

QUEIJOS E EMBUTIDOS PRÉ FATIADOS: UM PERIGO AOS CONSUMIDORES?

Luís Henrique ALQUATI¹

Ricardo RALL²

Juliana A. DORICO³

Vera Lúcia Mores Rall⁴

RESUMO: O alimento é um importante elo na cadeia epidemiológica de doenças transmissíveis. Sua conservação em condições não adequadas favorece a multiplicação de microrganismos que podem ocasionar alterações e/ou produzir sintomas de toxinfecções alimentares nos consumidores. Leite e derivados tem sido apontados como causadores de muitas doenças de origem alimentar e existem poucos dados, na literatura nacional, sobre as condições microbiológicas de frios (queijos e embutidos) pré fatiados. Esse alimento tem o agravante de poder ser contaminado por bactérias patogênicas muito tempo antes do consumo, havendo tempo para a multiplicação desses microrganismos. Além disso, esses frios podem ser expostos aos consumidores, em bancadas sem refrigeração. Assim, o presente trabalho teve por objetivo verificar se esses alimentos consumidos em Botucatu atendiam aos padrões da Resolução nº12 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), quanto à presença de *Salmonella*, enumeração de *Staphylococcus aureus* e determinação do número mais provável de coliformes termotolerantes (APHA, 2001). Considerando-se as 112 amostras de frios analisadas, pode-se observar que 10 amostras (8,9%) das amostras estavam fora dos parâmetros estabelecidos, sendo que 9 pela presença de *Salmonella* e uma somente por excesso de coliformes termotolerantes. Pelos resultados obtidos, pode-se concluir que os frios pré fatiados representam perigo à saúde dos consumidores, sendo necessárias medidas para um maior controle e fiscalização por parte das autoridades de vigilância sanitária, a fim de que se reduzam os índices de *Salmonella* nesses alimentos. Os consumidores devem exigir que esse tipo de alimento seja fatiado no momento da compra.

Palavras-chave: Frios pré-fatiados; *Salmonella*; Qualidade microbiológica; Coliformes fecais (termotolerantes).

¹Discente do 1º ano do curso de Administração em Sistemas de Informação das Faculdades Integradas “Antonio Eufrásio de Toledo” de Presidente Prudente. e-mail lhalquati@ig.com.br. Bolsista do Programa de Iniciação Científica;

² Docente do curso de Administração em Sistemas de Informação das Faculdades Integradas “Antonio Eufrásio de Toledo” de Presidente Prudente. Mestre em Agronomia pela Faculdade de Ciências Agrônomicas de Botucatu/UNESP, e-mail rrall@fca.unesp.br. Orientador do trabalho;

³ Aluna do Curso de Ciências Biológicas da UNESP/Botucatu;

⁴ Docente do Departamento de Microbiologia e Imunologia da UNESP/Botucatu;

1 INTRODUÇÃO

O alimento é um importante elo na cadeia epidemiológica de doenças transmissíveis. Sua conservação em condições não adequadas favorece a multiplicação de microrganismos que podem ocasionar alterações e/ou produzir sintomas de toxinfecções alimentares nos seus consumidores.

Anualmente ocorrem mais 1.300 surtos de origem alimentar, envolvendo, aproximadamente, 76 milhões de indivíduos, com 325 mil internações e 5 mil mortes, somente nos Estados Unidos (LAMPS, 2003).

Um surto de origem alimentar é caracterizado quando: (a) duas ou mais pessoas apresentam sintomas similares após ingestão do mesmo alimento e (b) a análise epidemiológica implica um alimento como a fonte da doença (BEAN et al., 1990). Os sintomas clínicos de uma toxinfecção podem variar desde brandos, ocorrendo náuseas, vômitos e diarreia, até quadros mais graves, com comprometimento do sistema nervoso central e diarreias muito severas.

O leite é considerado um dos alimentos mais ricos nutricionalmente devido sua composição protéica, de vitaminas e sais minerais, podendo ser consumido na forma líquida ou como derivados (queijos, iogurtes, manteiga e sobremesas).

