

Qualidade microbiológica de alimentos servidos em restaurantes *self-service*

Microbiological quality of food from *self-service* restaurants

RIALA6/1287

Karinna CHOUMAN^{1*}, Elisa Helena Giglio PONSANO², Aparecida de Fátima MICHELIN³

*Endereço para correspondência: ¹Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Paulista, Campus Araçatuba, CEP 16018-555, Araçatuba, SP, Brasil, (18) 3623-4778. e-mail: k.chouman@yahoo.com.br;

²Departamento de Apoio, Produção e Saúde Animal, Universidade Estadual Paulista, Campus de Araçatuba

³Laboratório I de Araçatuba, Instituto Adolfo Lutz

Recebido: 13.10.2010 – Aceito para publicação: 28.05.2010

RESUMO

Os serviços de alimentação coletiva têm se expandido em todo o mundo, sendo os restaurantes do tipo *self-service* a preferência atual dos consumidores. Considerando-se a importância da qualidade higiênica dos alimentos para a saúde da população, foi investigada a microbiota presente em alimentos prontos para o consumo. No segundo semestre de 2008, foram coletadas 20 amostras de refeições, à base de carne, prontas para o consumo, em diferentes restaurantes *self-service* da cidade de Araçatuba/SP. As análises bacteriológicas realizadas seguiram as metodologias convencionais e os resultados foram comparados com os padrões regulamentados pela legislação brasileira vigente. Das amostras analisadas, 90% foram positivas para coliformes a 35°C. Coliformes a 45°C foram detectados em 55% das amostras e, destes, em 63,63% foi confirmada a ocorrência de *Escherichia coli*. A presença de estafilococos coagulase-positiva foi verificada em 10% das amostras; *Salmonella* spp. e *Bacillus cereus* não foram detectados. Não foram pesquisados os clostrídios sulfito redutores a 42°C. Este estudo aponta a necessidade de atenção rigorosa quanto às condições sanitárias de preparo e exposição dos alimentos prontos para consumo, uma vez que a ingestão de produtos contaminados constitui um potencial risco para a saúde pública.

Palavras-chave. alimentos prontos para consumo, coliformes, estafilococos coagulase-positiva, *Salmonella* spp.

ABSTRACT

Collective food services have been increasing worldwide, and the self-service restaurant has been the current preference by consumers. Considering the importance of hygienic quality of food, the microbiological composition of ready-to-eat food was assessed. In the second semester of 2008, 20 samples of meals, mainly meat-based foods, were collected from different self-service restaurants in Araçatuba city, SP. Bacteriological analyses were performed following the conventional methodologies, and the results were compared with the standards established by the effective Brazilian legislation. Coliforms at 35°C were detected in 90% of analyzed samples. Coliforms at 45°C were found in 55% of the samples and, among these, in 63.63%, the occurrence of *Escherichia coli* was confirmed. Coagulase-positive staphylococci were detected in 10% of samples and no sample showed *Salmonella* spp. or *Bacillus cereus* contamination. Sulfite reducing clostridia at 42°C were not investigated in this study. These findings indicate the need for a rigorous approach for improving the sanitary conditions during preparation and presentation of ready-to-eat food, as the consumption of contaminated products represents a potential risk to public health.

Key words. ready-to-eat food, coliforms, coagulase-positive staphylococci, *Salmonella* spp.

INTRODUÇÃO

O modo de vida contemporâneo dos brasileiros, derivado do crescimento econômico e da globalização, está provocando mudanças nos hábitos culturais da população, inclusive os alimentares. A diminuição do tempo disponível para o preparo dos alimentos leva grande parte da população a optar por refeições mais rápidas, da aquisição ao preparo, e também por refeições fora do domicílio, aumentando a demanda por serviços de alimentação coletiva¹. Dentre esses, os serviços do tipo *self-service* são os preferidos, em função da indiscutível rapidez e variedade que proporcionam. Nos estabelecimentos que oferecem esse serviço, rigorosas práticas higiênicas no preparo são fundamentais para garantir um alimento seguro e, se violadas, podem transformar o alimento em veículos de agentes causadores de doenças de origem alimentar (DTAs). Além disso, nessa modalidade de serviço, após o preparo até o consumo, os alimentos ficam submetidos a uma série de oportunidades de contaminação microbiana devido ao grande número de pessoas envolvidas nas áreas de exposição e consumo². Também se deve considerar que a temperatura e o tempo a que os alimentos ficam submetidos durante a exposição aos consumidores nem sempre são as ideais, podendo favorecer o desenvolvimento de micro-organismos que tenham permanecido após o preparo ou aqueles que contaminaram o produto depois de pronto³.

