

ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE EMBALAGENS DE SACHÊS DE KETCHUP E MAIONESE EM DUAS PADARIAS DA CIDADE DE SINOP –MT

LETÍCIA PRICILLA BECKER GEUDA¹
ARLETE LUZ MACIEL MARINHO²
ALESSANDRA FALISAKI³
SILMARA APARECIDA BONANI DE OLIVEIRA⁴
ANNY CHRISTIANN GARCIA GRANZOTO⁵
CEZAR ERNANI MANCINI⁶

RESUMO: Os sachês de ketchup e maionese podem ser considerados veículo de transmissão de doenças para os consumidores. O presente trabalho buscou avaliar as condições higiênic-sanitárias das embalagens de ketchup e de maionese em duas padarias da cidade de Sinop-MT. Foi realizada a análise microbiológica de 10 sachês de ketchup e 10 de maionese de cada padaria, para possível contaminação por coliformes totais, termotolerantes e *Staphylococcus* coagulase positiva. Os resultados foram comparados aos padrões preconizados pela ANVISA, conforme Resolução – RDC nº12, de 02 janeiro de 2001. Para as amostras de ketchup das duas padarias, os resultados indicaram a presença dos grupos dos coliformes totais e termotolerantes. A presença do grupo dos coliformes totais pode estar relacionada a quatro gêneros bacterianos principais como a *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter* e *Klebsiella*. Porém, os valores encontrados estão dentro dos permitidos pela RDC nº 12 de 2001, sendo assim considerados normais. Nas amostras de maionese das duas padarias, evidenciou-se a presença do grupo dos coliformes termotolerantes e fecais, e apenas os sachês de uma padaria obtiveram valores acima daqueles preconizados pela legislação. Não foi encontrado

¹ Graduanda em biomedicina pela faculdade FASIFE, Sinop-MT.

² Bacharel em Medicina Veterinária, pela Universidade Federal do Mato Grosso – UFMT, campus Sinop, MT. Contato: arlettmaciel@hotmail.com.

³ Bacharel em Nutrição, pela Universidade Paranaense – UNIPAR, Toledo, PR. Professora do departamento de Nutrição da Faculdade de Sinop – FASIFE. Funcionária da secretaria estadual de justiça e direitos humanos, Penitenciária Dr. Osvaldo Florentino Leite Ferreira, profissional de nível superior do SISPEN – nutricionista. Especialista em Gestão de Restaurantes e Similares, pela Universidade de Cuiabá – UNIC Cuiabá. Contato: alefelisaki@hotmail.com.

⁴ Bacharel em Biomedicina, mestre em Ciências Ambientais – Bioprospecção pela UFMT-SINOP, professora do departamento de ciências biomédicas da faculdade Fasipe. Contato: silbonani@yahoo.com.br

⁵ Bacharel em Farmácia, Especialista em Dispensação e Atenção Farmacêutica pela Faculdade Cathedral (2008), Estratégia em Saúde da Família pela UNINGÁ (2009) e Docência para o Ensino Superior pela Fasipe (2011). Mestrado em Ciências Ambientais e Saúde pela PUC/GO (2014). Na docência do Ensino Superior têm atuado nas disciplinas de Farmacologia, Parasitologia Médica e Clínica, Trabalho de Iniciação Científica e Monografia pela Faculdade Fasipe (Sinop/MT). Contato: annygranzoto@hotmail.com

⁶ Bacharel em Biomedicina, especialista em segurança alimentar, mestrando em Ciências Ambientais na UFMT em parceria com Embrapa. Professor do departamento de ciências biomédicas da Faculdade de Sinop – FASIFE. Contato: cezar_ernani@hotmail.com.

Staphylococcus coagulase positiva em nenhum dos sachês analisados. Espera-se que com a realização desse estudo os órgãos competentes, como a vigilância sanitária, possam fiscalizar de forma mais ativa os estabelecimentos que comercializam alimentos.

Palavras chave: Análise Microbiológica; Coliformes; Doenças Transmitidas por Alimentos.