Existem no setor lácteo, diversas fontes dos dados estatísticos, porém devido à ausência de coordenação entre os agentes e à produção informal de leite e derivados ocorrem grandes divergências quanto aos dados divulgados e mesmo os dados oficiais são imprecisos, pois os estudos e análises são realizados de forma fragmentada ou agregados a outros setores como o de carne e derivados que não são derivados do leite. Algumas fontes de informação são privadas, estratégicas e com elevado custo (FINEP, 2009)

A produção mundial de queijo em 2003 foi de 12.564 toneladas. (USDA- Departam) queijos inspecionados no Brasil era de 190,7 toneladas chegando a 375 em 2000 e 480 em 2003, sendo a maioria, de queijo mussarela e queijo prato. Aproximadamente 33% de todo o leite produzido no Brasil é utilizado na produção de queijos.

Os microrganismos podem contaminar os alimentos por inúmeras vias, sempre refletindo condições precárias de produção, armazenamento, distribuição ou manuseio doméstico (NORMANNO et al. 2005)

Um importante agente de contaminação dos alimentos é o manipulador, pois na pele pode existir uma microbiota potencialmente patogênica. A maioria dos casos de toxinfecções alimentares ocorre através de manipuladores, que comprometem os alimentos por hábitos ou práticas inadequadas de higiene. Os principais patógenos veiculados por indivíduos doentes ou portadores são *Salmonella* sp., *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens* e *Bacillus cereus* (HALPING – DOHNALEK & MARTH, 1989). Para evitar contaminação, a higiene pessoal adequada e a adoção de boas práticas na indústria de alimentos são essenciais para obtenção de produtos com qualidade satisfatória (SANTOS, 1996).

S. aureus é a principal bactéria envolvida em surtos de intoxicação alimentar. As enterotoxinas envolvidas nesta contaminação são produzidas por aproximadamente 1/3 das cepas coagulase positivas (HALPING – DOHNALEK & MARTH, 1989).

Intoxicação alimentar estafilocócica causada pelas enterotoxinas clássicas produzidas por algumas linhagens de *S. aureus* e normalmente os sintomas ocorrem entre 2 e 4 horas após a ingestão da toxina pré formada no alimento e os mais comuns são vômito, náuseas, dores abdominais e diarreia (HALPIN-DOHNALEK & MARTH, 1989). Alguns indivíduos podem não apresentar todos os sintomas associados à doença. Em casos mais severos, dor de cabeça, contrações musculares e mudanças transitórias na pressão sanguínea e na pulsação podem acontecer. Os casos de óbito são raros, embora a reposição de eletrólitos possa ser necessária para compensar a perda de fluídos pela diarreia e vômito. Porém existem registros de morte por intoxicação estafilocócica entre idosos, crianças e pessoas severamente debilitadas (HALPIN-DOHNALEK & MARTH, 1989; ICMSF, 1996). Embora 0,1 – 1,0 µg/kg possa causar sintomas em humanos, o tempo de aparecimento e a severidade dos sintomas dependem da quantidade de toxina ingerida e da susceptibilidade do indivíduo. Devido à curta duração dos sintomas, poucos casos são reportados às autoridades, somente surtos que envolvem grande número de pessoas ganham atenção das autoridades (BRYAN, 1980; ICMSF, 1996).

Segundo Tranter (1996), a quantidade mínima de enterotoxina necessária para causar a doença não é conhecida, mas a ingestão de, pelo menos, 1 µg de toxina em 100g de alimento já induz o aparecimento de sintomas clínicos e este nível de toxina é alcançado quando a população de *S. aureus* excede 10⁵ por grama.

Intoxicação por *S. aureus* é a segunda causa mais freqüente de doenças de origem alimentar na Espanha e na França, depois de *Salmonella* e em números similares ao *Clostridium perfringens*. Na França, em 1997, *S. aureus* foi identificado como o agente etiológico em 569 de 1142 casos registrados de intoxicações. Os casos não esclarecidos podem ser explicados pela presença de outros estafilococos, coagulase positiva ou negativa, ou pela produção de outras enterotoxinas, que não as clássicas (ROSEC & GIGAUD, 2002; MARTIN et al., 2004). Desde 1987, Kokan e Bergdoll estimavam que 5% das intoxicações de origem alimentar causadas pelos estafilococos ocorreram devido a enterotoxinas não caracterizadas.