Outros fatores podem, também, influenciar as condições sanitárias dos alimentos em restaurantes do tipo *self-service*, tais como a qualidade da matéria-prima, o tempo de descongelamento e cozimento, o aproveitamento de sobras alimentares, os equipamentos e os instrumentos utilizados no preparo³. Vale destacar, ainda, que o manipulador de alimentos é um importante disseminador de micro-organismos provenientes de sua microbiota ou de sujidades presentes especialmente nas mãos⁴.

Várias espécies bacterianas são capazes de causar DTAs, podendo-se citar *Staphylococcus aureus*, clostrídios sulfito redutores a 42°C e *Bacillus cereus* como agentes de intoxicação alimentar, enquanto que infecções podem ser transmitidas por salmonelas, shigelas e algumas estirpes de *E. coli*⁵.

As DTAs acarretam sofrimento físico e gastos ao consumidor, prejuízos financeiros e morais ao estabelecimento produtor (representados por pagamento de indenizações, descarte de produtos, queda na produtividade e pela repercussão sobre sua imagem) e gastos para o setor governamental (representados pelo custeio de tratamentos médicos e licenças

trabalhistas)⁶. De acordo com Carmo et al⁷, de 1999 a 2004, foram notificados ao Ministério da Saúde 3.734 surtos de DTAs, com o acometimento de 73.517 pessoas e registro de 38 óbitos. Na realidade, esses números podem ser ainda maiores, já que grande número de pessoas acometidas por DTAs não procuram os serviços médicos, além de haver falta de notificação dos casos para os sistemas oficiais de controle. Esse panorama pode ser minimizado com o uso de Boas Práticas de Fabricação (BPFs), preconizadas pela Resolução da Diretoria Colegiada nº 216 de 15 de setembro de 2004, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária⁸.

A investigação a respeito da qualidade dos alimentos prontos permite verificar o atendimento à legislação, alertando sobre a importância do papel dos estabelecimentos produtores de alimentos e das autoridades sanitárias na segurança alimentar da população. Por esse motivo, tem-se verificado na literatura brasileira, alguns trabalhos que se dedicam a investigar o assunto, em diferentes localidades do país⁹⁻¹¹. Considerando a importância da qualidade higiênica dos alimentos na preservação da saúde do consumidor, este trabalho vem contribuir para essa literatura, apresentando dados regionais. Dessa forma, o presente estudo teve o objetivo de investigar a microbiota presente em refeições prontas para o consumo comercializadas em restaurantes do tipo *self-service*, localizados na cidade de Araçatuba/SP.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostras

Vinte amostras de refeições prontas para o consumo contendo carne, hortaliças, cereais e leguminosas foram colhidas de restaurantes do tipo *self-service* da cidade de Araçatuba, estado de São Paulo, durante o segundo semestre de 2008. As amostras foram embaladas em sacos plásticos, identificadas e encaminhadas, sob refrigeração em caixa térmica, para o Laboratório de Microbiologia da Universidade Paulista, Campus Araçatuba, onde foram analisadas.

Análises microbiológicas

Preparo das amostras

As amostras foram homogeneizadas mecanicamente em triturador com copo esterilizado e utilizadas para o preparo das diluições. Para a pesquisa de coliformes, estafilococos coagulase-positiva e *Bacillus cereus*, 25 g das amostras homogeneizadas foram diluídas

em 225 mL de água peptonada 0,1%, dando origem à primeira diluição decimal. As diluições seriadas foram preparadas em nove mL do mesmo diluente. Para a pesquisa de *Salmonella* spp., a primeira diluição decimal foi obtida a partir de 25 g das amostras em 225 mL de água peptonada 1% e as diluições subsequentes foram preparadas em nove mL do mesmo diluente.

Determinação do Número Mais Provável (NMP) para coliformes

Diluições seriadas das amostras foram semeadas em caldo lauril-sulfato de sódio (Difco) e incubadas a 35-37°C por 24-48 horas. Após este período, alíquotas do caldo lauril-sulfato foram repicadas para caldo lactose bile verde brilhante (Difco) e caldo EC (Difco), ambos contendo tubos de Durham, que foram incubados a 35-37°C e 44-45,5°C, durante 24-48 horas¹².

Identificação de coliformes a 44-45,5°C

As amostras que apresentaram crescimento com formação de gás no tubo de Durham em caldo EC foram isoladas por estriamento em ágar Levine Eosina Azul de Metileno - Levine EMB (Merck) a 35°C durante 24 horas, e submetidas à identificação presumtiva em meio de Rugai modificado (Cecon)¹².

