

FERREIRA, H. H.; RAUECKER, U. N.; DEL'ACQUA, T. V.; MESQUITA, A. Q., MESQUITA, A. J.; NUNES, I. A.. Frequência de ocorrência de *Clostridium estertheticum* em ambiente e equipamentos de desossa em matadouros-frigoríficos, através da técnica de PCR. In: III CONGRESSO DE PESQUISA, ENSINO E EXTENSÃO DA UFG - CONPEEX, 3, 2006, Goiânia. **Anais eletrônicos do XIV Seminário de Iniciação Científica** [CD-ROM], Goiânia: UFG, 2006.

FREQUÊNCIA DE OCORRÊNCIA DE *Clostridium estertheticum* EM AMBIENTE E EQUIPAMENTOS DE DESOSSA EM MATADOUROS-FRIGORÍFICOS, ATRAVÉS DA TÉCNICA DE PCR

FERREIRA, Hugo Henrique¹; **RAUECKER**, Ursula Nunes²; **DEL'ACQUA**, Thiago Vilela¹; **MESQUITA**, Adriano Queiroz de¹, **MESQUITA**, Albenones José de³; **NUNES**, Iolanda Aparecida³

Palavras chave: Estufamento de embalagem, carne bovina, deterioração

1. INTRODUÇÃO

A ação do *Clostridium estertheticum* na deterioração de carnes bovinas refrigeradas, embaladas a vácuo tem causado impacto na indústria frigorífica mundial nos últimos anos. Esse microrganismo foi isolado pela primeira vez em 1992, em carnes estufadas produzidas na África do Sul (DAINTY et al., 1989 e COLLINS et al., 1992). Desde então deteriorações semelhantes foram relatadas em carne bovina, ovina e de cervo, embaladas a vácuo na Nova Zelândia e Europa (BRODA et al., 1996).

Verifica-se uma extrema dificuldade para o isolamento da bactéria através do método de diagnóstico bacteriológico convencional. O PCR é atualmente o método de diagnóstico de eleição para o *C. estertheticum*, apresentando benefícios para o monitoramento da eficiência dos passos adotados para reduzir a prevalência da bactéria na carne (HELPS et al., 1999).

Pouco se conhece sobre a epidemiologia do *C. estertheticum*, mas sabe-se que pertence a um grupo de clostrídios psicrófilos associados à carne, que não produz toxinas (BRODA et al., 1996) porém deteriora a carne resfriada embalada a vácuo em aproximadamente quatro semanas. A embalagem torna-se distendida pela presença de gases como o hidrogênio, dióxido de carbono, nitrogênio ésteres, butíricos, butanol, gás sulfídrico, e outros compostos sulfurados que conferem um odor característico (HELPS et al., 1999).

No Brasil, casos de estufamento de embalagens de carne bovina refrigerada foram observados em produtos de frigoríficos das regiões Centro-Oeste e Sudeste do país. Faz-se necessário, portanto, o desenvolvimento de pesquisa objetivando a identificação do agente e apontar possíveis medidas de controle do microrganismo no ambiente do estabelecimento de abate e nas carnes bovinas.

2. METODOLOGIA

2.1 Amostragem

Para a escolha dos estabelecimentos de abate, foram adotados os seguintes critérios: ser habilitado para realizar comércio internacional, estar incluído na lista geral de exportação e ter experimentado um incidente de estufamento de embalagem de carne bovina refrigerada embalada a vácuo.

Foram colhidas 269 amostras de swabs da seção de desossa, sendo 131, 75 e 63 de ralos da sala de desossa, esteira e roletes da desossa, respectivamente, em matadouros-frigoríficos localizados em Goiás, São Paulo e Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Rondônia, Pará, Minas Gerais e Bahia.

Para a colheita das amostras foram utilizados “swabs” umedecidos em solução salina 0,85%. As amostras foram identificadas com etiquetas adesivas, acondicionadas em caixas isotérmicas contendo gelo em escamas e encaminhadas ao laboratório.

2.2 Extração do DNA genômico

A extração de DNA foi realizada de acordo com a metodologia proposta por van SOOLINGEN et al. (1991). A eletroforese em gel de agarose foi utilizada para o monitoramento e avaliação da técnica de extração de DNA, verificando a integridade do DNA, sua pureza e também para a sua concentração, comparando as amostras com um DNA de concentração previamente conhecida. O DNA padrão utilizado foi o DNA de fago lambda (λ -DNA).

As soluções de DNA foram estocadas a -20 °C até o momento do uso nas demais etapas do trabalho.