MICROBIOLOGICAL ANALYSIS OF KETCHUP AND MAYONNAISE SACHETS IN TWO BAKERIES FROM SINOP-MT

ABSTRACT: The ketchup and mayonnaise`s sachets can be considered vehicle of disease transmission to consumers. This study aimed to evaluate the sanitary conditions of ketchup and mayonnaise`s packaging in two bakeries in the city of Sinop-MT. Microbiological analysis of 10 ketchup and mayonnaise`s sachets of each bakery was performed to evaluate the possible contamination by total coliforms, thermotolerant and coagulase positive *Staphylococcus*. The results were compared to standards set by ANVISA, according to Resolution - RDC No. 12, 02 January 2001. As results, we observed the presence of total and fecal coliforms for the ketchup samples of the two bakeries. This group is composed by four main bacteria such as *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter* and *Klebsiella*, but the obtained values for this group lies within the range accepted by RDC No. 12 of 2001 and are thus considered normal. In mayonnaise samples from two bakeries the results showed the presence of the group of thermophilic or fecal coliforms, and only a bakery got values above the recommended values by legislation; this group is *Escherichia coli*, indicating fecal contamination. It is expected that with the completion of this study the relevant bodies, such as health surveillance, can monitor active form these establishments.

Keywords: Microbiological analysis. Coliforms. Foodborne Diseases.

INTRODUÇÃO

As doenças transmitidas por alimentos (DTA) constituem um problema de saúde pública com alta frequência no mundo (Pires et al., 2012). Os agentes etiológicos mais envolvidos são principalmente os microrganismos, que no caso das infecções alimentares penetram no organismo humano através da ingestão de água e alimentos contaminados (VAN AMSON et al., 2006).

Segundo dados do Sistema de Informações Hospitalares (SIH) do Ministério da Saúde, ocorreram mais de 3.400.000 internações causadas por DTA no Brasil, de 1999 a 2004, com média de cerca de 570 mil casos por ano (CARMO et al., 2005).

A contagem de coliformes termotolerantes em alimentos fornece bastante segurança e informações sobre as condições higiênico-sanitárias do produto, além da indicação eventual da presença de enteropatógenos (ROMPRE et al., 2002). Além disso, o microrganismo do gênero *Staphylococcus* spp. é uma indicação de perigo potencial à saúde pública por ser produtor da enterotoxina estafilocócica (termoestável), bem como um indicador da sanitização questionável, principalmente quando o processo de produção envolve manipulação do

alimento (FERNANDES; MIRANDA, 2001; FRANCO e LANDGRAF, 2008; OLIVEIRA et al., 2001).

O ketchup e a maionese são condimentos contidos em embalagens fabricadas de filme de poliéster, adesivo e lâminas de alumínio em forma de bisnaga, os mesmos são utilizados durante a alimentação rápida (os *fast foods*), pois são práticos, rápidos e fáceis de utilizar. Esses sachês são armazenados e distribuídos em vários lugares como lanchonetes, padarias, restaurantes, dentre outros. Os sachês ficam disponíveis nas mesas e balcões, ou seja, estão expostos nesses lugares podendo ser contaminados por contato direto ou por rompimento e micro furos nas suas superfícies acarretando vazamentos, contaminação e deterioração do produto. Quando isso acontece, sua utilização na alimentação torna-se impraticável pois pode desenvolver algum tipo de doença para o homem (ADAMS; MOTARJEMI, 2002; FRANCO e LANDGRAF, 2008).

Os sachês que as pessoas utilizam na hora da sua alimentação podem estar contaminados, e, como a maioria dos microrganismos constituem a flora normal do homem, sua disseminação é rápida e constante, considerando que as pessoas normalmente não fazem a higienização das mãos antes de se alimentar. O desenvolvimento de alguma patologia é variável pois depende do sistema imunológico do indivíduo e da carga microbiana ingerida; a patologia só irá se desenvolver quando a pessoa estiver com o sistema imunológico debilitado e/ou quando a quantidade de microrganismos ingerida for suficiente para causar a doença (SOARES et al., 2006).

Diante do exposto, este trabalho tem como objetivo principal avaliar a qualidade microbiológica e condições de higiene das embalagens de sachês de ketchup e maionese provenientes de duas padarias do município de Sinop-MT.

2. MATERIAL E MÉTODOS

A coleta dos sachês de ketchup e maionese foi realizada em duas padarias de Sinop, cidade localizada no norte do estado de Mato Grosso, durante o mês de outubro de 2015. Foram coletados, de forma aleatória, 10 sachês de ketchup e 10 de maionese em cada estabelecimento, totalizando 40 sachês analisados.