Pesquisa de estafilococos coagulase-positiva

Diluições das amostras foram semeadas em ágar Baird-Parker (Difco) e incubadas a 35°C por 48 horas. As colônias sugestivas de estafilococos coagulase-positiva foram testadas quanto à atividade da catalase e, ao apresentar resultado positivo, foram transferidas para caldo infuso-cérebro-coração (Difco), incubadas por 24 horas a 35°C e, então, submetidas ao teste da coagulase, para confirmação¹².

Pesquisa de *Bacillus cereus*

Diluições das amostras foram semeadas em ágar *Bacillus cereus* (Difco) e incubadas a 30°C por 48 horas para a observação de colônias típicas¹².

Pesquisa de *Salmonella* spp.

Diluições apropriadas das amostras foram incubadas a 35°C por 48 horas para permitir um pré-

enriquecimento. Após este período, alíquotas das diluições foram semeadas em caldos Rappaport-Vassiliadis (Merck) e selenito com cistina (Merck) e incubados a 42°C e 35°C, respectivamente, por 24-48 horas. Os caldos foram, então, estriados em ágar *Salmonella*, *Shigella* - SS (Oxoid), ágar bismuto sulfito - BSA (Difco) e ágar xilose lisina desoxicolato - XLD (Merck) e incubados a 35°C durante 24 horas, para permitir o isolamento e a observação de colônias típicas do micro-organismo¹².

Clostrídios sulfito-redutores a 42°C não foram pesquisados neste trabalho. Os resultados obtidos foram comparados com os parâmetros legais estabelecidos para os grupos bacterianos abrangidos no item 22a (a base de carnes, pescados, ovos e similares cozidos) da Resolução da Diretoria Colegiada nº 12 de 02 de janeiro de 2001, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (RDC 12/2001 - ANVISA)¹³, que aprova o Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1 apresenta os dados obtidos na avaliação microbiológica das amostras, bem como os valores de tolerância para os grupos microbianos pesquisados, de acordo com a legislação brasileira para o tipo de produto analisado.

Coliformes a 35°C e 45°C compreendem um grupo de bactérias indicadoras de contaminação utilizadas na avaliação da qualidade higiênico-sanitária de alimentos prontos para consumo. O grupo dos coliformes a 35°C compreende bactérias entéricas ou não, da família *Enterobacteriaceae*, com predominância dos gêneros *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter* e *Klebsiella*. A presença desse grupo microbiano em alimentos não indica necessariamente uma contaminação fecal ou ocorrência de patógenos, mas números elevados indicam, seguramente, falhas higiênicas ao longo da obtenção, do processamento ou da conservação de produtos alimentícios⁵, pontos que devem ser reavaliados pelos estabelecimentos fornecedores. No entanto, o item 22 da RDC 12/2002 não estabelece padrões microbiológicos para este grupo microbiano, o que inviabiliza uma comparação. Poerner et al¹¹ relataram detecção de coliformes totais em 100% das superfícies de manipulação de alimentos em estabelecimentos que oferecem serviços de alimentação em Santa Rosa, RS, alertando para a insuficiente higienização e para o risco de contaminação cruzada.

Tabela 1. Análises microbiológicas de refeições prontas servidas em restaurantes tipo *self service* em Araçatuba, SP (n = 20)

Análise realizada	Limites encontrados		Nº (%) de amostras positivas	Valor de tolerância para amostra indicativa ¹	Nº (%) de amostras dentro do padrão	Nº (%) de amostras fora do padrão
	Mín.	Máx.				
Coliformes a 35°C/g	0	> 1,1 (x 10 ³)	18 (90%)	-	-	-
Coliformes a 45°C/g	0	> 1,1 (x 10 ³)	11 (55%)	2 x 10	18 (90%)	02 (10%)
Estafilococos coagulase positiva/g	0	6 (x 10 ³)	02 (10%)	10 ³	19 (95%)	01 (5%)
<i>Bacillus cereus</i> /g	-	-	0	10 ³	20 (100%)	0
<i>Salmonella</i> spp./25g	-	-	0	ausência	20 (100%)	0

