

QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE APRESUNTADOS FATIADOS COMERCIALIZADOS NO MUNICÍPIO DE SOBRAL - CE.

Antônia Nádia Brito dos Santos¹
Janielle Barbosa Brito²
Raquel Oliveira dos Santos Fontenelle³

INTRODUÇÃO

A indústria alimentícia enfrenta grandes desafios na preparação de produtos de qualidade que apresentem tempo de prateleira significativo, isto é, livre de microrganismos. Pensando nisso as condições higiênico-sanitárias devem ser aplicadas rigorosamente, de modo a garantir segurança ao consumidor, uma vez que, a falta de higiene é considerada um dos fatores principais para propagação de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTAs).

A carne e os derivados cárneos são alimentos amplamente perecíveis, considerando que ambos possuem vida útil comprometida devido ao teor nutritivo e inserção em ambientes propícios à proliferação bacteriana. Estes produtos, por sua vez, encontram-se diretamente dependentes das condições em que são submetidos, corroborando para o crescimento bacteriano, principalmente durante o armazenamento. Dentre os vários produtos cárneos disponíveis no mercado, o apresuntado a vácuo se destaca em relação à comodidade e preço acessível, pois são comercializados em embalagens contendo porções pequenas previamente fatiadas (GEITENES *et al.*, 2013).

Segundo a Instrução Normativa nº 20, de 31 de julho de 2000, o apresuntado é um produto cárneo industrializado, obtido a partir de recortes e/ou cortes de massas musculares dos membros anteriores e/ou posteriores de suínos, adicionados de ingredientes e submetidos ao processo de cozimento adequado (BRASIL, 2000).

Observa-se com frequência a ocorrência de DTAs que é uma importante causa de morbidade e mortalidade em todo o mundo. Diante disso, o objetivo deste trabalho foi analisar a qualidade microbiológica de apresuntado comercializado em diferentes estabelecimentos do município de Sobral-CE.

METODOLOGIA (OU MATERIAIS E MÉTODOS)

Para a realização das análises foram coletadas três amostras em quatro estabelecimentos distintos localizados na cidade de Sobral-CE, durante o período de Junho e Julho de 2019, perfazendo um total de 12 amostras de apresuntados fatiados. Das amostras três são provenientes de uma padaria denominada A, três amostras de um mercadinho chamado de ponto B, três de um frigorífico no mercado nomeado ponto C e três de um supermercado designado ponto D. As amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Microbiologia da Universidade Estadual Vale do Acaraú, onde ocorreram análises para verificação de Coliformes Totais a 37 °C e Coliformes Termotolerantes a 45 °C.

¹ Graduanda do Curso de **Ciências Biológicas** da Universidade Estadual Vale do Acaraú - UVA, nadiabs_@outlook.com;

² Graduanda do Curso de **Ciências Biológicas** da Universidade Estadual Vale do Acaraú - UVA, janiellebarbosa123@gmail.com;

³ Professora orientadora: Doutora, Universidade Estadual Vale do Acaraú - UVA, raquelbios@yahoo.com.br

Ao chegar ao laboratório pesou-se 25g da amostra e foi homeogenizada com 225 ml de solução salina (0,85%) estéril, preparando assim a diluição 10^{-1} , em seguida 1ml dessa solução foi dissolvida em 9 ml de solução salina presente em tubo, constituindo assim a solução 10^{-2} , procedendo da mesma forma para a diluição 10^{-3} . Esse procedimento foi realizado para todas as amostras.

O Número Mais Provável (NMP) de Coliformes Totais (CT) e Coliformes Termotolerantes (CTT) foi determinado através da técnica dos tubos múltiplos (BLODGETT, 2003). O teste foi realizado em três etapas distintas: prova presuntiva, prova para determinação de coliformes totais e termotolerantes e prova bioquímica (FENG; WEAGENT; GRANTE, 2002).

