



**Pró-Reitoria de Graduação
Curso de Nutrição
Trabalho de Conclusão de Curso**

**ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE PRESUNTOS
FATIADOS INDUSTRIALIZADOS
COMERCIALIZADOS EM SUPERMERCADOS DE
BRASÍLIA**

**Autor: Suelen de Almeida Alves
Orientador: Prof. MSc. Antônio José de Rezende**

**Brasília - DF
2013**

SUELEN DE ALMEIDA ALVES

**ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE PRESUNTOS FATIADOS
INDUSTRIALIZADOS COMERCIALIZADOS EM SUPERMERCADOS DE
BRASÍLIA**

Artigo apresentado ao curso de graduação em
Nutrição da Universidade Católica de Brasília,
como parte dos requisitos para a obtenção do
título de Bacharel em Nutrição.

Orientador: Prof. MSc. Antônio José de
Rezende

**Brasília - DF
2013**



Artigo de autoria de Suelen de Almeida Alves, intitulado ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE PRESUNTOS FATIADOS INDUSTRIALIZADOS COMERCIALIZADOS EM SUPERMERCADOS DE BRASÍLIA, apresentado como requisito parcial para obtenção do grau de Bacharel em Nutrição da Universidade Católica de Brasília, em 19 de Novembro de 2013, defendido e aprovado pela banca examinadora abaixo assinada:

Prof. MsC. Antônio José de Rezende

Orientador

Nutrição – UCB

Profa. MsC. Marcus Vinícius Vasconcelos Cerqueira

Nutrição – UCB

Brasília - DF
2013

RESUMO

Este trabalho realizou análises microbiológicas em laboratório, em que foram testadas amostras de presuntos fatiados comercializados em diferentes supermercados de Brasília. Estas amostras foram analisadas para a enumeração dos coliformes totais e termotolerantes, pela técnica de fermentação em tubos múltiplos e a contagem de Mesófilos, *Staphylococcus*, *Escherichia coli*, *Salmonella sp.* Observou-se o crescimento de coliformes totais em todas as amostras, no entanto não foi observado crescimento de coliformes termotolerantes. Houve crescimento de colônias de *Salmonella sp.* em uma das amostras. Perante os resultados obtidos, pode-se concluir que os alimentos analisados apresentaram possíveis falhas durante o seu processamento e/ou armazenamento resultando na contaminação dos mesmos, o que põe à prova a sua qualidade sanitária.

Palavras-Chave: Análise microbiológica; presuntos fatiados; contaminação; coliformes totais e termotolerantes, *Salmonella sp*, *Staphylococcus*, *Escherichia coli*.

ABSTRACT

The aim of this work was to evaluate some microbiological analyses of sliced ham commercialized in different supermarkets of Brasília and carried out at a laboratory. The enumeration of total fecal coliforms as well as of thermotolerant coliforms was performed in the analyzed samples using the Multiple-Tube formation technique and the count of *Staphylococcus*, *Escherichia coli*, *Salmonella sp.* The growth of total coliforms in all samples was perceived while in the samples with thermotolerant coliforms it was undetected. In regard of the samples containing *Salmonella sp.*, it was detect the growing of colonies in a sample. Thus, it can be inferred that some failures can have happened during processing and/or storage of the analyzed foods that resulted in its contamination, putting its sanitary quality to the test.

Keywords: Contamination; *Escherichia coli* Microbiological analyses; Total and thermotolerant coliforms; *Salmonella sp.*; Sliced ham; *Staphylococcus*.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	7
2. MATERIAIS E MÉTODOS	11
3. RESULTADO E DISCUSSÃO	13
4. CONCLUSÃO	15
5. REFERÊNCIAS	16

1. INTRODUÇÃO

O presunto caracteriza-se por ser um alimento bastante consumido e apreciado pela população mundial, tendo em vista a qualidade de suas características organolépticas, dentre as quais podemos citar seu sabor e aroma característico (COSTA *et al.*, 2007). No Brasil houve um aumento progressivo na produção e consumo de presunto nos últimos anos. Segundo a Pesquisa Industrial Anual de Produtos realizada pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2000), os presuntos encontram-se classificados como produtos de salami, cuja produção anual gira em torno de 372 milhões de unidades de presunto. De acordo com a Normativa nº 20 estabelecida pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – BRASIL (2000) entende-se por presunto, o produto cárneo industrializado obtido dos cortes de membros posteriores de suínos e outras espécies de animais de açougue, desossados ou não e submetidos a um processo térmico adequado. Trata-se de um produto curado, cozido ou semi-cozido e defumado ou não.