¹RDC nº 12/2001 – ANVISA

A presença de coliformes a 45°C indica a contaminação do alimento com material de origem fecal e, dessa forma, alerta sobre a eventual presença de enteropatógenos⁵. De acordo com Forsythe¹⁴, a incidência desse grupo de bactérias é considerada o melhor indicador da possível presença de outros enteropatógenos. Para este grupo microbiano, 55% das amostras foram consideradas em desacordo com a legislação, indicando o comprometimento da qualidade dos alimentos servidos nos restaurantes do tipo *self-service* da cidade. Os coliformes a 45°C podem se originar da matéria-prima, dos próprios manipuladores dos alimentos, bem como dos utensílios e superfícies que entraram em contato direto com o alimento durante o seu preparo, quando ocorre deficiência na higienização⁵. Costa et al¹⁰ encontraram altas contagens de coliformes a 35 e a 45°C em saladas cruas servidas em restaurantes do tipo *self-service* na cidade de Palmas, TO e atribuíram os achados ao contato dos vegetais já preparados com carnes cruas e ao uso de esterco bovino no cultivo das hortaliças. Bactérias deste grupo também foram isoladas das mãos de manipuladores de alimentos em um estabelecimento de alimentação coletiva⁹.

Dentre as espécies de coliformes a 45°C encontradas, 63,63% foram identificadas como *Escherichia coli*, que possui como habitat natural o trato intestinal de humanos

e de outros animais de sangue quente. *Escherichia coli* é a bactéria mais conhecida e a mais facilmente diferenciada laboratorialmente dos membros não fecais, sendo, por isso, o melhor indicador de contaminação fecal¹⁵. Também se deve considerar que diversas linhagens de *E. coli* são patogênicas para o homem por serem produtoras de toxinas ou causadoras de infecção⁵. A avaliação microbiológica de superfícies utilizadas para o preparo de alimentos de uma unidade de preparo de alimentação coletiva no Ceará também indicou a presença de *E. coli*⁹.

Uma das amostras investigadas apresentou contagem de estafilococos coagulase-positiva superior à permitida pela legislação. Em alimentos processados, a presença de estafilococos usualmente indica contaminação proveniente de pele, boca ou nariz dos manipuladores¹⁶. As bactérias do gênero *Staphylococcus*, principalmente aquelas produtoras de coagulase, como *Staphylococcus aureus*, são as mais comumente envolvidas nos quadros de intoxicação alimentar, resultante da produção de enterotoxinas relativamente resistentes ao calor e às enzimas proteolíticas¹⁷. Os quadros de intoxicação apresentam sintomas característicos como náusea, vômito, cólica abdominal e diarreia, que surgem cerca de duas a quatro horas após a ingestão de alimento que contém a enterotoxina². Faheina Jr et al⁹ encontraram a presença de *Staphylococcus aureus* em 50% das amostras

colhidas das mãos de manipuladores de serviço de alimentação coletiva, alertando para o envolvimento dos manipuladores em surtos de intoxicação alimentar por esse agente. Em um monitoramento microbiológico das mãos de manipuladores de alimentos em um restaurante institucional, Almeida et al⁴ também detectaram a presença de *S. aureus*. Esses dados reafirmam a importância do treinamento dos manipuladores de alimentos em práticas de higiene pessoal e laboral como forma de prevenir a intoxicação alimentar causada por este agente. Além disso, em restaurantes do tipo *self-service*, a exposição do alimento e sua manipulação pelos consumidores também constituem importantes fatores de contaminação, devido à introdução do micro-organismo a partir das mãos, dos braços e da saliva das pessoas no momento de servirem-se.

Estafilococos coagulase-positiva também podem estar presentes em equipamentos e utensílios, em decorrência de falhas nos procedimentos de higienização das superfícies de trabalho. Em condições ideais, eles se aderem, interagem com as superfícies e desencadeiam crescimento celular. Essa multiplicação dá origem a colônias e, quando a massa celular é suficiente para agregar nutrientes, resíduos e outros micro-organismos, forma-se um biofilme¹⁸. Embora a legislação brasileira estabeleça limites toleráveis para a contagem de *Bacillus cereus* em alimentos prontos à base de carne, em nenhuma das amostras analisadas se detectou a presença dessa bactéria. A grande capacidade de multiplicação de *B. cereus* em diferentes alimentos prontos, principalmente naqueles preparados com muita antecedência ao consumo e deixados em temperaturas favoráveis, é um fator importante para desencadear episódios de intoxicações, muitos dos quais sequer vêm a ser diagnosticados¹⁹. De acordo com Germano¹⁶, a incidência de surtos provocados por *B. cereus* tem diminuído consideravelmente em todo mundo, provavelmente devido à melhoria das condições de higiene dos estabelecimentos de manipulação dos alimentos e, também, à diminuição da contaminação de especiarias utilizadas como ingredientes.