As amostras coletadas foram etiquetadas e transportadas em sacos estéreis para o Laboratório escola – FASICLIN, da Faculdade de Sinop – FASIPE, no setor de Microbiologia, para posterior realização das análises.

As análises foram baseadas nas técnicas do Número Mais Provável (NMP) de Coliformes Totais e Termotolerantes e Contagem de *Staphylococcus aureus*. A metodologia utilizada para a avaliação de possível contaminação por coliformes totais e termotolerantes foi a descrita por Silva et al., (2010), os quais consideram a técnica do número mais provável (NMP) como a mais aceita na microbiologia de alimentos quando o objetivo é a quantificação de contaminação em alimentos.

Para a determinação do NMP de coliformes termotolerantes foi utilizada a técnica de fermentação em tubos múltiplos. Nas provas presuntivas foi utilizado caldo lactosado em concentrações simples e dupla, onde foram utilizadas as seguintes diluições (10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3}). Os tubos foram incubados a 36 ± 1 °C por 24–48 horas. Para os tubos que apresentaram resultado positivo (fermentação da lactose e produção de gás nos tubos Durhan), uma alíquota do caldo lactosado foi repicada para tubos contendo caldo Bile Verde Brilhante, para confirmação de coliformes totais, e tubos contendo caldo EC (*Escherichia coli*), para confirmação de coliformes termotolerantes. Os tubos com caldo Bile Verde Brilhante e caldo EC foram incubados em estufa a 36 ± 1 °C por 24–48 horas e em banho-maria a $45 \pm 0,2$ °C por 24–48 horas, respectivamente. A partir da combinação de números correspondentes para

os tubos que apresentaram resultado positivo em cada um dos testes (exame confirmativo para coliformes totais e termotolerantes), foi verificado o NMP de acordo tabela estatística de Hoskins para três tubos. O valor obtido foi expresso em NMP/g. Para a confirmação da presença de coliformes termotolerantes, incluindo a *E. coli*, a amostra positiva do caldo EC foi semeada em ágar EMB (*Eosin Methylene Blue* Ágar).

Para análise de *Staphylococcus* coagulase positiva foram utilizados $25 \pm 0,2$ ml do banho das amostras de sachê de maionese e ketchup adicionado 225 ml de solução salina 0,9%.

A partir desta diluição foram efetuadas as demais diluições necessárias (10^{-1} a 10^{-1}). A contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva foi realizada em triplicata, em que 0,1 ml da amostra foi semeado em ágar Baird- Parker (DIFCO/France) e as placas foram incubadas a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 30 a 48 horas. Para a contagem foi necessário selecionar as placas que continham entre 15 e 150 colônias e contar as colônias típicas (negras brilhantes rodeadas por um halo claro) e atípicas (acizentadas ou negras sem halo). Para a identificação se fez necessário a realização da coloração de Gram, catalase e coagulase, para as amostras positivas.

Os resultados para coliformes totais, termotolerantes e *Staphylococcus* coagulase positiva foram comparados aos padrões preconizados pela ANVISA, conforme Resolução – RDC nº12, de 02 janeiro de 2001 (BRASIL, 2001).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das análises de coliformes totais e termotolerantes e *Staphylococcus aureus* dos sachês de ketchup e maionese estão dispostos nas tabelas 1 e 2.

<i>Amostras Sachê de Ketchup</i>	<i>Coliformes Totais NMP/g</i>	<i>Termotolerantes NMP/g</i>	<i>Staphylococcus coagulase positiva NMP/g</i>
Padaria 1	3 NMP/g	<3 NMP/g	Ausente
Padaria 2	3,6 NMP/g	<3 NMP/g	Ausente

Fonte: Própria

Tabela 1- Tabela de identificação de coliformes totais, termotolerantes e *Staphylococcus* coagulase positiva das embalagens de sachê de ketchup em Número Mais Provável por grama de embalagem.

*Limites RDC nº 12 de 2001: para coliformes fecais 10 NMP/g; *Staphylococcus* coagulase positiva 10^2 /g (BRASIL, 2001).

