

Presença de *Clostridium* sulfito redutor em equipamentos de açougues do município de Patos de Minas (MG)

Presence of sulfite-reducing Clostridium in butcher shop equipment in the municipality of Patos de Minas (MG)

Laressa Layla Ferreira¹; Juliana Borges Pereira²; Eneida César Mastrantonio³

1 Bacharel em Medicina Veterinária. Centro Universitário de Patos de Minas - UNIPAM.

2 Mestre em Ciências. Docente no Centro Universitário de Patos de Minas - UNIPAM.

4 Doutora em Imunologia e Parasitologia Aplicadas.

E-mail: enemastrantonio@yahoo.com.br (autora correspondente).

Resumo: A indústria da carne ocupa lugar de destaque na produção de alimentos prontos para o consumo ou semipreparados. A responsabilidade atribuída à manutenção da higiene nos estabelecimentos transformadores ou beneficiadores de produtos de origem animal deve ser severa para evitar riscos à saúde dos consumidores. Portanto, o presente estudo objetivou-se detectar a presença de *Clostridium* sulfito redutor em equipamentos de uso rotineiro em açougues do município de Patos de Minas (MG). Foram coletadas 12 amostras para análise, da superfície de mesa para corte de carnes e dos moedores de carne. Foi utilizado swab estéril (20cm²) para coleta das amostras, em seis açougues do município de Patos de Minas (MG). O estudo bacteriológico foi realizado em laboratório terceirizado através da técnica de cultura para *Clostridium* sulfito redutor (SILVA *et al.*, 2001). Todas as amostras avaliadas foram positivas para a presença de *Clostridium* sulfito redutor. Das amostras referentes à mesa de cortes de carnes, uma (16,7%) apresentou resultado superior a 1,0x10² UFC/g. Já nas amostras referentes ao moedor de carne, duas (33,3%) foram acima de 1,0x10²UFC/g. O restante das amostras (75%) mostrou resultados com valores <1,0x10²UFC/g. Concluiu-se que, nos seis açougues investigados, há presença de *Clostridium* sulfito redutor em valores que variaram de <1,0x10²UFC/g a 2,0x10²UFC/g. Como não existe legislação vigente quanto à presença e quantificação do *Clostridium* sulfito redutor em equipamentos e utensílios utilizados no processamento de carnes em açougues — nesse estudo foi detectada a presença desse microrganismo em todas as amostras avaliadas —, é necessária uma atenção maior na higienização da mesa para cortes de carnes e no moedor de carne. Fazem-se necessárias normativas mais rígidas para um eficiente controle das condições higiênico-sanitárias nesses estabelecimentos, evitando infecções ou toxinfecções alimentares.

Palavras-chave: clostridioses; *Clostridium perfringens*; contaminação cruzada; saúde pública.

Abstract: The meat industry plays a prominent role in the production of ready-to-eat or semi-prepared food. The responsibility attributed to the hygiene maintenance in establishments that transform or or benefit animal-origin products should be severe to avoid health risks to consumers. Therefore, this study aimed to detect the presence of sulfite-reducing *Clostridium* on routinely used equipment in butcher shops in the municipality of Patos de Minas (MG). Twelve samples were collected for analysis, from the surface of the meat cutting table and the meat grinders. A sterile swab (20cm²) was used to collect the samples in six butcher shops in the municipality of Patos de Minas (MG). Conducted in a third-party laboratory using the culture technique for sulfite-reducing *Clostridium* culture technique (SILVA *et al.*, 2001). All evaluated samples were positive for the presence of sulfite-reducing *Clostridium*. Of the samples referring

to the meat cutting table, one (16.7%) showed a result higher than 1.0×10^2 CFU/g. In the samples referring to the meat grinder, two (33.3%) were above 1.0×10^2 CFU/g. The remaining samples (75%) showed results with values $< 1.0 \times 10^2$ CFU/g. It was concluded that in the six investigated butcher shops, there is the presence of sulfite-reducing *Clostridium* in values ranging from $< 1.0 \times 10^2$ UFC/g to 2.0×10^2 UFC/g. As there is no current legislation regarding the presence and quantification of sulfite-reducing *Clostridium* in equipment and utensils used in meat processing in butcher shops, and this study detected the presence of this microorganism in all evaluated samples, greater attention is necessary in the cleaning of the meat cutting table and the meat grinder. Stricter regulations are necessary for effective control of hygienic-sanitary conditions in these establishments, avoiding food infections or intoxications.

Keywords: *Clostridium* sp; *Clostridium perfringens*; cross-contamination; public health.

