

Ocorrência de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* resistentes a antimicrobianos e parasitos *Entamoeba coli* e *Ascaris lumbricoides* em merendas escolares

Occurrence of antibiotic-resistant *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* and of *Entamoeba coli* and *Ascaris lumbricoides* parasites in the school snacks

RIALA6/1674

Daiane Bertholin ANSELMO^{1*}, Catiere Hirsh WERLE², Fernando Leite HOFFMANN^{1(In Memoriam)}

*Endereço para correspondência: ¹Laboratório de Microbiologia de Alimentos, Departamento de Engenharia e Ciência de Alimentos, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Rua Cristóvão Colombo nº 2265, Jardim Nazareth, São José do Rio Preto/SP, CEP: 15054-000. Tel: 17 3221-2200. E-mail: daiane_bertholin@hotmail.com

²Laboratório de Genética e Biologia Molecular, Departamento de Genética Evolução e Bioagentes, Universidade Estadual de Campinas

Recebido: 21.05.2015 - Aceito para publicação: 01.12.2015

RESUMO

Vários surtos de doenças de origem alimentar têm sido relatados nas escolas, e que chegam a matar milhões de crianças a cada ano em todo o mundo. O objetivo deste estudo foi de avaliar o nível de contaminação microbiológica e parasitológica de refeições escolares. Foram avaliadas 102 amostras de diferentes tipos de alimentos, em que foram analisados: coliformes totais, termotolerantes, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Staphylococcus* coagulase positiva (CP), *Bacillus cereus* e clostrídios sulfito redutores. Foram encontradas contagens > 1.100 NMP de coliformes totais e < 3 a 240 NMP de termotolerantes. Quatro amostras apresentaram *E. coli* e *Staphylococcus* (CP) foi isolado em duas em nível acima do permitido. No teste de sensibilidade a antimicrobianos, as cepas de *E. coli* e de *Staphylococcus* (CP) detectadas neste estudo demonstraram resistência, respectivamente, a ampicilina e penicilina. Na análise parasitológica dos alimentos crus foram pesquisados: *Entamoeba coli*, *Entamoeba histolytica*, *Giardia duodenalis* e *Ascaris lumbricoides*. *Entamoeba coli* e *Ascaris lumbricoides* foram detectados na salada. A merenda escolar oferece riscos à saúde das crianças, o que indica a necessidade de melhoria nas condições de seu preparo e de implantação das Boas Práticas nas instituições de ensino.

Palavras-chave. higiene alimentar, alimentação escolar, segurança alimentar, doenças veiculadas por alimentos.

ABSTRACT

Several outbreaks of food-borne diseases have been reported in schools, and these have been responsible for causing death of millions children per year worldwide. The objective of this study was to evaluate the rate of microbiological and parasitological contamination of school meals. This study evaluated 102 samples of different types of food by analyzing total coliforms, thermotolerant, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., coagulase-positive *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* and sulfite-reducing clostridia. Total coliforms counts were > 1,100 MPN, and of < 3 a 240 MPN for thermotolerant. *E. coli* was isolated from four samples, and *S. aureus* was detected in two samples in a rate higher than the permitted one. By means of antimicrobial susceptibility testing, *E. coli* and *S. aureus* strains showed to be resistant to ampicillin and penicillin, respectively. In the parasitological analysis in raw foods, the following parasites were investigated: *Entamoeba coli*, *Entamoeba histolytica*, *Giardia duodenalis* and *Ascaris lumbricoides*. *Entamoeba coli* and *Ascaris lumbricoides* were found in salad. The school meals offer risks to the children health; therefore, it has to improve the conditions of their preparation and to implement the Good Practices in the educational institutions.

Keywords. food hygiene, school meals, food security, food-borne diseases.

INTRODUÇÃO

As Doenças Veiculadas por Alimentos (DVA) abrangem uma ampla variedade de doenças que se manifestam após a ingestão de alimentos contaminados, onde a verdadeira extensão do seu impacto na saúde global é imensa, mas ainda é desconhecida por muitos¹.