O fatiamento de alimentos realizado em estabelecimentos comerciais, decorrente da crescente demanda e redução de preços, submete o alimento a novos riscos de manipulação e contaminação cruzada (GOTTARDI *et al.*, 2008) e tem contribuído para o aumento do número de enfermidades transmitidas por alimentos (FAI *et al.*, 2007; BRESSAN *et al.*, 2007). A maioria dessas enfermidades é provocada por ação de bactérias patogênicas e, de acordo com Longrée & Blaker (1971), esses agravos caracterizam-se por formas violentas de transtornos do estômago e dos intestinos (gastroenterites). Geralmente, apresentam como principais sintomas vômitos e/ou diarreia, além de dores abdominais entre as 2-3 horas até 36 horas depois da ingestão de alimentos veiculadores de contaminantes (HOBBS, 1971). Além do processo de fatiamento, as características intrínsecas do presunto e as condições de temperatura e estocagem após fatiamento tendem a reduzir a vida de prateleira destes alimentos, comprometendo não somente as características organolépticas e a aparência do produto, como também o tornando um fator de risco aos seus consumidores, visto que o presunto já se encontra pronto para o consumo, sendo, portanto, consumido sem nenhum tratamento térmico pós-processamento que possa reduzir sua microbiota presente (MARANHO *et al.*, 2004; FAI *et al.*, 2007). Micro-organismos indicadores e patogênicos são utilizados para pesquisa e avaliação da qualidade microbiológica dos alimentos. Dentre os indicadores de contaminação mais utilizados destacam-se as bactérias da família *Enterobacteriaceae* denominadas grupo Coliformes totais, e que compõem os gêneros *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter* e *Klebsiella*. Dos gêneros citados, a espécie *E.coli*

possui maior importância, pois tem como principal habitat o trato intestinal de homens e animais e é a única bactéria pertencente ao grupo coliforme de origem fecal. A presença de Coliforme total em amostras não indica, necessariamente, contaminação fecal ou patogenicidade (OPAS/INPAZ, 2001). A presença de um grande número desses microorganismos pode ser indicador de manipulação inadequada, armazenamento impróprio dos alimentos ou falha na higiene durante o processamento do produto (FRANCO; LANDGRAF, 2007). De acordo com a RDC nº12 de janeiro de 2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), os padrões microbiológicos para presuntos fatiados consistem em tolerância para amostra indicativa de Coliformes a 45° C/g de até 10³ NMP/g, *Staphylococcus* coagulase positiva de até 3 x 10³ UFC/g, *Clostridium* Sulfito Redutor a 46° C de até 5 x 10² UFC/g e *Salmonella* sp. ausência total em 25 g (BRASIL, 2003).

As boas práticas formam um conjunto de princípios, regras e procedimentos para o correto manuseio do alimento, e possuem o objetivo de garantir os padrões de identidade e qualidade de produtos e / ou serviços na área de alimentos, garantindo também a integridade e segurança do consumidor.

Alimento seguro é todo aquele alimento isento, ou que apresente níveis aceitáveis de contaminação e não são nocivos à saúde do consumidor.

O sucesso sob o ponto de vista alimentar e sanitário das preparações de alimentos depende das condições organolépticas e microbiológica da matéria prima. Mesmo com todos os recursos da tecnologia dos alimentos para melhorar os produtos finais, as deficiências de qualidade da matéria prima não podem ser supridas: as condições dos produtos alimentícios são o resultado da soma do estado da matéria prima com os processos de elaboração. É decisiva na elaboração dos produtos a qualidade microbiológica da matéria prima. A contaminação pode ocorrer nas fontes de produção ou locais de elaboração e processamento (PINHO, 2008).