Para o teste presuntivo utilizou-se 10 mL de caldo lactosado com tubos de *duhran* invertidos. Os tubos foram distribuídos em três séries de cinco tubos, cada série equivalente a uma diluição 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} . Após a inoculação os tubos foram incubados na estufa bacteriológica a 35 °C por um período de 48 horas. Passado esse tempo os tubos considerados positivos apresentavam-se com meio turvos e produção de gás com formação de bolha dentro do tubo de *duhran*, sendo estes submetidos aos demais testes (JAKABI; FRANCO, 1991).

Para a identificação de Coliformes Totais (CT) foram tiras alíquotas dos tubos positivos de lactosado e inoculados em novos tubos contendo 5 ml de Caldo Bile Verde Brilhante (CBVB), com tubos de *duhran* invertidos, sendo incubados a 35° C na estufa por 48 horas. A partir dos resultados consultou-se a tabela (GARTHRIGHT, 2001) para a verificação dos resultados de CT.

Para a verificação de Coliformes Termotolerantes foram retiradas alíquotas dos tubos positivos de lactosado e transferidas para tubos contendo 5 ml de caldo *Escherichia coli* (EC) com tubos de *duhran* invertidos, posteriormente foram incubados em banho-maria a 45° C, por 48 horas, para a estimativa de CCT. De acordo com os tubos positivos, a tabela do NMP foi consultada para a obtenção do NMP dos CTT.

No isolamento e identificação de *E. coli*, foram retiradas alíquotas dos tubos positivos de EC e semeados com alça de níquel cromo em placas contendo meio Eosin Methylene Blue Ágar (EMB) e incubados em estufa a 35 °C por 24 horas. As colônias com características positivas para *E. coli*, de coloração verde brilhante, foram isoladas em Tryptic Soy Ágar (TSA). Os tubos de TSA foram incubados em estufa a 35 °C por 24 horas. Após esse período as cepas isoladas foram submetidas aos testes bioquímicos ImVic: Indol, Vermelho de Metila (VM), Vogues Proskauer (VP), Citrato de Simons (KONEMAM *et al*, 1993)..

DESENVOLVIMENTO

O alimento propicia a quem consome um aporte de fundamental importância. Por outro lado, essa riqueza em nutrientes faz dele um meio de cultura ideal para a multiplicação de microorganismos (MOTTIN, 2008). As carnes em geral apresentam uma composição química que as tornam excelentes meios de cultura, o que favorece o crescimento microbiano (FRANCO; LANDGRAF, 2005).

A contaminação de alimentos pode ocorrer por controle inadequado de temperatura, manipulação incorreta ou contaminação cruzada (FORSYTHE, 2002). E para isso microorganismos indicadores são utilizados para avaliar a qualidade microbiológica e determinar a qualidade sanitária de água e alimentos. (FRANCO; LANDGRAF, 2005).

Os coliformes são grupos de microorganismos presentes nas fezes, no ambiente, no solo, e nas superfícies de vegetais de animais e utensílios (RODRIGUES *et al*, 2003). Dentre os indicadores de contaminação mais utilizados destacam-se as bactérias da família

Enterobacteriaceae denominadas grupo Coliformes totais, e que compõe os gêneros, *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter* e *Klebsiella*.

Neste contexto estudos realizados por Gottardi *et al.* (2006) em estabelecimentos que comercializam alimentos em Porto Alegre - RS, em alguns casos, mesmo depois da higienização de equipamentos e superfícies houve a introdução de coliformes totais e estafilococos, conclui-se que, procedimentos de treinamentos, controle e avaliação devem ser implementado para garantir a segurança dos alimentos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 12 amostras coletadas 41,6% (5 amostras) foram positivas para Coliformes Totais (CT). No estabelecimento A os resultados variaram entre $1,1 \times 10$ NMP/g a $1,6 \times 10^3$ NMP/g possuindo um valor médio de $1,6 \times 10^3$ NMP/g. No ponto B os valores foram entre $1,4 \times 10$ NMP/g a $1,6 \times 10^3$ NMP/g com valor médio de $6,1 \times 10^2$ NMP/g. Já no ponto C os valores encontrados foram entre $9,2 \times 10^2$ NMP/g a $1,6 \times 10^3$ NMP/g com valor médio de $1,3 \times 10^3$ NMP/g. Enquanto no ponto D os resultados encontrados foram $4,9 \times 10$ NMP/g a $1,6 \times 10^3$ NMP/g com média de $6,9 \times 10^2$ NMP/g.

