

CONIC SEMESP

15º Congresso Nacional de Iniciação Científica

TÍTULO: ANÁLISE BACTERIANA DE CACHORRO QUENTE DE AMBULANTES

CATEGORIA: CONCLUÍDO

ÁREA: CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E SAÚDE

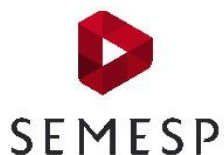
SUBÁREA: BIOMEDICINA

INSTITUIÇÃO: CENTRO UNIVERSITÁRIO DAS FACULDADES METROPOLITANAS UNIDAS

AUTOR(ES): LÍNDISSY LUARA PEREIRA SANTOS

ORIENTADOR(ES): LUCIANA FRIAS REYES, SARAH PIGATO CANOVA

Realização:



Apoio:



1. RESUMO

O comércio de alimentos produzidos por vendedores ambulantes pode ser fator de alto risco para a saúde dos consumidores visto que os comerciantes envolvidos, geralmente, não têm formação adequada para a correta manipulação de alimentos. O objetivo desse trabalho foi analisar microbiologicamente amostras de cachorros-quentes provenientes de vendedores ambulantes de um terminal rodoviário central da cidade de São Paulo – SP/Brasil. Foram colhidas seis amostras e realizadas análises quantitativas para *Staphylococcus aureus*, coliformes totais e termotolerantes, bactérias aeróbicas mesófilas, aeróbicas psicrotróficas e análises qualitativas para *Salmonella* spp. Entre as amostras analisadas, 66% foram positivas para *Staphylococcus aureus*, 33% para bactérias aeróbicas psicrotróficas e 100% para *Salmonella* spp., 100% para bactérias aeróbicas mesófilas. Os resultados comprovam que nenhuma das amostras de cachorros-quentes estavam adequadas para o consumo humano, devido falta das boas práticas de manipulação, conservação e higiene durante o preparo.

2. INTRODUÇÃO

O comércio de alimentos de rua tem crescido exponencialmente em inúmeros países, incluindo o Brasil, devido ao estilo de vida e rotina de pessoas que não disponibilizam de tempo para o preparo de seus alimentos de forma caseira, optando pela praticidade e rapidez de lanches que são comercializados próximo ao trabalho ou local de estudo (PARISSENTI *et al.*, 2013). Um dos principais lanches consumidos é o cachorro-quente, que é constituído, basicamente, por pão, salsicha, *ketchup*, maionese, purê de batata e batata palha (SEBRAE, 2015). A salsicha é definida como um produto cárneo industrializado, obtido da emulsão de carne de uma ou mais espécies de animais de açougue, adicionados de ingredientes, embutidos em envoltório natural, artificial ou por processo de extrusão, e submetido a processamento térmico. Podem, ainda, passar por processo alternativo de tingimento, depelação, defumação e colocação de recheios e molhos (MAPA, 2000).

A capacidade de crescimento e de sobrevivência de micro-organismos patogênicos nos alimentos depende de um conjunto de fatores extrínsecos e intrínsecos que os influenciam, tais como: temperatura, pH, atividade da água e potencial óxido-redução, cada qual podendo ser manipulado convenientemente de modo a impedir a contaminação e o crescimento de patógenos (PINTO, 1996).

Dentre as enfermidades que esses micro-organismos podem causar, destaca-se a intoxicação alimentar, atualmente um dos grandes problemas de saúde pública em todo o mundo (PRAXEDES, 2003), e é causada por toxinas microbianas que não possuem sabor ou odor e não alteram as características organolépticas dos alimentos (BATISTA; VENÂNCIO, 2003).

A infecção alimentar é outra importante enfermidade causada por micro-organismos patogênicos por meio da ingestão de alimentos com elevada carga microbiana (WELKER *et al.*, 2010). No Brasil, entre os anos de 1999 e 2004, o custo com as internações devido à doenças veiculadas por alimentos chegaram a 280 milhões de reais, resultando em uma média de 46 milhões por ano (BRASIL, 2005).