Segundo Veiga (2008), a higiene satisfatória dos alimentos é uma das condições essenciais para a promoção e a manutenção da saúde, sendo que a deficiência nesse controle é um dos fatores responsáveis pela ocorrência de surtos de DTA's.

O Ministério da Saúde, na RDC nº12/2001, define Doença Transmitida por Alimento (DTA) como uma síndrome originada pela ingestão de alimentos e/ou de água que contenham agentes etiológicos (biológicos, toxinas, físicos ou substâncias químicas) em quantidades tais que afetem a saúde do consumidor em nível individual ou grupo de população (BRASIL, 2001).

Em 1999, o *Centers for Disease Control* (CDC) americanos registraram uma epidemia de 207 casos confirmados de diarreia pela ingestão de suco de laranja não pasteurizado. Em apenas um mês, centenas de habitantes de 15 estados americanos e de duas províncias canadenses haviam consumido bebida contaminada com *Salmonella sp.* Isto obrigou as autoridades governamentais de saúde a realizar uma ampla ação emergencial para notificação dos casos e recolhimento do produto disponível nos supermercados e restaurantes do país.

Considerando apenas os agentes biológicos patogênicos para o homem - bactérias, vírus, protozoários, parasitas e toxinas naturais, vê-se que um grande número é transmitido pela água e alimentos, provocando o quadro de gastroenterocolite aguda (GECA). Há grande diversidade destes agentes – só a bactéria *Salmonella sp.* tem mais de 2.400 sorotipos patogênicos para o homem (BALBANI & BUTUGAN, 2001).

As DTA's podem ter basicamente, três origens: física, química ou biológica (microbiológica ou parasitaria). As DTA's de origem biológica podem ser causadas por diversos agentes, tanto de origem primária quanto secundária. A origem primária está relacionada a agentes que já se encontram nos alimentos, antes de sua obtenção e a origem secundária àqueles que são contaminados durante sua manipulação.

As bactérias são organismos unicelulares, encontrados em todos os ambientes e são transportados por água, vento, insetos, plantas, animais e pessoas. São muito importantes por causarem enfermidades (em homens, animais e plantas), sendo classificadas como patogênicas (causadoras de enfermidades infecciosas) ou toxigênicas (produtoras de toxinas). Além disso, as bactérias podem ser responsáveis pela deterioração de alimentos. Entretanto, são úteis ao homem de várias maneiras, seja participando da produção de alimentos, na agricultura (fixação de nitrogênio no solo, por exemplo), na decomposição de matéria orgânica, e na Medicina (produção de antibióticos).

As bactérias apresentam espécies que podem se desenvolver somente na presença de ar (aeróbias), apenas na ausência de ar (anaeróbias), outras que crescem tanto com ou sem ar (facultativas) e as que necessitam de uma baixa concentração (microaerófilas). Preferem, de um modo geral, ambientes menos ácidos, com pH entre 4 e 9. A maioria prefere a faixa de temperatura entre 20 e 45°C, mas muitas podem crescer em temperaturas de refrigeração, ou em temperaturas elevadas acima de 45°C. As bactérias crescem normalmente em ambientes com muita água disponível, isto é, com alta atividade de água (A_w) (NETTO, 2009).

Salmonella sp. - Representa um grupo de bactérias que pode causar doença diarreica e, geralmente, é encontrada em alimentos de origem animal, como carnes, leite e derivados, ovos, entre outros. O período de incubação varia, em geral, de 12 até 72 horas após consumo

de alimentos contaminados. Os sintomas principais são: diarreia, febre, cefaleia, cólica abdominal e costumam durar de 4 a 7 dias (SILVA, 1997, et al).