<i>Amostras Sachê de Maionese</i>	<i>Coliformes Totais NMP/g</i>	<i>Termotolerantes NMP/g</i>	<i>Staphylococcus coagulase positiva NMP/g</i>
Padaria 1	9,2 NMP/g	9,2 NMP/g	Ausente
Padaria 2	43 NMP/g	43 NMP/g	Ausente

Fonte: Própria

Tabela 2- Tabela de identificação de coliformes totais, termotolerantes e *Staphylococcus* coagulase positiva das embalagens de sachê de maionese em Número Mais Provável por grama de embalagem.

*Limites RDC n° 12 de 2001: para coliformes fecais 10 NMP/g; *Staphylococcus* coagulase positiva 10²/g (BRASIL, 2001).

As análises de coliformes termotolerantes em sachês de ketchup para as duas padarias se mostraram dentro dos padrões estabelecidos pela RDC de n°12 de 2001, em que o valor permitido é menor que 10 NMP/g de produto. Nos dois estabelecimentos os sachês apresentaram valores menores do que 3NMP/g. Nas amostras de maionese os valores encontrados foram de 9,2 NMP/g na padaria 1 e de 43 NMP/g na padaria 2. Ambas as amostras foram semeadas em ágar EMB para visualização do o crescimento de *Escherichia coli* pois este meio é recomendado pela Associação de Saúde Pública Americana (APHA) para detecção, contagem e diferenciação de membros do grupo de coliformes. Para as amostras testadas o crescimento foi positivo e colônias com brilho verde metálico foram observadas. Os sachês de maionese coletados no estabelecimento de número 1 estavam com valor dentro do padrão, porém foi observada a presença de material fecal nas embalagens. Por outro lado, os sachês de maionese coletados no estabelecimento de número 2 apresentaram um valor muito acima do estabelecido pela normativa vigente, indicando condições higiênico-sanitárias precárias. Para a contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva, as amostras não apresentaram crescimento em ágar Baird-Parker em todas as diluições e nas três repetições testadas, demonstrando um resultado satisfatório.

Uma pesquisa realizada por Duboc (2010), cujo objetivo do era evidenciar a contaminação química e microbiológica na superfície de embalagens tipo sachê para doce de leite, encontrou uma contaminação de 58% das amostras analisadas com bolores e 28% dos sachês apresentaram contaminação com bactérias mesófilas, ambas com concentração até 10³ UFC/lote. Esta pesquisa evidencia que embora o risco com a qualidade microbiológica do produto analisado tenha sido minimizado pelo uso de embalagens individuais, esta medida não contemplou os riscos associados com o contato direto da boca dos consumidores com a superfície das embalagens.

Para Balaban (2000), a principal fonte do *Staphylococcus* coagulase positiva é a cavidade nasal, mas este microrganismo pode ser encontrado na pele, mãos e feridas infectadas. O fato do alimento ser manipulado já indica uma provável contaminação pelos microrganismos destes gêneros envolvidos.

Em um estudo realizado por Welker et al., (2010), cujo objetivo era analisar as características dos surtos de DTA investigados no estado do Rio Grande do Sul, entre os anos de 2006 e 2007, dando um enfoque à análise microbiológica dos alimentos, foram investigados 186 surtos, dos quais 104 (56%) apresentaram contaminação com os microrganismos pesquisados. Considerando as amostras com contaminações maiores que 1,0 x 10³ UFC/g ou NMP/g (ou presença/25g, no caso de *Salmonella* spp.), os principais microrganismos identificados foram *Salmonella* spp. (37%), Estafilococos coagulase positiva (28%) e *Escherichia coli* (22%). *Bacillus cereus* e Clostrídios sulfito redutores a 46 °C também foram identificados, mas com menor frequência. Os principais alimentos envolvidos nos surtos investigados foram os produtos cárneos (36%), os pratos preparados (20%) e as saladas (15%). As residências foram o principal local de ocorrência dos surtos (43%), seguidas de estabelecimentos comerciais (18%) e refeitórios de empresas (14%).