No Brasil, existem vários trabalhos sobre a presença de *Staphylococcus aureus* nos alimentos.

Carmo et al. (1999) verificaram vários surtos relacionados a cepas de *S. aureus* enterotoxigênico em Manhuaçu e Passa-Quatro, MG, Brasil. Num primeiro surto, 50 indivíduos ficaram doentes pelo consumo de queijo Minas e, num segundo surto, foram afetados 328 indivíduos após consumirem leite cru. Em 2003, os mesmos autores relataram outro surto de intoxicação alimentar relacionada ao *S. aureus*, envolvendo 42 pessoas que tiveram uma refeição num restaurante em Passos, MG, Brasil. Os resultados dos estudos apontaram que os manipuladores de alimentos teriam sido os causadores da contaminação da comida, sendo portadores desse microrganismo.

Assim, devido a escassez de informações sobre a qualidade higiênico-sanitária de queijos e embutidos pré fatiados na cidade de Botucatu, o presente trabalho teve por objetivo a avaliação das condições higiênico-sanitárias de queijos e embutidos pré fatiados, através da determinação de coliformes termotolerantes, a pesquisa de *Salmonella* e de *Staphylococcus* coagulase positiva.

2 DESENVOLVIMENTO

2.1. Preparo das amostras e suas diluições

Para a análise, 25 gramas da amostra foram pesados e homogeneizados em 225 ml de água tamponada esterilizada, em sacos plásticos apropriados, que foram levados ao Stomacher Lab Blender 400 por trinta segundos. A partir desta diluição inicial de 10^{-1} , foram preparadas várias diluições decimais, utilizando-se o mesmo diluente.

2.2. Determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes fecais (KORNACKI & JOHNSON, 2001):

Cada diluição da amostra foi inoculada em volumes de 1ml, em cada série de três tubos por diluição, contendo 10ml de caldo lauril sulfato (Difco) com um tubo de Durham invertido. Os tubos foram incubados a 35°C, por 24-48 horas. Nos inóculos positivos foi observada a produção de gás no tubo de Durham. A seguir, três alçadas de cada tubo positivo foram repicadas em tubos de ensaio contendo 5 ml de caldo E.C. (Difco), para a confirmação de coliformes fecais (CF) que foram incubados a 45°C, por 24 horas, em banho-maria. Após o período de incubação, foi realizada a leitura pela observação da presença de gás no tubo de Durham invertido. A seguir, utilizou-se a tabela do NMP (Número Mais Provável) e foram calculados os NMP de CF por grama de amostra analisada.

2.3. Enumeração e identificação de estafilococos coagulase positiva (LANCETTE & BENNETT, 2001):

Para a enumeração dos estafilococos, foi utilizado o método da semeadura em superfície e 0,1ml das diversas diluições da amostra foi depositado em placas de Petri com ágar Baird-Parker (Difco), suplementado com telurito de potássio e solução de gema de ovo, espalhando-se o inóculo com o auxílio de um bastão de vidro em “L”. Após a incubação a 35°C, por até 48 horas, foi realizada a contagem das placas que apresentaram entre 25 e 250 UFC. As colônias suspeitas de estafilococos apresentavam cor negra, com ou sem halo, sendo isoladas e repicadas para tubos com TSA inclinado (Difco), incubados por 24 horas, a 35°C e a seguir foram submetidos aos testes preliminares de catalase e coagulase em tubo.