Diante dos resultados encontrados para (CT) observa-se que o ponto A mostrou um valor médio mais elevado, segundo trabalhos realizados por Gottardi *et al.* (2006) que buscou analisar as condições higiênico-sanitárias do ambiente de manipulação de produtos fatiados, esse fato pode está associado à uma higienização e sanitização deficiente de matérias e dos utensílios de fatiamento, pois como coliformes totais são bactérias ambientais a falta de higiene rigorosa permite o crescimento desses microrganismo.

Quando observados os resultados para Coliformes Termotolerantes (CTT) o ponto A os resultados variaram entre $<2,0$ NMP/g a $6,8 \times 10$ NMP/g com variação média de $1,9 \times 10$ NMP/g. O ponto B os resultados foram $<2,0$ NMP/g a $2,4 \times 10^2$ NMP/g variando entre $2,4 \times 10$ NPM/g. Já no ponto C encontrou-se os seguintes resultados $<2,0$ NMP/g a $1,3 \times 10^2$ NMP/g com variação média de $4,7 \times 10$ NMP/g. Enquanto no ponto D os achados foram $0,2 \times 10^{-2}$ NMP/g a $6,3 \times 10$ NMP/g com média variando em $2,2 \times 10$ NMP/g.

Mottin (2008) em trabalho realizado com apresetado comercializados em supermercados de Porto Alegre - RS, demonstrou que em todos os estabelecimentos tiveram amostras com índices de contaminação por Coliformes Termotolerantes foram iguais ou superiores a $1,8 \times 10^3$ NMP/g. Resultados superiores aos encontrados no presente trabalho.

Segundo Rossi e Bampi (2015) em análises realizadas com produtos cárneos, entre eles apresetados os resultados foram satisfatórios, considerada a legislação vigente, os autores salientam que os procedimentos empregados na elaboração dos derivados de carne permitem a conservação dos produtos por um tempo maior, devido às técnicas de cozimento, porém as etapas que antecedem e sucedem a elaboração devem ser monitorada e seguir as boas práticas de elaboração.

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde (ANVISA), de 2 de Janeiro de 2001, na Resolução RDC nº12, estabelece para produtos cárneos cozidos ou não, o limite de tolerância do NMP de Coliformes Termotolerantes de no máximo 1×10^3 NMP/g (BRASIL, 2001). Diante dos resultados apresentados evidencia-se que os produtos analisados estão dentro do padrão para CTT.

Na análise do teste bioquímico foram identificadas 21 cepas da família enterobactericeae, destas 52,3% (11 cepas) foram *Serratia liquefaciens*, 23,8% (5 cepas) *Klebsiella pneumoniae*, 14,3% (3 cepas) *Hafnia alvei*, 4,8% (1 cepa) *Enterobacter* sp. e 4,8% (1 cepa) *Citrobacter freundii*.

A presença destas espécies pode estar relacionada com a falta de higiene dos manipuladores desse alimento, pois as enterobactérias são uma família de bacilos gram-negativos que embora possa ser encontrados amplamente na natureza, a maioria habita o intestino do homem e dos animais, seja como agentes da microbiota normal ou como de infecção (TRIBULSI, 2002).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

As amostras de apresuntados analisadas apresentaram adequada avaliação microbiológica para coliformes termotolerantes de acordo com a legislação vigente, no entanto os elevados resultados de coliformes totais são indícios de condições higiênico-sanitárias inadequadas nas etapas de processamento ou armazenamento do produto.