Ambas enfermidades podem ser causadas pela ingestão de água ou alimentos contaminados por micro-organismos tais como bactérias dos gêneros *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium* spp. (WINN, 2008), dentre outros.

O gênero *Salmonella* spp. é pertencente à família Enterobacteriaceae, classificado como bastonetes Gram negativos, não formadores de esporos, anaeróbios facultativos e oxidase negativos. A maioria dos casos de salmonelose em humanos provoca gastroenterite auto-limitante caracterizada por diarreia, febre e cólicas abdominais (ANVISA, 2004; WINN, 2008).

A espécie *Staphylococcus aureus* é esférica, aeróbia ou anaeróbia facultativa, Gram positiva e que cresce na forma de cachos de uva. Essas bactérias provocam infecções ou intoxicações e fazem parte da microbiota residente dos seres humanos, podendo ser encontradas na pele, mucosas oral e nasal e intestino. Cabe ressaltar que estas bactérias, por serem naturais residentes, não causam doenças enquanto permanecem restritas a esses locais (ANVISA, 2004; WINN, 2008).

A *Escherichia coli* é um bacilo Gram-negativo, anaeróbica facultativa e não produz esporos. Possui flagelo peritricheos, lactase positiva e fimbrias ou adesina que permitem a sua fixação. Alguns grupos, tais como EPEC (*E. coli* Enteropatogênica), ETEC (*E. coli* Enterotoxinogênica), EHEC (*E. coli* Entero-hemorrágica), EAEC (*E. coli* Enteroagregativa) e EIEC (*E. coli* Enteroinvasiva) produzem exotoxinas. Pode causar sintomas de febre em humanos ou em animais, além de diarreia, náuseas, vômitos e, se formadores de exotoxinas, demais complicações como paralisias renais, danos ao sistema do nervoso central, septicemia, dentre outras. Seu habitat primário é o lúmen intestinal de seres humanos e de outros animais de sangue quente sendo,

portanto, considerados pertencentes ao grupo dos coliformes fecais (ANVISA, 2004; WINN, 2008). Por serem capazes de fermentar a 45°C, são atualmente classificados como termotolerantes.

Os gêneros bacterianos acima descritos podem ser indicativos de contaminação alimentar e, desta forma, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária, estabelece padrões microbiológicos, por meio da Resolução – RCD nº 12 de 02 de janeiro de 2001, para verificar a qualidade dos alimentos, tendo como objetivo estabelecer os padrões microbiológicos sanitários para alimentos específicos e determinar os critérios para a conclusão e interpretação dos resultados das análises microbiológicas de alimentos destinados ao consumo humano.

3. OBJETIVOS

Este trabalho visou analisar microbiologicamente amostras de cachorro-quente provenientes de vendedores ambulantes de um terminal rodoviário central da cidade de São Paulo – SP/Brasil.

4. METODOLOGIA

As análises microbiológicas das amostras de cachorro-quente foram realizadas conforme Carmona (1999), em triplicata, utilizando-se a Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) nº12 de 2001 com padrão.

5. DESENVOLVIMENTO

As amostras de cachorro-quente foram coletadas em embalagem original, acondicionadas em recipiente isotérmico e mantidas em temperatura de 2 a 8° C no Laboratório Interdisciplinar do Centro Universitário das Faculdades Metropolitanas Unidas onde foram realizadas as análises.

Foram avaliadas seis amostras de cachorro-quente, em triplicata, coletados num terminal rodoviário na região central da cidade de São Paulo – SP/Brasil. Foi utilizado 50g de cada amostra, sendo 25g para quantificação de *Staphylococcus aureus*, coliformes totais e termotolerantes, aeróbios mesófilos e psicrótrofilos com enriquecimento em solução salina peptonada (225mL), e as demais 25g foram colocadas em solução água tamponada (225mL) e incubadas à 37° C em estufa por 24 horas para pesquisa qualitativa de *Salmonella* spp.