Coliformes totais - A classificação dos coliformes segundo SILVA (1997, *apud* GEUS; LIMA, 2009), apresenta o grupo de Coliformes totais que incluem as bactérias na forma de bastonetes Gram-negativos, não esporogênicos, aeróbios ou anaeróbios facultativos, capazes de fermentar a lactose com produção de gás, em 24 a 48 horas a 35°C. Apresenta-se cerca de 20 espécies, dentre as quais encontram-se tanto bactérias originárias do trato intestinal de humanos e outros animais de sangue quente.

Coliformes termotolerantes - são capazes de fermentar a lactose com produção de gás, em 24h a 44,5-45,5°C. Esse grupo inclui três gêneros, *Escherichia*, *Enterobacter* e *Klebsiella*, sendo a cepas de *Enterobacter* e *Klebsiella* de origem não fecal. Por isso que *E. coli* é a mais conhecida, sendo seu habitat o trato gastrintestinal é a indicadora de contaminação fecal, em alimentos processados (SILVA,1997, *apud* GEUS; LIMA, 2009).

A presença de coliformes nos alimentos é de grande importância para a indicação de contaminação durante o processo de fabricação ou mesmo pós-processamento. Segundo Franco (2005, *apud* GEUS; LIMA, 2009), os micro-organismos indicadores são grupos ou espécies que, quando presentes em um alimento, podem fornecer informações sobre a ocorrência de contaminação fecal, sobre a provável presença de patógenos ou sobre a deterioração potencial de um alimento, além de poder indicar condições sanitárias inadequadas durante o processamento, produção ou armazenamento.

A RDC 12/2001 preconiza que para o grupo dos alimentos apontado pela análise, a tolerância permitida para coliformes a 45°C seja de 5×10^2 e já a *Salmonella* sp. tem que ser ausente.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar os níveis de contaminação por micro-organismo *Salmonella* sp., aeróbio mesófilo, *Staphylococcus* Coagulase positivo, coliformes termotolerantes e totais, especificamente em Presuntos fatiados comercializadas em supermercados de Brasília.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Laboratório de Ciência e Tecnologia dos Alimentos da Universidade Católica de Brasília (UCB) com intuito de analisar a presença dos seguintes micro-organismos: Mesófilos, *Staphylococcus*, *Escherichia coli*, *Salmonella sp.* Coliformes totais e a 45° C. Foram coletadas dezoito amostras do alimento em diferentes supermercados de Brasília, e logo armazenadas em caixa térmica para manter a temperatura comercializada. Para elaboração do presente trabalho as amostras recolhidas foram submetidas à análise microbiológica.

No laboratório foram utilizados para a análise da bactéria *Salmonella sp.*, Água peptonada tamponada. Para coliformes termotolerantes caldo *E. Coli* e para totais, *caldo LST e caldo Verde Brilhante* e água tamponada. Para Mesófilo contagem em placas (plaqueamento em profundidade, superfície ou filtração em membrana). *Staphylococcus* método direto em placas.

Análise microbiológica para *Salmonella sp.* - Método ISO 6579/2007.

Primeiramente foi realizada a etapa de pré-enriquecimento, homogenizou-se 25 g da amostra em 225 ml de Água Peptonada Tamponada (BPW), incubando-a a 35±2°C por 24±2h.

Na etapa do enriquecimento seletivo agitou o frasco de pré-enriquecimento (BPW) cuidadosamente e transferiu-se 0,1 ml para 10 ml de Caldo de enriquecimento seletivo, o Rappaport-Vassilidis Soja (RVS), incubando-a o Caldo RVS a 42±0,2°C por 24±2h.

Após essas duas etapas foi realizado o plaqueamento seletivo no meio Lisina Desoxicolato (XLD) pelo método qualitativo. Na ausência de colônias com características morfológicas de *Salmonella sp.*, optamos por não fazer o teste bioquímico.

Análise microbiológica para coliformes a 45° C – Método do número mais provável (NMP).

As embalagens foram desinfetadas, retiradas porções de 25 g da amostra, homogeneizando em 225 ml de Água Peptonada a 1% a fim de obter a diluição (10⁻¹). A partir dessa diluição foram realizadas em tubo de ensaio contendo 9 ml de Água Peptonada a 0,1% para obter diluições decimais de 10⁻¹, 10⁻² e 10⁻³.