Os alimentos fornecidos para a alimentação escolar, consumidos diariamente pelos alunos, são essenciais para a preservação da saúde, desde que apresentem condições de higiene satisfatórias. Seu controle inadequado é responsável pela ocorrência de surtos de doenças, provocadas principalmente pela ingestão de micro-organismos ou de suas toxinas, causando infecções ou intoxicações².

De acordo com o Ministério da Saúde, de 2000 a 2014 foram notificados 9.719 surtos de DVA pela Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS), afetando 1.948.144 pessoas, resultando em 192.803 doentes e mais de 112 óbitos no Brasil; sendo os micro-organismos mais ocorrentes *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. As informações ignoradas sobre o agente etiológico são de 52,3 %. Segundo a SVS, as creches/escolas ocupam o terceiro lugar em ocorrências de surtos³.

A prevalência de micro-organismos importantes como *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* resistentes a vários antimicrobianos está aumentando, principalmente devido ao seu uso extensivo e indiscriminado. Isso representa um grande problema e ameaça para a saúde pública em muitos países, devido à persistência da circulação de cepas de bactérias resistentes no ambiente e a possível contaminação de água e alimentos, podendo tornar-se um meio pela qual estas bactérias patogênicas resistentes aos antimicrobianos são transmitidas para as pessoas, dificultando o tratamento⁴. Em termos de clínica e terapêutica, o teste de susceptibilidade aos antimicrobianos assume grande relevância para a saúde pública⁵.

Além das bactérias, outro grave problema de saúde pública no Brasil constitui as parasitoses intestinais, responsáveis por um terço da carga global de doença humana¹. A ascaridíase, uma doença grave provocada pelo *Ascaris lumbricoides*,

acomete milhões de pessoas, especialmente crianças, tornando-as debilitadas, afetando-as física e intelectualmente. Sendo causa e consequência do subdesenvolvimento de um país ou de uma região⁶.

Para garantir alimentos seguros aos alunos, os serviços de alimentação precisam seguir criteriosamente as normas estabelecidas pela Vigilância Sanitária, pois as medidas de segurança tomadas durante as várias fases de preparação da alimentação escolar são ainda insuficientes⁷.

Assim, com a maior frequência de crianças nas escolas durante o período integral, realizando suas principais refeições neste local, a segurança alimentar é uma preocupação, pois é ameaçada principalmente devido a grandes quantidades de alimentos que são preparadas com antecedência nas instituições escolares, então se faz necessário uma investigação e acompanhamento da qualidade desses alimentos consumido pelos alunos em fase de desenvolvimento.

Neste estudo foi investigada a merenda escolar das escolas e creches de uma cidade do interior do estado de São Paulo - Brasil. A comida foi avaliada utilizando os seguintes parâmetros microbiológicos: coliformes totais, coliformes termotolerantes, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp., *Bacillus cereus*, clostrídios sulfito redutores e parasitológicos: *Entamoeba coli*, *Entamoeba histolytica*, *Giardia duodenalis*, *Ascaris lumbricoides* e *Taenia* spp.

Este estudo teve como principal objetivo avaliar o nível de contaminação microbiológica e parasitológica de refeições escolares. Sendo de suma importância epidemiológica em relação à saúde pública e cuidados higiênico-sanitários no preparo de tais refeições.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram obtidas amostras de merenda escolar da cozinha piloto e de seis escolas de ensino infantil e fundamental de uma cidade do interior do estado de São Paulo. A coleta das amostras foi realizada imediatamente após

o preparo e no momento em que chegaram nas creches e escolas, antes de serem servidas às crianças. As amostras foram coletadas em dias alternados da semana, para garantir uma avaliação completa do cardápio servido às crianças. Foram realizadas coletas nos meses de fevereiro, março, abril e novembro, sendo seis coletas nas duas creches e três coletas nas quatro escolas, totalizando 33 coletas e 102 amostras.