A partir da solução diluente com o alimento, que representa a diluição 10^{-1} , uma alíquota de 1mL foi transferida para tubos de ensaio contendo 9mL da mesma solução para diluição 10^{-2} , repedindo-se o mesmo procedimento para obtenção das diluições 10^{-3} e 10^{-4} . Para a pesquisa de *S. aureus*, 100 μ L de cada diluição foi semeado em placas de meio Baird Parker, em triplicata. Os inóculos foram espalhados com auxílio de alça de Drigalski, incubados a 37 $^{\circ}$ C com leitura de 24 horas, observando o crescimento de colônias circulares, pretas e pequenas.

Para a pesquisa de coliformes totais, foram utilizadas as mesmas diluições, das quais 1mL de cada tubo foi transferido para tubos contendo caldo Lauryl com tubo de Durhan invertido, em triplicata, incubados por 24 horas à 37 $^{\circ}$ C. Os tubos positivos, com turvação do meio e formação de gás, foram transferidos (1mL) para tubos contendo caldo Verde Brilhante Bile (VB), com tubo de Durhan invertidos, e incubados por mais 24 horas a 37 $^{\circ}$ C.

Para a pesquisa de coliformes termotolerantes, foram utilizados os tubos positivos de VB, onde alíquotas de 1mL de cada tubo foram transferidas para tubos contendo caldo *E. coli* (EC), e mantidos em banho-maria a 45 $^{\circ}$ C por 24 - 48 horas, para observação da produção de gás. De cada tubo positivo, foi semeado 100 μ L em placas de Petri contendo Ágar Eosina Azul de Metileno (EMB) por plaqueamento direto por profundidade, e incubadas em estufa a 37 $^{\circ}$ C por 24 horas para observação da formação de colônias verde brilhante, típicas de *E. coli*.

Para a pesquisa de aeróbios mesófilos e psicrotrófilos, foram utilizadas as mesmas diluições, com transferência (em triplicata), de 100 μ L para placas contendo Ágar Padrão para Contagem (PCA) e o inóculo espalhado com auxílio de alça de Drigalski. As placas referentes aos micro-organismos mesófilos foram incubadas em estufa a 37 $^{\circ}$ C por 24 horas, e as demais incubadas na geladeira a 7 $^{\circ}$ C com leituras de 24, 48 e 72 horas para pesquisa de psicrotróficos.

Para a análise qualitativa de *Salmonella* spp., a água tamponada com o alimento permaneceu em estufa a 37 $^{\circ}$ C por 24 horas e, após esse período, 1mL da solução foi transferida para tubos de caldo Tetrionato e mantidos por 24 horas em estufa a 37 $^{\circ}$ C. A partir deste enriquecimento, foi realizado plaqueamento diferencial de 100 μ L em Ágar Xilose Lisina Desoxicolato (XLD). As placas permaneceram em estufa a 37 $^{\circ}$ C por 24 horas para observação de possível crescimento de colônias pretas, devido a produção de H₂S. Para confirmação, 1 colônia característica foi inoculada em tubos inclinados de Ágar Tríplice Açúcar Ferro (TSI) e incubados a 37 $^{\circ}$

C por 24 horas, e 1 colônia característica foi inoculada em tubos contendo meio uréia (para diferenciá-la do gênero *Proteus* spp.).

6. RESULTADOS

Os resultados das análises microbiológicas realizadas foram comparados com os padrões estabelecidos pela Resolução RDC nº 12 de 02/01/01, e podem ser visualizados na Tabela 1.

Tabela 1. Resultados das análises microbiológicas de cachorros-quentes comercializados em um terminal rodoviário na região central de São Paulo – SP/Brasil.

