MION, L; PARIZOTTO, L; et al. Perfil de sensibilidade a antimicrobianos de amostras de *Salmonella* sp. isoladas em diferentes pontos do abate de suínos. **Anais da XXI Mostra de Iniciação Científica-UPF**, Passo Fundo: UPF, 2011.

SANTOS. L. A. **Detecção e quantificação de *Salmonella* spp. na tecnologia de abate de frangos de corte.** Dissertação de mestrado (Mestrado em Bioexperimentação), Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo/RS, 2015.

GONÇALVES, J. S. et al. Detecção de *Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes* através de técnica PCR. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, v. 17, n. 4, p. 223-226, 2014.

ANEXOS

Figura 1- Relação dos pontos de coleta e quantificação da contaminação (\log_{10} UFC/mL) nos abatedouros avaliados.

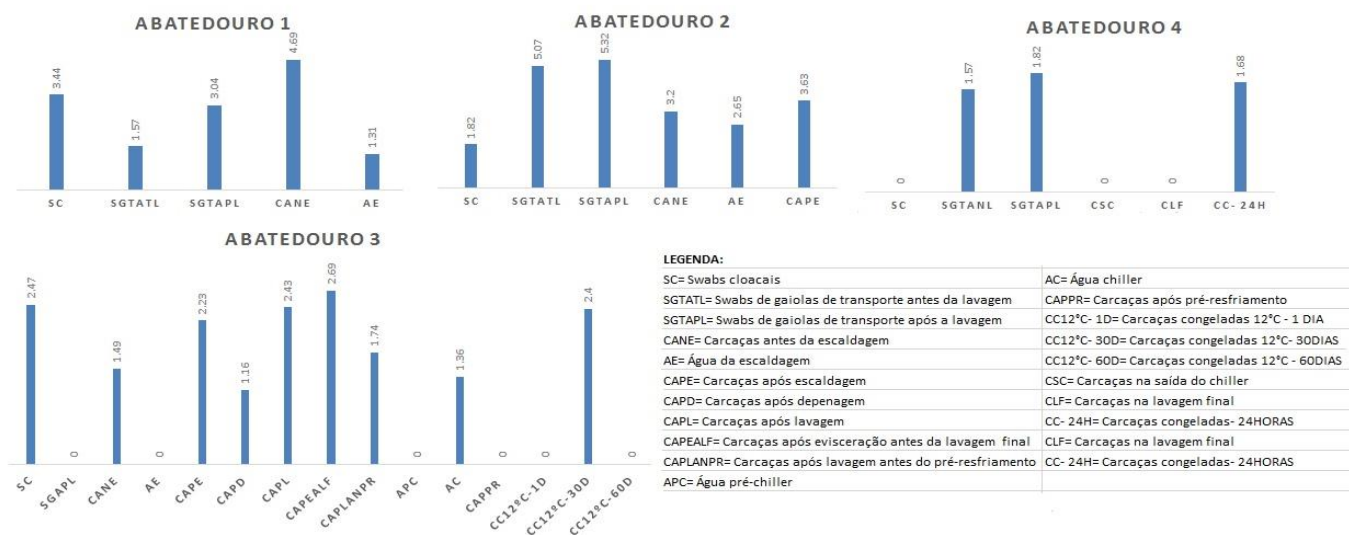


Tabela 1 - Relação de amostras positivas para *Salmonella* spp. em cinco lotes avaliados por Microbiologia Convencional (MC) e PCR em tempo real.

Coletas	Amostras avaliadas		
	por coleta	Positividade para <i>Salmonella</i> spp.	
		MC	PCR em tempo real
1 (C15)	12	0 (0%)	8 (67%)
2 (C20)	15	1 (6,7%)	10 (67%)
3 (C19)	40	2 (5%)	13 (32,5%)
4 (LA)	36	6 (16,7%)	29 (80,5%)
5 (LF)	36	6 (16,7%)	8 (22%)
Total	139	15 (10,8%)	68 (49%)