Estas amostras foram divididas nas categorias de arroz, feijão, produtos cárneos e saladas. E subdivididas em arroz branco (18 amostras); arroz + carne moída + macarrão + cenoura (cinco amostras); arroz + seleta de legumes (cinco amostras); galinhada (cinco amostras); feijão (18 amostras); carne de porco (três amostras); carne em pedaços com batata (três amostras); linguíça calabresa (três amostras); linguíça de frango assada (três amostras); frango assado (três amostras); linguíça de frango assado + tomate (três amostras); salada de repolho + cenoura (nove amostras); salada de alface (nove amostras); salada de tomate (dez amostras) e salada de repolho + tomate (cinco amostras).

Todas as amostras coletadas foram encaminhadas para o Laboratório de Microbiologia de Alimentos da Universidade Estadual Paulista – UNESP – Campus de São José do Rio Preto, acondicionadas em recipiente isotérmico com gelo, e lá mantidas em geladeira até a análise. As merendas escolares foram avaliadas quanto à presença de coliformes totais, coliformes termotolerantes, *Escherichia coli*⁸, *Staphylococcus aureus*⁹ *Salmonella* spp.¹⁰, *Bacillus cereus*¹¹ e clostrídios sulfito redutores¹². As análises foram realizadas no mesmo dia da coleta. As cepas de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* isoladas foram submetidas ao teste de susceptibilidade antimicrobiana¹³⁻¹⁵. E nos alimentos crus foram realizadas análises parasitológicas^{16,17}.

RESULTADOS

As contagens de coliformes totais variaram de 3,6 a 1.100 NMP/g. Das 102 amostras avaliadas, 17 (16,7 %) apresentaram contagem

igual ou superior a 1.100 UFC/g, dentre estas estão: arroz + seleta de legumes (Escola C), salada de repolho + tomate (Escola A e Escola V), salada de tomate (Cozinha Piloto, Escola A e Escola O), salada de repolho + cenoura (Cozinha Piloto e Creche I) e salada de alface (Cozinha Piloto, Creche I e Creche D). A maior contagem de bactérias foi obtida nas saladas, observaram-se menores contagens de bactérias nas saladas das escolas e creches em comparação com a cozinha piloto.

Coliformes termotolerantes foram detectados em 15 (14,7 %) amostras, sendo que apenas uma amostra (1 %) não atendeu aos padrões recomendados pela ANVISA¹⁸. Destas 15 amostras, três (20 %) confirmaram presença de *E. coli* (Cozinha e Creche I), como mostra a Tabela 1, não atendendo aos padrões estabelecidos¹⁸.

Staphylococcus aureus foi detectado em sete (10,1 %) amostras (Galinhada da Cozinha Piloto e Escolas; Arroz da Cozinha Piloto e Creche I), sendo que apenas duas (2,9 %) ultrapassaram o padrão recomendado pela ANVISA¹⁸ (Cozinha e Creche I) como mostra a Tabela 2. Também foi detectado *Staphylococcus* coagulase negativa em 18 (26,1 %) amostras, com contagens de $0,5 \times 10^2$ a $1,8 \times 10^5$ UFC/g, dentre estas estão: Arroz + carne moída + macarrão + cenoura (Escola C); Arroz + seleta de legumes (Cozinha Piloto e escolas); Arroz (Cozinha Piloto, Creche D e Creche I); Feijão (Cozinha Piloto, Creche D e Creche I); Linguíça calabresa (Creche D e Creche I) e Frango Assado (Creche D).

Foram pesquisadas 102 amostras de alimentos para presença de *Salmonella* spp., estando todas estas de acordo com o padrão estabelecido¹⁸.

Para a análise de clostrídios sulfito redutores, todas as amostras apresentaram contagens <10 UFC/g, atendendo aos padrões estabelecidos pela legislação brasileira¹⁸.

Todas as 69 (100 %) amostras analisadas para *Bacillus cereus* estavam dentro dos padrões estabelecidos pela legislação¹⁸, porém uma (1,4 %) amostra de arroz da Creche D apresentou contagem de 2×10^2 UFC/g.