1 INTRODUÇÃO

A carne resfriada é um excelente meio para o desenvolvimento microbiano, por apresentar condições como a elevada atividade de água, pH favorável ao crescimento e elevado percentual de proteínas, minerais e vitaminas. Essas características tornam a carne altamente perecível, podendo haver contaminação microbiológica ocorrida durante o abate, o processamento, a manipulação e o armazenamento, favorecendo assim a multiplicação de diferentes bactérias e protozoários, podendo ser patogênicos, transmitir doenças e também, em um curto espaço de tempo, alterar as características do produto (OLIVEIRA, 2010).

Os alimentos são importantes na cadeia epidemiológica de doenças transmissíveis, sendo fundamental observar sua conservação em condições não adequadas, favorecendo a multiplicação de microrganismos causando alterações e/ou produzindo sintomas de intoxicação alimentar nos consumidores (NASCIMENTO *et al.*, 1996).

As enfermidades causadas por alimentos contaminados constituem um dos problemas sanitários mais difundidos atualmente. As doenças são causadas por

agentes microbiológicos transmitidos principalmente por manipuladores, equipamentos e utensílios mal higienizados (SILVA JÚNIOR, 2001).

As Doenças de Transmissão Alimentar (DTAs) podem desencadear um quadro clínico leve, severo ou até mesmo a levar morte, principalmente no caso de grupos de risco, como crianças, idosos e/ou pessoas imunodebilitados (SILVA JÚNIOR, 2005).

A Secretária de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde, por meio da Portaria nº 326-SVS/MS, de 30 de julho de 1997, aprovou o regulamento técnico sobre as condições higiênicos-sanitárias e de boas práticas de fabricação para estabelecimentos produtores e industrializadores de alimentos. Nesse regulamento constam os princípios exigidos nas boas práticas, bem como os requisitos de higiene pessoal dos manipuladores (BRASIL, 1997).

Devido à grande influência na saúde pública, insere-se a importância do estudo dessas bactérias por profissionais da área, como médicos veterinários com a produção, inspeção e comercialização de produtos cárneos, os quais têm a responsabilidade de assegurar aos consumidores um produto de qualidade, viável ao consumo e que não cause

quaisquer prejuízos à saúde (GERMANO; GERMANO, 2008).

As bactérias patogênicas que compõem esse gênero causam doenças basicamente por dois mecanismos: produção de toxinas e invasão de tecidos. Os clostrídios penetram no organismo na forma esporulada, por meio de alimento contaminado, feridas ou por inalação. As toxinas são produzidas no organismo do animal ou são ingeridas pré-formadas. Entre as toxinas de origem clostridial, destacam-se as neurotoxinas botulínicas, tetânicas e a toxina épsilon produzida por *C. perfringens* (LOBATO *et al.*, 2023).

As bactérias do gênero *Clostridium* são bastonetes, Gram-positivos, anaeróbicos e possuem uma alta capacidade de esporulação da maioria das bactérias patogênicas desse grupo. As infecções e intoxicações causadas pelo gênero *Clostridium*, conhecidas por clostridioses, são de difícil erradicação (LOBATO *et al.*, 2023).

Os clostrídios sulfito redutores são bactérias de morfologia bacilar, Gram positivas, anaeróbias estritas, capazes de formar esporos e com atividade sulfito redutora. O método baseia-se em contar o número de colônias de bactérias, formadas dos esporos, com capacidade sulfito redutora. A amostra é submetida a um tratamento térmico e esse tratamento tem como objetivo inativar as células microbianas vegetativas, permanecendo viáveis os esporos (KAMWWA, 2012).

O *Clostridium perfringens* é uma das bactérias que facilmente pode ser isolada em alimentos, tanto crus, quanto processados. Alimentos à base de carne bovina e de frango têm sido os principais causadores de intoxicação alimentar (GERMANO; GERMANO, 2008).

O presente estudo teve como objetivo verificar a presença de

Clostridium sulfito redutor em equipamentos com uso rotineiro que podem causar toxinfecções nos consumidores de carne, na região de Patos de Minas (MG).

2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletadas amostras de resíduos de material orgânico em equipamentos utilizados na rotina comercial de seis açougues do Município de Patos de Minas (MG). Em cada açougue, foram coletadas duas amostras: um referente à mesa para cortes de carnes; outra, ao moedor de carne. Foram, portanto, 12 amostras.

Os açougues pesquisados foram selecionados de forma aleatória, sendo eles de alta comercialização e localizados em setor comercial, no município de Patos de Minas (MG). Os açougues receberam identificação com letras (A, B, C, D, E e F), de acordo com a ordem de coletas.