Por isso ressalta-se a importância de uma fiscalização mais rigorosa e efetiva diante das vendas de alimentos, assim como adoção de medidas de boas práticas de manipulação tanto dos fabricantes como dos estabelecimentos.

Faz-se necessário mais estudos de fiscalização quanto a alimentos fatiados refrigerados, tendo em vista que são alimentos de fácil acesso devido sua comodidade e também á poucas publicações quanto o assunto, visto que esses alimentos oferecem riscos aos consumidores.

Palavras-chave: Coliformes; Higiênico-sanitárias, Alimento, Doenças, Contaminação.

REFERÊNCIAS

BRASIL. Agência Nacional de vigilância Sanitária. Resolução – RDC n. 12, 2 de Janeiro de 2001. Estabelece Padrões microbiológicos de alimento. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**. Poder Executivo, Brasília, DF, 10 jan, 2001, p. 45-53.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. **Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Almôndega, de Apresuntado, de Fiambre, de Hamburger, de Kibe, de Presunto Cozido e de Presunto**. Instrução Normativa nº 20, de 31 de julho de 2000.

BLODGETT, R. Most Probable Number from Serial Dilutions. In US FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA), **Bacteriological Analytical Manual Online**. Revision July 2003. Disponível em: <<http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm2006949.htm>>. Acesso em: 10 jul. 2019.

FENG, P.; WEAGANT, S. D.; GRANTE, M. A. Enumeration of Escherichia coli and the coliform bacteria, 2002. In: Food and drug administration-FDA/CF-SAN. Bacteriological analytical manual online. Disponível em: <<http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm064948.htm>> Acesso em: 10 jul. 2019.

FORSYTHE, S.J. **Microbiologia de segurança alimentar**. Porto Alegre: Artmed, 2002, 424p.

FRANCO, B. D. G. M; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2005. 195p.

GARTHIGHT, R. Appendix 2: most probable number from serial dilutions. In: Food and Drug Administration – FDA. **Bacteriological Analytical Manual online**. FDA/CFSAN, 2001. Disponível em: <<http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-a2.html>> Acesso em: 10 de Julho de 2019.

GEITENES, S.; OLIVEIRA, M. F. B.; KALSCHNE, L. D.; SARMENTO, C. M. P. Modelagem do Crescimento de Bactérias Lácticas e Análise Microbiológica em Apresuntado e Presunto Cozido Fatiados e Embalados a Vácuo. **Revista Ciências Exatas e Naturais**, v.15, n.1, p. 113-133, 2013.

GOTTARDI, C. P. T. **Avaliação das condições higiênico-sanitárias do ambiente de manipulação de produtos fatiados de origem animal de redes de supermercados de Porto Alegre**. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2006.

JAKABI, M.; FRANCO, B. D. M. Frequência de isolamento de cepas de *E.coli* patogênicas em alimentos de origem animal. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v. 11, n. 1, p. 170-181, 1991.

KONEMAN, E. W.; ALLEN, S. D.; JANDA, W.; WINN, W. Jr.; PROCOP, G.; SCHRECKENBERGER, P.; WOODS, G. **Diagnóstico Microbiológico: texto e atlas colorido**. 6^a ed. Guanabara Koogan, 2008. 1760 p.

MOTTIN, V. D. Avaliação Microbiológica de Apresuntados, Fatiados e Comercializados em Supermercados de Porto Alegre, RS. **Dissertação** (Mestrado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente) – Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008.

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.

RODRIGUES, K. L.; GOMES, J.P.; CONCEIÇÃO, R.C.S.; CARVALHAL, J.B.; ALEIXO, J.A.G. Condições higiênico-sanitárias no comércio de alimentos em Pelotas-RS. **Ciências e Tecnologia de Alimentos**. Campinas v.23, n.3, p.447-452, 2003.

TRABULSI, L.R. **Microbiologia**. 3. Ed. São Paulo: Atheneu, 2002.