Micro-organismos	Amostras						Padrão RDC nº 12
	A	B	C	D	E	F	
Coliformes Termotolerantes	-	-	-	-	-	-	5 x 10 ⁴ UFC/mL
<i>Staphylococcus aureus</i>	Incontáveis	2 x 10 ⁵ UFC/mL	7,6 x 10 ⁵ UFC/mL	5 x 10 ⁵ UFC/mL	-	3,1 x 10 ⁶ UFC/mL	5 x 10 ³ UFC/mL
<i>Salmonella</i> spp	+	+	+	+	+	+	Ausente
Psicrotróficos	Incontáveis	Incontáveis	-	-	-	-	10 ³ UFC/mL
Mesófilos	Incontáveis	7,3 x 10 ⁵ UFC/mL	1,3 x 10 ⁴ UFC/mL	Incontáveis	2,43 x 10 ⁷ UFC/mL	3,0 x 10 ⁶ UFC/mL	10 ³ UFC/mL

Onde: + apresentou crescimento microbiano; - ausência de crescimento microbiano.

Em nenhuma das amostras foi verificada a presença de Coliformes Termotolerantes. De acordo com Martins *et al.* (2008) a presença dos coliformes a 45°C podem ser enquadradas em produtos com uma higienização inadequada, mas também é bastante variável já que está relacionada às condições em que a matéria prima foi obtida, ao processamento do produto, ao modo da estocagem, a manipulação e a comercialização.

Em 66% das amostras foi confirmada a contaminação por *Staphylococcus aureus* acima dos valores preconizados pela legislação (Tabela 1), o que torna as amostras inadequadas para consumo. A contagem elevada de unidades formadoras de colônias indica falta de higiene na manipulação dos alimentos (RODRIGUES *et al.*, 2003) e podem causar surtos de intoxicação alimentar e ainda, indicar a contaminação pós-processo ou condições inadequadas de sanificação das superfícies destinadas ao contato com o alimento (ALVES; JARDIM, 2010).

Em análise de cachorros quentes feita por Alves e Jardim (2010), verificou-se que, 20% das amostras foram positivas para Coliformes Termotolerantes e 10% para *S.*

aureus. O resultado final desta análise provou que 20% das amostras estavam em desacordo com os padrões legais.

A presença de *Salmonella* spp. foi constatada em 100% das amostras analisadas no presente estudo (Tabela 1), em concordância com resultados obtidos por Garcia-Cruz, Hoffman e Bueno (2000) que, também, analisaram cachorros-quentes vendidos por ambulantes. As bactérias deste gênero tornam os alimentos inadequados para o consumo humano por se tratarem de espécie altamente infectante e virulenta e, de acordo com a legislação vigente, este gênero deve estar ausente nos alimentos (BRASIL, 2001). Esta bactéria pode ser isolada de diferentes pontos do processo de produção do alimento em consequência de práticas inadequadas de manipulação, sanitização e sua rápida capacidade de disseminação (SILVA *et al.*, 2007).

As bactérias aeróbicas mesófilas foram confirmadas em 100% das amostras, em discordância com o preconizado pela legislação vigente (Tabela 1). Em análise feita por Rodrigues *et al.* (2003), 48% das amostras obtiveram resultados insatisfatórios e, dos estabelecimentos analisados, as superfícies de manuseio de alimentos apresentaram higiene inadequada em cerca de 70%. A alta contagem de mesófilos aeróbios serve de alerta às autoridades de saúde pública para o risco potencial de causarem intoxicações alimentares (SAEKI; MATSUMOTO, 2010).

As bactérias aeróbicas psicotróficas foram encontradas em 33% das amostras analisadas (Tabela 1), diferentemente do trabalho de Carvalho *et al.* (2005), no qual nenhuma amostra apresentou crescimento excessivo. A presença de micro-organismos desse tipo diminui a vida útil dos ingredientes utilizados no preparo do alimento e pode causar intoxicação alimentar mesmo estando dentro do prazo de validade e em refrigeração adequada (SAEKI; MATSUMOTO, 2010).

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Por meio da avaliação microbiológica de cachorros-quentes vendidos por ambulantes, foi possível evidenciar que nenhuma das amostras estavam adequadas para o consumo humano. Esses resultados indicam que a manipulação, conservação e higiene do comércio estão inadequados, podendo causar intoxicação e/ou infecção alimentar nos consumidores ou, ainda, problemas de saúde mais graves dependendo do grau de contaminação e do gênero causador da enfermidade.