Inicialmente, foi apresentado aos proprietários dos estabelecimentos um termo de autorização para coleta das amostras para a pesquisa e logo após foi dado início as coletas. O horário de coleta do material foi realizado no final da tarde, próximo ao encerramento das atividades.

Imediatamente, a coleta das amostras foi realizada com a utilização de “swabs” estéreis com haste de plástico. O material coletado foi acondicionado em caixa térmica com presença de gelo reutilizável rígido com controle de temperatura a 10°C, de acordo com a recomendação do laboratório onde as análises ocorreram.

Posteriormente, o material acondicionado foi encaminhado ao Laboratório CELASA ANÁLISES LTDA., em Patos de Minas (MG), onde as análises

microbiológicas foram realizadas de acordo com a técnica de cultura para *Clostridium* sulfito redutor. O método de plaqueamento utilizado foi o da American Public Health Association (APHA) 33.72:2015, com uso do Ágar Triptose Sulfito Cicloserina (TSC), sistema de geração de anaerobiose e estufas incubadoras reguladas a 46°C e 35°C, respectivamente (SILVA *et al.*, 2001).

Os resultados foram avaliados por meio de estatística descritiva apresentando a quantidade de unidades formadoras de colônias (UFG/g) de *Clostridium* sulfito redutor nas amostras analisadas.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As 12 amostras foram submetidas ao teste de microbiológico. Foram identificados *Clostridium* sulfito redutor positivo em cem por cento (100%), sendo que, nas amostras da mesa para cortes de carnes, somente em uma amostra (16,7%), o resultado foi superior a $1,0 \times 10^2$ UFC/g. Já nas amostras referentes ao moedor de carne, em duas amostras (33,3%), o valor foi acima, sendo $1,0 \times 10^2$ UFC/g. Os resultados apresentam-se na Tabela 1.

Tabela 1: Resultados em Unidades Formadoras de Colônias (UFC/g) das amostras coletadas

Açougue	Mesa (UFC/g)	Moedor (UFC/g)
A	$< 1,0 \times 10^2$	$1,7 \times 10^2$
B	$< 1,0 \times 10^2$	$< 1,0 \times 10^2$
C	$< 1,0 \times 10^2$	$2,0 \times 10^2$
D	$< 1,0 \times 10^2$	$< 1,0 \times 10^2$
E	$< 1,5 \times 10^2$	$< 1,0 \times 10^2$
F	$< 1,0 \times 10^2$	$< 1,0 \times 10^2$

No Manual de Controle Higiênico-Sanitário em Serviços de

Alimentação (SILVA *et al.*, 2001), para calcular o número de UFC/g em função do número de colônias típicas, são necessárias a diluição inoculada e a percentagem de colônias confirmadas. Amostras cujo resultado foi de $< 1,0 \times 10^2$ UFC/g significa que foi impossível fazer a contagem das colônias, pois o limite de quantificação é de 100 colônias.

Os clostrídios reduzem sulfito a sulfeto, que reage com o ferro e precipita na forma de sulfeto de ferro, produzindo colônias pretas. Para confirmação, é necessário realizar teste para coloração de Gram e o teste de catalase (SILVA *et al.*, 2001).

O Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos (BRASIL, 2001), os limites de *Clostridium* sulfito redutor para carnes e/ou produtos cárneos crus, refrigerados ou congelados (hambúrgueres, almôndegas, quibe e similares) são de 3×10^3 UFC/g. Esse valor não se aplica à pesquisa, pois ela teve como objetivo avaliar a presença em equipamentos da rotina de açouques.

Rossi e Bampi (2015) avaliaram 318 análises microbiológicas de derivados de carne; destas, 6% das amostras estavam impróprias para consumo humano, apenas 2,5% das amostras apresentaram valores superiores aos estabelecidos pela RDC nº 12 de janeiro de 2001 para *Clostridium* sulfito redutor.

Tussi *et al.* (2008) avaliaram amostras de salame colonial e 100% apresentaram resultados satisfatórios para *Clostridium* sp. Olsen *et al.* (2000) realizaram uma pesquisa nos Estados Unidos e identificaram no país alguns surtos causados por essa bactéria, associados ao consumo de carne moída cozida. Esses estudos confirmam que a presença de *Clostridium* sulfito redutor em equipamentos e utensílios afetam

diretamente a qualidade dos alimentos e podem causar as DTAs.

Do grupo dos clostrídios sulfito redutor, *Clostridium perfringens* é o principal representante. A temperatura de refrigeração em que o produto é armazenado, aliada a competição exercida pela microbiota psicrotrofica acompanhante, pode dificultar o crescimento do microrganismo (FORSYTHE, 2002). A determinação de clostrídio sulfito redutor a 46°C tem por objetivo a indicação de *Clostridium perfringens*. Caso seja determinada a presença de *C. perfringens*, deve-se constatar o resultado no laudo analítico (BRASIL, 2001).