2.3 Técnica de PCR

Foi utilizado o par de iniciadores “Revised forward primer e Revised reverse primer”, para o *C. estertheticum* (HELPS et al., 1999), que fornece um fragmento de 641 pares de base (pb). As concentrações finais da solução de amplificação são: 1,5mM de MgCl₂, 0,2mM de cada DNTP, 0,3 μ M de cada *primer*, 5 μ L da solução de DNA genômico e 1 unidade de TAQ polimerase por reação. As amostras foram submetidas a amplificação em termociclador nas seguintes condições: desnaturação inicial 94°C/5 min, 40 ciclos de 94°C/1 min, 60°C/1 min e 72°C/1 min. A extensão final adotada é de 72°C/10min.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram processadas 269 amostras de swabs procedentes de Matadouros-Frigoríficos que realizam comércio internacional localizados em oito Estados da Federação. Na Tabela 1 estão as frequências de ocorrência de *Clostridium estertheticum* encontradas em ralo da desossa, esteira da desossa e rolete da esteira da desossa.

Tabela-1 Distribuição de *C. estertheticum* na sala de desossa

AMOSTRA	<i>C. estertheticum</i>			
	POSITIVAS		NEGATIVAS	
	N.	%	N.	%
Ralo da desossa	24/131	18,3	107/131	81,7
Roleta da esteira da desossa	12/63	19,0	51/63	81,0
Esteira da desossa	09/75	12,0	66/75	88,0
TOTAL	45/269	16,7	224/269	83,3

A elevada contaminação por *C. estertheticum* nas amostras analisadas pode ser atribuída à fácil disseminação dos esporos desta bactéria no ambiente da sala e sua resistência. Deve-se observar que a retenção de matéria orgânica e a baixa temperatura da sala, máxima de 10°C, são dois fatores para manutenção desta bactéria no ambiente de produção (PARDI et al, 2001).

É importante notar que os níveis de contaminação foram mais elevados nos roletes e nos ralos, em comparação com as esteiras. Isto pode ser atribuído, com certeza, a uma limpeza e desinfecção inadequadas dessas estruturas devido a dificuldade de acesso.

Devem ser tomadas medidas para controlar a disseminação ambiental do agente e reduzir os níveis de contaminação das carnes através da adoção de higienizações semanais das instalações com produtos esporicidas e durante intervalos da produção, assim como realização de treinamentos sobre programas de qualidade para os líderes de cada seção dos estabelecimentos de abate e processamento de carnes. Outro ponto a ser observado seria a escolha correta de detergentes e sanitizantes.

Os resultados obtidos são preocupantes, uma vez que *C. estertheticum* é um agente importante na deterioração da carne bovina refrigerada e embalada a vácuo, com inúmeros episódios descritos na literatura mundial e alguns relatados no Brasil. Soma-se a isto a importância da exportação deste tipo de produto pelo País.

4. CONCLUSÃO

No presente trabalho, foram obtidos índices de positividade que podem ser considerados elevados nas três fontes de detecção, em especial no rolete das esteiras de desossa. Os resultados obtidos apontam para higienização deficiente na sala de desossa e implicam na possibilidade de existirem elevados níveis de contaminação inicial nos cortes cárneos obtidos nesses estabelecimentos. Medidas urgentes são necessárias para se alcançar o controle do microrganismo no ambiente de processamento e conter sua disseminação ambiental.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BRODA, D. M., DELACEY, K. M., BELL, R. G., BRAGGINS, T. J. and COOK, R. L. Psychrotrophic *Clostridium* spp. associated with "Blown pack" spoilage of chilled vacuum-packed red meats and dog rolls in gas-impermeable plastic casings. **International Journal of Food Microbiology**. 29, pp.335-352, 1996.
- COLLINS, M. D., RODRIGUES, U. M., DAINTY, R. H., EDWARDS, R. A. and ROBERTS, T. A. Taxonomic studies on a psychrophilic *Clostridium* from vacuum-packed beef: description of *C. estertheticum* sp. **FEMS Microbiology Letters**, v 96, pp. 235-240, 1992.
- DAINTY, R. G., EDWARDS, R. A. and HIBBARD, C. R. Spoilage of vacuum-packed by a *Clostridium* sp. **Science Food Agriculture**. 49, pp. 473-486, 1989
- HELPS, C. R., HARBOUR, D. A., AND CORRY, J. E. PCR-based 16S ribosomal DNA detection technique for *C. estertheticum* causing spoilage en vacuum-packed chill-stored beef. **International Journal of Food Microbiology**. 52, pp. 57-65, 1999.
- PARDI, M. C; SANTOS, I. F; SOUZA, E. R. **Ciência, Higiene e Tecnologia da carne**. Goiânia: CEGRAF-UFG/ Niterói: EDUFF, v. 1., 586 p., 2001.
- VAN SOOLINGEN, D.; HERMANS, P. W. M.; HAAS, P. E. W.; SOLL, E. R. van EMBDEN, J. D. A. Occurrence and stability of insertion sequences in sequence-dependent DNA polymorphism as a tool in the epidemiology of tuberculosis. **J. Clin. Microbiology**, 29, p 2578-86, 1991.

¹. Bolsistas de iniciação científica, graduandos em Medicina Veterinária UFG

². Mestranda em Ciência Animal -UFG ursula_nunes@terra.com.br

³. Professores da Escola de Veterinária - UFG