O teste presuntivo foi feito distribuindo 1mL de cada diluição preparada anteriormente em série de três tubos, cada um com 10 mL do Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST) com tubos de Duhran invertidos, incubando-os a 35±0,5°C por 24-48±2h, onde foi observado se existiu

crescimento com produção de gás. Em caso de positivo, seguiu-se para os demais procedimentos.

Os tubos com resultado positivo para coliformes totais foram transferidos por meio de uma alçada para tubos contendo 10 mL de Caldo Verde Brilhante Bile (VB) e tubos com 10 mL de Caldo *E. coli* (EC), todos eles contendo tubos de Duhran invertidos para a detecção de gás produzido por fermentação. De cada tubo positivo para coliformes totais uma alçada foi transferida para um tubo contendo Caldo VB e um contendo Caldo EC. Junto com o Caldo EC foram inoculados mais dois tubos, um contendo o controle positivo e o segundo contendo o controle negativo. Os tubos contendo o Caldo EC foram incubados a $45,5\pm 0,2^{\circ}\text{C}$ por $24\text{h}\pm 2\text{h}$ e os tubos contendo Caldo VB incubados a $35\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ por $24-48\text{h}\pm 2\text{h}$. Para confirmar a presença de coliformes termotolerantes observou-se a produção de gás dentro dos tubos contendo os Caldos EC e VB.

3. RESULTADO E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 são apresentados os valores encontrados durante a análise microbiológica das amostras coletadas. A determinação de coliformes totais e termotolerantes foram realizadas pela técnica no Número Mais Provável (NMP) por grama do alimento. A pesquisa para *Salmonella* sp houve presença em uma das amostras para este gênero microbiano.

Tabela 1 - Contagem de Coliformes totais e a 45° C, *Staphylococcus*, Mesófilos e pesquisa de *Salmonella* sp e *Escherichia coli* em 18 amostras de presuntos fatiados provenientes de estabelecimentos comerciais na Cidade de Brasília DF, 2013.

Amostra	C. Totais (NMP / g)	C. a 45°C (NMP / g)	Salmonella sp	Staphylococcus sp (UFC / g)	Escherichia Coli	Mesófilos (UFC / g)
1	<3,0	<3,0	Ausente	2,3x10 ²	Ausente	2,8x10 ³
2	<3,0	<3,0	Ausente	9x10 ²	Ausente	3,4x10 ³
3	3,6	<3,0	Ausente	3,0x10 ²	Ausente	3,9x10 ³
4	<3,0	<3,0	Ausente	2,1x10 ²	Ausente	3,1x10 ³
5	<3,0	<3,0	Ausente	5,9x10 ²	Ausente	3,4x10 ³
6	23	<3,0	Ausente	1,6x10 ²	Ausente	10,7x10 ³
7	<3,0	<3,0	Ausente	2,4x10 ²	Ausente	4,1x10 ³
8	<3,0	<3,0	Presença	1,8x10 ²	Ausente	4,2x10 ³
9	240	<3,0	Ausente	1,6x10 ²	Ausente	5,3x10 ³
10	<3,0	<3,0	Ausente	2,4x10 ²	Ausente	3,1x10 ³
11	<3,0	<3,0	Ausente	2,6x10 ²	Ausente	4,2x10 ³
12	<3,0	<3,0	Ausente	2,8x10 ²	Ausente	2,5x10 ³
13	<3,0	<3,0	Ausente	4,3x10 ²	Ausente	10,6x10 ³
14	93	<3,0	Ausente	1,0x10 ²	Ausente	17,2x10 ³
15	93	<3,0	Ausente	>10x10 ³	Ausente	9,8x10 ³
16	<3,0	<3,0	Ausente	>10x10 ³	Ausente	2,4x10 ³
17	<3,0	<3,0	Ausente	2,9x10 ²	Ausente	1,5x10 ³
18	<3,0	<3,0	Ausente	4,3x10 ²	Ausente	>100x10 ³

Das dezoito amostras de presunto fatiado, todas deram positivas no teste presuntivo de coliformes totais. Mas esses valores estão dentro da tolerância pela legislação vigente. Assim tais amostras foram classificadas como produto em condição higiênica satisfatória, no que estabelece a Resolução RDC N°12, de 2 de janeiro de 2001, do Ministério da Saúde (BRASIL, 2001).