Para o teste da produção de catalase, uma porção do crescimento de 24 horas do TSA foi transferida, com o auxílio de uma alça de níquel-cromo, para uma lâmina de vidro. Em seguida, foi adicionada uma gota de água oxigenada 30%. Como controle positivo, foi utilizada uma cepa de *S. aureus* e como controle negativo, uma de *Streptococcus* sp. O teste positivo é revelado pela liberação de bolhas (Mac FADDIN, 1976). A seguir, foi realizado o teste da coagulase em tubo (Mac FADDIN, 1976), utilizando-se 0,25 ml de plasma de coelho, adicionado um volume de 0,5 ml de uma cultura da cepa teste em caldo de infusão de cérebro e coração (BHI - Difco), crescida 24 horas a 35°C. O tubo foi incubado a 35°C e as leituras realizadas após 30 minutos e 6 e 24 horas. O teste é considerado positivo quando ocorrer a coagulação da mistura.

Para identificação de *S. aureus*, as cepas positivas nas duas provas anteriores foram submetidas ao kit "Staphytest Test Dry Spot" (Oxoid), onde partículas azuis de látex são recobertas com fibrinogênio humano e imunoglobulinas tipo G contra a proteína A de *S. aureus*, o Fator Clumping e a cápsula de *S. aureus* meticilina-resistente. A separação entre as duas espécies clumping positivo (*S. aureus* e *S. intermedius*) foi realizada pela prova de VP (*S. aureus* positivo).

Para o cálculo de número de UFC/g, o número de colônias confirmadas foi multiplicado por 10 e pelo fator inverso de diluição da placa de contagem.

2.4. Detecção da presença *Salmonella* (ANDREWS et ali, 2001)

Para a detecção da presença de *Salmonella*, 25 gramas de amostra foram homogeneizados em 225 mL de água peptonada a 1 %, em "Stomacher" durante 30 segundos. Após esse período, o homogeneizado foi transferido a frascos esterilizados e incubado a 35°C por 24 horas. Em seguida, foi transferido 1 mL do homogeneizado para um tubo de ensaio contendo 10 mL de caldo tetrionato (Difco) com iodeto de potássio. O tubo foi incubado a 35°C por 24 horas. Outra alíquota de 0,1 mL foi transferida para um tubo com 10 mL de caldo Rapaport (Difco), sendo incubado a 42°C por 24 horas. Após este período, uma alçada de cada tubo foi semeada em placas de Petri contendo ágar XLD (xilose-lisina-desoxicolato - Difco) e ágar SS (*Salmonella-Shigella* - Difco), sendo as placas incubadas invertidas a 35°C por 24 horas. A seguir, as colônias características de *Salmonella* foram isoladas e repicadas para tubos de ensaio contendo ágar tripticase soja inclinado (TSA - Difco), sendo incubados a 35°C por 24 horas (Cepas Estoque). A partir das cepas estoque foram realizados os testes bioquímicos com TSI (Agar Tríplice Açúcar Ferro -- Difco) e Agar Fenilalanina (Difco) para confirmação das cepas características.

Após a leitura positiva dos testes, as cepas suspeitas foram submetidas a API 20 E (Biomérieux). Com a confirmação dos testes, as cepas foram testadas frente aos soros polivalente somático e flagelar.

3 RESULTADOS E CONCLUSÃO

Foram analisadas 87 amostras de embutidos e 25 de queijos pré-fatiados comercializados na cidade de Botucatu.

Segundo a RDC nº 12 (02/01/2001 – Anvisa), os padrões microbiológicos para produtos cárneos cozidos ou não, maturados ou não, fracionados ou fatiados, mantidos sob refrigeração exigem a ausência de *Salmonella* em 25 g e permitem até 10^5 de coliformes fecais, 5×10^2 de clostrídios sulfito redutores e 5×10^3 de estafilococos coagulase positiva (ECP).

Entre as amostras de embutidos pré-fatiados, 8 (11,3%) estavam fora dos padrões devido a presença de *Salmonella*, sendo que 7 delas também

apresentaram excesso de coliformes termotolerantes acima do tolerável. Deve ser ressaltado que seis amostras positivas para *Salmonella* foram coletadas no mesmo supermercado. Provavelmente ocorreu contaminação cruzada com a máquina de cortar, pois as cepas foram comparadas quanto ao perfil bioquímico de 15 açúcares e antibiograma e todas apresentaram os mesmos resultados, inclusive os mesmos tamanhos de halos, no antibiograma, foram iguais, o que indica ser a mesma cepa. Entretanto, testes mais sensíveis, devem ser realizados para realmente se afirmar ser a mesma cepa.