De acordo com Franco e Landgraf (1996), as doenças de origem alimentar podem ser subdivididas em duas grandes categorias: intoxicações e infecções alimentares. As intoxicações alimentares são causadas pela ingestão de alimentos contendo toxinas microbianas pré-formadas. As infecções alimentares são ocasionadas pela ingestão de alimentos contendo células viáveis de microrganismos patogênicos, que aderem e se proliferam colonizando a mucosa do intestino.

Para Germano e Germano (2011), as carnes bovinas e de aves cruas, frequentemente, apresentam-se envolvidas em surtos de toxinfecções devido à ingestão de carne contaminada, sendo estes as enterobactérias, estafilococos e clostrídios, em destaque temos o *C. perfringens*, *S. aureus* e a *Salmonella* spp.

A carne também é um excelente meio para a multiplicação microbiana, devendo receber um rigoroso controle higiênico-sanitário. Dessa maneira a preocupação com a carne e seus derivados estão frequentemente

envolvidos em casos de toxinfecção alimentar devido à possibilidade de contaminação ocorrer desde as operações de abate, armazenamento e distribuição, tendo sua intensidade dependente das medidas higiênicas adotadas (SILVEIRA, 1994).

O perfil higiênico-sanitário dos estabelecimentos deve ser adotado através da observação das instalações físicas e higiene dos manipuladores de alimentos. Deve ser caracterizado com base na lista de verificação em Boas Práticas de Manipulação, segundo a Resolução nº 216 (BRASIL, 2004).

Para Oliveira *et al.* (2008), quando uma peça de um equipamento é difícil de higienizar, esterilizar e sanificar, é mais provável que essas etapas não sejam realizadas, ocasionando assim acúmulo de restos de alimentos e bactérias patogênicas ou deterioradoras, formando assim biofilmes. Tem-se, assim, o aumento do risco de contaminação cruzada em toda área destinada ao processamento.

A presença de biofilmes em áreas de processamento de alimentos é caracterizada, inicialmente, pelo acúmulo de materiais orgânicos e inorgânicos em superfícies sobre as quais comunidades bacterianas podem se desenvolver. Os biofilmes podem aderir fortemente à superfície de equipamentos e, posteriormente, partes deles podem se desprender e contaminar outras superfícies ou produtos alimentícios. Microrganismos em biofilme são mais resistentes a agentes antimicrobianos do que células em estado planctônico, podendo persistir e sobreviver mesmo após processos de sanitização, representando fonte original de contaminação de alimentos, com consequentes perdas econômicas e

veiculação de toxinfecções alimentares (OLIVEIRA *et al.*, 2010).

As Boas Práticas de Fabricação (BPF) e os Procedimento Padrão de Higiene Operacional (PPHO) são os requisitos mínimos para a obtenção de alimentos seguros e devem ser utilizadas por todas as indústrias alimentícias que desejam produzir alimentos que sejam de boa qualidade se os procedimentos forem corretamente executados (BRASIL, 2005).

A *Clostridium perfringens* é uma bactéria que causa vários tipos de doenças, incluindo a gastroenterite. Algumas cepas causam gastroenterite leve à moderada que melhora sem tratamento, enquanto outras cepas causam doença grave que pode lesionar o intestino delgado e, por vezes, causar morte (FORSYTHE, 2002).

Como não existe legislação vigente quanto à presença e quantificação do *Clostridium* sulfito redutor em equipamentos e utensílios utilizados no processamento de carnes, os achados demonstram preocupação em relação a contaminações cruzadas e alerta em questão da saúde da população. Torna-se necessária a instituição de normativas mais rígidas, para melhor controle das condições higiênico-sanitárias nesses estabelecimentos, evitando infecções ou toxinfecções alimentares.

4 CONCLUSÃO

No presente estudo, a presença de *Clostridium* sulfito redutor foi detectada nos equipamentos dos açougues investigados do município de Patos de Minas (MG). Tornam-se necessárias novas investigações e melhorias nas condições higiênico-sanitárias que venham a contribuir para a saúde pública.