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Embora a maioria dos sachês analisados estejam dentro da normalidade sanitária pelo fato de apresentarem valores dentro do padrão exigido pela legislação brasileira, algumas amostras obtiveram valores em não conformidade e isso talvez se explique pelo fato de os

estabelecimentos deixarem livres os produtos para o uso do consumidor, propiciando uma contaminação cruzada das mãos para as embalagens. O que chama a atenção é a presença de bactérias do grupo dos coliformes totais e coliformes termotolerantes, sendo uma delas de alta relevância, a espécie *Escherichia coli*, que é considerada um indicador de contaminação fecal.

Entretanto, independentemente de a contagem estar dentro da normalidade preconizada pela legislação, a simples presença dos microrganismos do grupo dos coliformes nas embalagens indica que os sachês estão em condições higiênico-sanitárias impróprias, trazendo riscos à saúde dos consumidores que as utilizam.

Assim, a existência de fiscalização pelos órgãos competentes se faz necessária, bem como a necessidade de programas de educação sanitária junto a comerciantes e consumidores na cidade de Sinop-MT, objetivando cada vez mais a qualidade e a melhoria dos produtos oferecidos no comércio. Além disso, faz-se necessário elaborar alguns Procedimentos Operacionais Padronizados (POP) por parte dos estabelecimentos para evitar surtos de doenças relacionados a sachês de ketchup e maionese, já que a abertura dos mesmos é normalmente realizada por via oral.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, Martin, MOTARJEMI, Yasmine. **Segurança Básica dos Alimentos para Profissionais da Saúde**. Organização Mundial da Saúde. São Paulo: Roca, 2002.

VAN AMSON, Gisele; HARACEMIV, Sônia Maria Chaves; MASSON, Maria Lucia. Levantamento de dados epidemiológicos relativos a ocorrências/surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTAs) no estado do Paraná-Brasil, no período de 1978 a 2000. **Ciênc agrotec**, v. 30, n. 6, p. 1139-45, 2006.

BALABAN, Naomi; RASOOLY, Avraham. Staphylococcal enterotoxins. **International journal of food microbiology**, v. 61, n. 1, p. 1-10, 2000.

BRASIL, Anvisa. Resolução RDC no. 12.(de 02 de Janeiro de 2001). **Estabelece Padrões Microbiológicos para Alimentos**, 2001.

CARMO, GMI do et al. Vigilância epidemiológica das doenças transmitidas por alimentos no Brasil, 1999-2004. **Boletim Eletrônico Epidemiológico**, v. 6, p. 1-7, 2005.

DUBOC, Priscila P.; BERES, Carolina. **Análise Técnica Segurança Microbiológica de Molhos Comercializados em Embalagens Tipo Satche: Avaliação de um Abridor de Embalagens**. 2010. Monografia apresentada ao Instituto de Microbiologia Paulo de Góes, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2010. Disponível em: <http://abresache.files.wordpress.com/2012/01/ufrj_relatorio-final.pdf> Acesso em: 12 de março de 2016.

FERNANDES, Fernando Fagundes; MIRANDA, Zander Barreto. Estudo comparativo entre a mortadela tipo Bolonha e a imitação de mortadela, sob diversos aspectos. **Hig. aliment**, v. 15, n. 89, p. 54-66, 2001.

FRANCO, Bernadette Dora Gombossy de Melo; LANDGRAF, Mariza. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Editora Atheneu, 2008.

OLIVEIRA, A. M. C. et al. Avaliação de alimentos comercializados no carnaval da cidade do Recife-2001. In: **XXI Congresso Brasileiro de Microbiologia. Foz do Iguaçu-PR.** 2001. p. 397.

PIRES, Sara M. et al. Attributing human foodborne illness to food sources and water in Latin America and the Caribbean using data from outbreak investigations. **International Journal of Food Microbiology**, v. 152, n. 3, p. 129-138, 2012.

ROMPRE, Annie et al. Detection and enumeration of coliforms in drinking water: current methods and emerging approaches. **Journal of microbiological methods**, v. 49, n. 1, p. 31-54, 2002.

SILVA, Neusely. et al. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos.** 4.ed. São Paulo: Varela, 2010.

SOARES, Antonio Gomes et al. **Boas práticas de manipulação em bancos de alimentos.** Embrapa Agroindústria de Alimentos, 2006.

WELKER, Cassiano Aimberê Dorneles et al. Análise microbiológica dos alimentos envolvidos em surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTA) ocorridos no estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 8, n. 1, 2010.