Todas as amostras apresentaram resultados negativos para coliformes termotolerantes e presença de *Salmonella* sp.

Tabela 2 - Contagem de Mesófilos e *Staphylococcus* em diferentes estabelecimentos (média e desvio padrão).

Supermercados	Contg. <i>Staphylococcus</i> sp (UFC / g) Média	Contg. Mesófilos (UFC / g) Média
A	3,4x10 ³ ±384	3,3x10 ³ ±456
B	3,5x10 ³ ±217	6X10 ³ ±4027
C	3,8x10 ³ ±4608	4,2X10 ³ ±1135
D	4,7x10 ³ ±6282	4,2X10 ³ ±1135
E	6,1x10 ³ ±309	1,2X10 ³ ±4644
F	3,2x10 ³ ±859	11,7X10 ³ ±11369

4. CONCLUSÃO

Com as análises microbiológicas concluiu-se que as amostras de presuntos fatiados comercializados em diferentes supermercados de Brasília apresentaram contaminação pelo micro-organismo patogênico *Salmonella sp.* e por Coliformes totais que são patogênicos indicativos da qualidade higiênico sanitário durante manipulação e/ou comercialização.

A presença de *Salmonella sp.* representa um risco a saúde do consumidor por se tratar de um gênero onde há várias espécies patogênicas. Os coliformes totais são indicativos de qualidade sanitária de alimentos e a presença deste grupo microbiano nas amostras indicam que houve falhas durante o processamento, armazenamento, transporte e manipulação, bem como a higienização da área de comercialização.

Os produtos estão em condições sanitárias satisfatórias cujos resultados analíticos estão abaixo ou iguais aos estabelecidos para amostra indicativa ou amostra representativa, de acordo com os padrões legais vigentes conforme especificado pela Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001.

5. REFERÊNCIAS

BALBANI, A. P. S. & BUTUGAN, O. 2001. **Contaminação biológica de alimentos.** *Pediatria*, 23(4): 320-328.

BARRETO, S. M. & COSTA, M. F. L. 1998. **Investigação de um surto de intoxicação alimentar em Belo Horizonte, Brasil.** *Cadernos de Saúde Pública*, 14(2): 442-443.

BRASIL, Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária, (ANVISA), **Resolução RDC nº 12**, de 02 de Janeiro de 2001, Regulamento Técnico sobre os padrões microbiológicos para alimento. Disponível em:
<<http://www.anvisa.gov.br>>

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. [2001b]. *Manual integrado de prevenção e controle de doenças transmitidas por alimentos*. 136 p.
<http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/manual_dta.pdf>

Conselho Nacional de Segurança Alimentar e Nutricional. **Princípios e diretrizes de uma política de segurança alimentar e nutricional**. 2004 [acessado 2007 jul 15]; [cerca de 80 p.]. Disponível em:
<<http://www.fomezero.gov.br/documentos>. >
Acesso em: 02 de Maio de 2013.

GEUS, JAM; LIMA, IA, **Titulo: ANÁLISE DE COLIFORMES TOTAIS E FECAIS: Um Comparativo entre técnicas oficiais VRBA e Petrifilm EC aplicados em uma indústria de carnes, 2009.** Disponível em:
<http://www.pg.utfpr.edu.br/ppgep/anais/artigos/eng_tec_alimentos/12%20ANALISE%20DE%20COLIFORMES%20TOT%20FECA%20UM%20COMPAR%20TEC%20OFIC%20VRBA%20PE.pdf>

SILVA, CC; RODRIGUES, MM; MARTINS, BR; **Toxinfecção Alimentar por *Salmonella* em São Paulo/SP**, Setembro de 2004.
Disponível em:
<http://www.cve.saude.sp.gov.br/agencia/bepa11_salmo.htm>