8. FONTES CONSULTADAS

ALVES, P.; JARDIM, F. Análise microbiológica de cachorros-quentes comercializados na cidade de Uberaba, MG. **Cadernos de Pós-Graduação da FAZU**, v. 1, 2010.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília (DF); 10 jan 2001; Seção I(7-E):45-53.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretária de Vigilância em Saúde. Vigilância epidemiológica das doenças transmitidas por alimentos no Brasil, 1999 – 2004. **Boletim eletrônico epidemiológico**, ano 05, n. 6, dezembro 2005.

CARMONA, S. G. Avaliação da qualidade microbiológica de alimentos manipulados e mantidos sob refrigeração em supermercados, São Paulo, SP. 1999. Monografia – Centro Universitário das Faculdades Metropolitanas Unidas, São Paulo.

CARVALHO, A. *et al.* Presença de micro-organismos mesófilos, psicrótrópicos e coliformes em diferentes amostras de produtos avícolas. **Arq. Inst. Biol.**, v.72, n.3, p.303-307, 2005.

GARCIA-CRUZ, C.; HOFFMAN, F.; BUENO, S. Monitoramento microbiológico de lanches vendidos por ambulantes na parte central da cidade de São José do Rio Preto, SP. **Higiene Alimentar**, v.14, n.77, p 27-23, 2000.

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Nº 4, DE 31 DE MARÇO DE 2000. Disponível em: http://extranet.agricultura.gov.br/sislegisconsulta/consultarLegislacao.do?operacao=v_sualizar&id=7778, acesso em: 29/03/2015.

MARTINS, L. *et al.* Avaliação do perfil bacteriológico de salsinhas tipo “hot dog” comercializadas em embalagens a vácuo e a granel em supermercados dos municípios Rio de Janeiro e Niterói, RJ/Brasil. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, v.67, nº3, p 215-220, 2008.

PARISSENTI, A.C.; *et al.* **Avaliação microbiológica de cachorro-quente comercializado por vendedores ambulantes na cidade de videira, SC**- Unoesc & Ciência - ACBS, Joaçaba, v. 4, n. 1, p. 91-100, jan./jun. 2013

PINTO, A. F.M. **Doenças de origem microbiana transmitidas pelos alimentos**. **Revista Educação Ciência e Tecnologia**, n. 4, pág. 91-100, Out. 1996.

PRAXEDES. P. C. G. **Aspectos da qualidade higiênico-sanitária de alimentos consumidos e comercializados na comunidade São Remo**, São Paulo, Capital. 2003. Dissertação - Faculdade Medicina Veterinária e Zootecnia, São Paulo, 2003.

RODRIGUES, Kelly Lameiro *et al.* Condições higiênico-sanitárias no comércio ambulante de alimentos em Pelotas - **RS**. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 3, nº 23, p. 447-452, set./dez. 2003.

SAEKI, E.; MATSUMOTO, L. Contagem de mesófilos e psicrotrofos em amostra de hot dog. **Rev. Inst. Lacti. "Cândido Tostes"**, v. 65, nº 337, p. 29-35, 2010.

SEBRAE. **Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas**. Disponível em: <<http://www.sebrae.com.br/sites/PortalSebrae/ideias/Como-montar-um-carrinho-de-cachorro-quente>>. Acesso em: 03 abr. 2015

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.; SILVEIRA, N. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos**, Livraria Varela, São Paulo, 2007. 295p.

Site:http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/a47bab8047458b909541d53fbc4c6735/RDC_12_2001.pdf?MOD=AJPERES, acesso em 11/04/2015 às 13h42min.

Site:http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/microbiologia/mod_5_2004.pdf, acesso em 11/04/2015 às 13h34min.

WELKER, C. *et al.* Análise microbiológica dos alimentos envolvidos em surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTA) ocorridos no estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Rev. Bras. Bioci.**, Porto Alegre, v.8, n.1, p.44-48, 2010.

WINN, W. *et al.* **Koneman Diagnóstico Microbiológico**, 6ª ed., editora Guanabara Koogan, 2008.