De acordo com a legislação brasileira, a presença de *Salmonella* spp. não é tolerada em 25 g de qualquer tipo de alimento. Os alimentos provenientes de aves e aqueles que contêm ovos têm sido frequentemente envolvidos em surtos de gastroenterites em humanos, ocasionados por este agente²⁰. A ausência de *B. cereus* e *Salmonella* spp. também foi verificada em amostras de alimentos prontos para o consumo vendidos em supermercados¹⁰.

Os resultados do presente estudo apontam para a necessidade de uma atenção rigorosa às condições sanitárias de preparo e exposição dos alimentos a serem consumidos, uma vez que a ingestão de alimentos com contaminação microbiana constitui um risco potencial para a saúde pública.

CONCLUSÃO

Coliformes a 35 e a 45°C, *Escherichia coli* e estafilococos coagulase-positiva foram detectados nas amostras de refeições prontas para consumo, indicando a necessidade de cuidados higiênicos mais rigorosos no preparo e na exposição dos alimentos destinados ao consumo humano.

REFERÊNCIAS

1. Germano MIS. Treinamento de Manipuladores de Alimentos: Fator de Segurança Alimentar e Promoção da Saúde. São Paulo: Varela; 2003.
2. Silva Jr EA. Manual de controle higiênico-sanitário em alimentos. 5ª ed. São Paulo: Varela; 2002.
3. Zoli JA, Negrete IRA, Oliveira TCRM. Avaliação da Contaminação por *Staphylococcus aureus* e *Salmonella* sp., de maionese de batata comercializada em Londrina, PR. *Rev Hig Aliment*. 2002; 16(96): 62-71.
4. Almeida RCC, Kuaye AY, Serrano AM. Avaliação e controle da qualidade microbiológica de mãos de manipuladores de alimentos. *Rev Saúde Pública*. 1995; 29: 290-4.
5. Franco BDG de M, Landgraf M. Microrganismos Patogênicos de Importância em Alimentos. In: Franco BDG de M, Landgraf M. *Microbiologia dos Alimentos*. São Paulo: Atheneu; 2002. p. 33-71.
6. Downes FP, Ito K. *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. 4ª ed. Washington: American Public Health Association; 2001.
7. Carmo GMI, Oliveira AA, Dimech CP, Santos DA, Almeida MG, Berto LH et al. Vigilância Epidemiológica das doenças transmitidas por alimentos no Brasil, 1999-2004. *Bol Eletrôn Epidem*. 2005; 5(6): 1-7.
8. Brasil, Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC nº 216, de 15 de setembro de 2004. Dispõe sobre Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação, Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. Brasília, DF, 16 set.2004.Seção 1, p.25.

9. Faheina Jr GS, Rêgo SL, Fonteles TV, Martins CM, Melo VMM, Martins SCS. Avaliação microbiológica de equipamentos, utensílios e manipuladores de alimentos, em Unidade de Alimentação e Nutrição da Universidade Federal do Ceará. *Rev Hig Aliment*. 2008; 22(158): 59-63.
10. Costa AA, Souza Júnior VM, Coelho AFS. Avaliação microbiológica de saladas de vegetais servidas em restaurantes *self service* na cidade de Palmas, TO. *Rev Hig Aliment*. 2008; 22(159): 27-32.
11. Poerner N, Rodrigues E, Palhano AL, Fiorentini, AM. Avaliação das condições higiênico-sanitárias em serviços de alimentação. *Rev Inst Adolfo Lutz*. 2009; 68(3): 399-405.
12. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. Washington APHA. 2002.
13. Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001. Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. Brasília, DF, 10 jan. 2001. Seção 1, p.45-53.
14. Forsythe SJ. Microbiologia da segurança alimentar. Porto Alegre: Artmed; 2002.
15. Silva N, Junqueira VCA, Silveira NF de A. Manual e métodos de análise microbiológica de alimentos, 2ª ed. São Paulo: Varela; 2001.
16. Germano PMI, Germano MIS. Higiene e vigilância sanitária de alimentos. São Paulo: Varela; 2001.
17. Costerton JW, Marrie TJ, Cheng KJ. Phenomena of bacterial adhesion. In: Savage, DC, Fletcher, M (Ed.) London: Plenum Press 1985; 3-43.
18. Zottola EA. Microbial attachment and biofilm formation: a new problem for the food industry. *Food technol*. 1994; 48: 107-14.
19. Azeredo RMC. Estimativa de riscos relacionados à contaminação de preparações de arroz por *Bacillus cereus* [dissertação de mestrado]. Campinas (SP): Faculdade de Engenharia de Alimentos, UNICAMP; 1998.
20. Altekruze SF, Cohen ML, Swerdlow DL. Emerging foodborne diseases. *Emerg Infect Dis* 1997; 3: 285-93.