Segundo a RDC nº 12 (02/01/2001 – Anvisa), os padrões microbiológicos para queijos, fracionados ou fatiados, mantidos sob refrigeração exigem a ausência de *Salmonella* e de *L. monocytogenes* em 25 g e permitem até 10^3 de coliformes termotolerantes e 10^3 de estafilococos coagulase positiva. Somente uma (5,9%) estava fora dos padrões estabelecidos, pela presença de *Salmonella* e excesso de coliformes termotolerantes, embora em outras duas amostras esse indicador e ECP (11,7%) também estivessem presente, em concentrações dentro do permitido.

Considerando-se as 112 amostras de frios analisadas, pode-se observar que 10 amostras (8,9%) das amostras estavam fora dos parâmetros estabelecidos.

Poucos trabalhos foram encontrados na literatura com frios pré fatiados, sendo mais freqüente relatos da qualidade de peças inteiras. Ratti et al (2005) avaliaram a ocorrência de *L. monocytogenes* em 30 amostras de presunto cozido fatiado e 30 de mussarela fatiada e observaram a presença do patógeno em 6,6% dos presuntos.

Pereira et al. (2005) analisaram 85 amostras de salame e somente uma (1,2%) apresentou excesso de ECP. Dados semelhantes foram encontrados nesse trabalho, onde todas as amostras desse embutido estavam dentro dos parâmetros indicados. BENITEZ et al. (1999) avaliaram a qualidade higiênico-sanitária de 10 amostras de queijo prato, em Santa Cruz do Sul – RS, e relataram que 70% estavam fora dos padrões para coliformes fecais. HERRERO et al. (1998), estudando 11 queijos tipo mozzarella, registraram apenas 11,1% em desacordo com o padrão para coliformes fecais. Esses mesmos autores encontraram *S. aureus* em 5,6% das amostras.

Pelos resultados obtidos, pode-se concluir que os frios pré fatiados representam perigo à saúde dos consumidores, sendo necessárias medidas para um maior controle e fiscalização por parte das autoridades de vigilância sanitária, a fim de que se reduzam os índices de *Salmonella* nesses alimentos. Os consumidores devem exigir que esse tipo de alimento seja fatiado no momento da compra.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. RESOLUÇÃO DE DIRETORIA COLEGIADA (RDC) Nº12 DE 02/01/2001.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). DOWNES F. P; ITO, K. (Eds). Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. Washington, 2001.

ANDREWS, W.H.; FLOWERS, R.S.; SILLIKER, J. et al. *Salmonella* In: DOWNES F. P; ITO, K. (Eds). Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. Washington:Apha, p. 357-380, 2001.

BEAN, N.H.; GRIFFIN, P.M.; GOULDING, J.S.; IVEY, C.B. Foodborne disease outbreaks, 5-year summary, 1983-1987. **J. Food Protect.**, **53**: 711-28, 1990.

BENITEZ, L.B. Estudo da qualidade de queijo prato produzido na região de Santa Cruz do Sul, RS através da análise de coliformes fecais e contagem de *Staphylococcus aureus*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 20, 1999, Salvador. **Anais...** Salvador, 1999. p. 355.

BRYAN, F.L. Foodborne diseases in the United States associated with meat and poultry. **J. Food. Protect.**, **43**: 140-50, 1980.

CARMO, L.S.; DIAS, R.S.; LINARDI, V.R. et al. An outbreak of Staphylococcal Food Poisoning in the Municipality of Passos, MG, Brazil. **Brazilian Arch. of Biol. Technol.**, **46** (4): 581-586, 2003.

CARMO, L.S.; DIAS, R.S.; LINARDI, V.R. et al. Toxinfecção alimentar por enterotoxina estafilocócica envolvendo 42 pessoas em um restaurante na cidade de Passos do estado de Minas Gerais, Brasil, *Resumos nos Anais do XX Congresso Brasileiro de Microbiologia, Salvador, BA, 1999.*

CNPGL <http://www.cnpgl.embrapa.br/producao/04industria/tabela04.04.php>, acesso em 25/03/2009.