REFERÊNCIAS

- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **MAPA Circular nº. 175**. Brasília, DF, 2005.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Portaria nº 275, de 21 de outubro de 2002**. Regulamento técnico de procedimentos operacionais padronizados aplicados aos estabelecimentos produtores/industrializadores de alimentos. Brasília, DF, 22 ago. 2002.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001**. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasil, n. 7-E, p. 46-53, 10 jan. 2001. Seção I.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretária de Vigilância Sanitária. **Portaria SVS/MS nº 326, de 30 de julho de 1997**. Aprova o regulamento técnico sobre as condições higiênico-sanitárias e de Boas Práticas de Fabricação para estabelecimentos produtores/industrializadores de alimentos. Disponível em: http://bvsmms.saude.gov.br/bsv/saudelegis/s/svs1/1997/prt0326_30_07_1997.html.
- BRASIL. **Resolução n. 216 de 15 de setembro de 2004**. Dispõe sobre o “Regulamento Técnico de Boas Práticas para serviços de Alimentação”. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 16 set. 2004.
- CONAB. **Companhia Nacional de Abastecimento**. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/>.

- EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Suínos e Aves (Concórdia, SC). **Central de Inteligência de Aves e Suínos**. Disponível em: <https://www.embrapa.br/suinos-eaves/cias/estatisticas>.
- FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da segurança alimentar**. São Paulo: Artmed, 2002.
- FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Ed Atheneu, 1996.
- GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. **S. Higiene e vigilância sanitária de alimentos**. São Paulo: Manoele, 2008.
- GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. **S. Higiene e vigilância sanitária de alimentos**. São Paulo: Varela, 2001.
- KAMWWA, E. B. **Biossegurança, higiene e profilaxia: abordagem teórico-didática e aplicada**. 2. ed. Belo Horizonte: Nandyala, 2012.
- LOBATO F.C.F.; SALVARANI, F. M.; GONÇALVES, L. A.; PIRES, P. S.; SILVA, R. O. S.; ALVES, G. G.; NEVES, M.; OLIVEIRA JÚNIOR, C. A.; PEREIRA, P. L. L. Clostridioses dos animais de produção. **Veterinária e Zootecnia**, Botucatu, v. 20, p. 29-48, 2023.
- NASCIMENTO, V. P.; SANTOS, L. R.; CARDOSO, M. D. O.; RIBEIRO, A. R.; SCHUCH, D. M. T.; SILVA, A. B. Qualidade microbiológica dos produtos avícolas. In: SIMPÓSIO GOIÂNIA DE AVICULTURA, 2., 1996, Goiânia. **Anais [...]**. Goiânia: Associação Goiana de Avicultura, 1996. p. 13-17.
- OLIVEIRA, M. M. M.; BRUGNERA, D. F.; MENDONÇA, A. T.; PICCOLI, R. H. Condições higiênicas sanitárias de máquinas de moer carne, mãos de manipuladores e qualidade microbiológica da carne moída. **Revista Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 6, p. 1893-1898, nov. 2008.
- OLIVEIRA, M. M. M.; BRUGNERA, D. F.; PICCOLI, R. H. Biofilmes microbianos na indústria de alimentos: uma revisão. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 69, n. 3, p. 277-284, 2010.
- OLSEN, S. J.; MACKINON, L. C.; GOULDING, J. S.; BEAN, N. H.; SLUTSKER, L. **Surveillance for foodborne disease outbreaks**, United States, 1993-1997. **MMWR** 49: 151, 2000.
- PARDI, M. C.; SANTOS, I. F.; DOUZA, E. R.; PARDI, H. S. **Ciência, Higiene e Tecnologia da Carne**. Goiânia: Ed. UFG, 1995. 586 p.
- RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; BLOOD, D. C.; HINCHCLIFF, K. W. **Clínica veterinária: um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e equinos**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2014.
- ROSSI, P.; BAMPI, G. B. Qualidade microbiológica de produtos de origem animal produzidos e comercializados no Oeste Catarinense. **Segurança Alimentar e Nutricional**, Campinas, v. 22, n. 2, p. 748-757, 2015.
- SILVA JÚNIOR, E. A. **Manual de controle higiênico-sanitário em alimentos**. 4. ed. São Paulo: Varela, 2001. 480 p.

SILVA JÚNIOR, E. A. **Manual de controle higiênico-sanitário em serviços de alimentação**. São Paulo: Varela, 2005. 623 p.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de métodos de análises microbiológica de alimentos**. 2. ed. São Paulo: Varela, 2001.

SILVEIRA, T. F. Embalagem de embutidos versus estilo de vida. **Revista**

Nacional da Carne, Rio de Janeiro, v. 18, n. 206, p. 21-26, 1994.

TUSSI, E. K.; LOCATELLI, P. P.; ALFARO, A. T.; BEUX, S. **Avaliação da qualidade físico-química e microbiológica do salame colonial comercializado em São Jorge D'Oeste - PR**. Syn UTFPR. 2008.