FINEP http://www.finep.gov.br/Portal_DPP/relatorio_setorial/impressaorelatorio.asp?lst_setor=14, acesso em 23/03/2009.

HALPIN-DOHNALEK, M.I.; MARTH, E.H.; *Staphylococcus aureus*: production of extracellular compounds and behavior in foods – a review. **J. Food Protect.**, 267-82, 1989.

HERRERO, F., BIDÓIA, A.D., GUILHERMETTI, E., SILVA, S.C., PEDRA, M.R. Qualidade microbiológica de queijo tipo frescal e mussarela produzidos na região de Maringá – PR. In: CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE MICROBIOLOGIA E HIGIENE DE ALIMENTOS, 5, 1998, Águas de Lindóia. **Anais.** Águas de Lindóia, 1998. p. 94.

ICMSF. Microorganisms in foods 5. Microbiological specifications of food pathogens. London, Blackel Academic & Professional, 1996. 513p.

KOKAN, N.P.; BERGDOLL, M.S. Detection of low enterotoxin producing *Staphylococcus aureus* strains. **Appl. Envirom. Microbiol.**, **53**: 2675- 2676, 1987.

KORNACKI, J.L.; JOHNSON, J.L. Enterobacteriaceae, coliforms, and *Escherichia coli* as quality and safety indicators. In: DOWNES F. P; ITO, K. (Eds). Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. Washington:Apha, p. 69-80, 2001.

LAMPS, M.D.L.W.; Pathology of food-borne infectious diseases of the gastrointestinal tract: an update. **Adv Anat Pathol**, **10**(6), 2003.

LANCETTE, G.A & BENNETT, R.W. *Staphylococcus aureus* and Staphylococcal Enterotoxins. In: DOWNES F. P; ITO, K. (Eds). Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. Washington: Apha, 2001. p. 387-403.

MARTIN, M.C.; FUEYO, J.M.; GONZALEZ-HEVIA, M.A.; MENDOZA, M.C. Genetic procedures for identification of enterotoxigenic strains of *Staphylococcus aureus* from three food poisoning outbreaks. **Inter. J. Food Microbiol**, **94**:279-286, 2004.

NORMANNO, G.; FIRINU, A.; VIRGILIO, S.; MULA, G.; DAMBROSIO, A.; POGGIU, A.; DECASTELLI, L.; MIONI, R.; SUCUOTA, S.; BOLZONI, G.; Di GIANNATALE, E.; SALINETTI, A. P.; La SALANDRA, G.; BARTOLI, M.; ZUCCON, F.; PIRINO, T.; SIAS, S.; PARISI, A.; QUAGLIA, N.C.; CELANO, G. V. Coagulase-positive Staphylococci and *Staphylococcus aureus* in foods products marketed in Italy. **Food Microbiol.** v. 98, p. 73-79, 2005.

PEREIRA, K.S.; BAZZACO, D.A.; MIYA, N.T.N.; PEREIRA, J.L. Análises microbiológicas de salames industrializados: verificação de conformidade com a rdc 12 / 2001 (Anvisa). Anais do XXIII Congresso Brasileiro de Microbiologia, Santos/SP, 2005.

RATTI, R.P.; ALVES, V.F.; MARTINIS, E.C.P. Ocorrência de *Listeria monocytogenes* em presunto cozido fatiado, mussarela fatiada e equipamentos de fatiar do comércio varejista de Ribeirão Preto – SP, Brasil. Anais do XXIII Congresso Brasileiro de Microbiologia, Santos/SP, 2005.

ROSEC, J.P.; GIGAUD, O. Staphylococcal enterotoxin genes of classical and new types detected by PCR in France. **Int. J. Food. Microbiol.**, **77**: 61-70, 2002.

TRANter, H.S. Foodborne illness: foodborne staphylococcal illness. **Lancet**, **336**: 1044-6, 1996.