Tabela 1. Resultados obtidos após pesquisa de *Escherichia coli* na Cozinha piloto, Creche D, Creche I, Escola C, Escola O e Escola V

Amostras	Local	Coliformes termotolerantes	<i>E. coli</i>
Repolho com cenoura	Cozinha piloto	20 NMP/g	Ausente
Salada de alface	Cozinha piloto	23 NMP/g	Presente
Repolho com cenoura	Cozinha piloto	28 NMP/g	Ausente
Salada de alface	Cozinha piloto	9,2 NMP/g	Ausente
Salada de alface	Creche D	15 NMP/g	Ausente
Salada de alface	Creche D	3,6 NMP/g	Ausente
Repolho com cenoura	Creche I	3,6 NMP/g	Ausente
Salada de alface	Creche I	3,6 NMP/g	Presente
Repolho com cenoura	Creche I	240 NMP/g	Presente
Salada de alface	Creche I	9,2 NMP/g	Ausente
Arroz+carne moída+macarrão+cenoura	Escola C	9,2 NMP/g	Ausente
Arroz+carne moída+macarrão+cenoura	Escola O	9,2 NMP/g	Ausente
Salada de tomate	Escola O	21 NMP/g	Ausente
Arroz+carne moída+macarrão+cenoura	Escola V	3,6 NMP/g	Ausente
Salada de tomate	Escola A	3,6 NMP/g	Ausente
Padrão Federal Brasil 2001		10² NMP/g	Ausência

NMP= técnica de número mais provável

Tabela 2. Resultados obtidos da contagem de *Staphylococcus* spp. (UFC/g) na Cozinha piloto, Creche D e Creche I

Amostras	Locais		
	Cozinha Piloto	Creche D	Creche I
Coleta dia 26/02/2013			
Arroz	< 100	1,5 x 10 ² (-)	< 100
Feijão	< 100	< 100	< 100
Carne de porco	< 100	< 100	< 100
Coleta dia 05/03/2013			
Arroz	< 100	< 100	1 x 10 ² (-)
Feijão	< 100	< 100	< 100
Carne com batata	< 100	< 100	< 100
Coleta dia 12/03/2013			
Arroz	0,5 x 10 ² (-)	3 x 10 ² (-)	1 x 10 ² (-)
Feijão	0,5 x 10 ² (-)	1 x 10 ² (-)	3 x 10 ² (-)
Linguiça calabresa	< 100	1 x 10 ² (-)	1,5 x 10 ² (-)
Coleta dia 26/03/2013			
Arroz	< 100	< 100	< 100
Feijão	< 100	< 100	< 100
Linguiça de frango	< 100	< 100	< 100
Coleta dia 03/04/2013			
Arroz	< 100	1,9 x 10 ⁴ (-)	< 100
Feijão	< 100	< 100	< 100
Frango assado	< 100	4 x 10 ⁴ (-)	< 100
Coleta dia 12/11/2013			
Arroz	6 x 10³ (+)	< 100	5 x 10³ (+)
Feijão	< 100	< 100	< 100
Linguiça de frango	< 100	< 100	< 100
Padrão Federal Brasil 2001	10³ UFC/g para <i>Staphylococcus aureus</i>		

Já nas análises parasitológicas, o cisto de *Entamoeba coli* estava presente na salada de alface da Creche D e ovo de *Ascaris lumbricoides* (não larvado, não havendo risco de infecção) na salada de repolho com cenoura da Creche I, como mostra a Tabela 3.

Para os testes de sensibilidade aos antimicrobianos das três cepas de *Escherichia coli*

testadas, duas (66,7 %) foram sensíveis a todos antimicrobianos e uma (33,3 %) foi resistente a um antimicrobiano, a ampicilina. Já para *Staphylococcus aureus*, todas as sete cepas (100 %) analisadas foram resistentes a um antimicrobiano, a penicilina, o restante dos antimicrobianos testados foram eficazes para 100% das cepas testadas.

Tabela 3. Resultados de análises parasitológicas das saladas da cozinha piloto, Creche D, Creche I, Escola V, Escola C, Escola O e Escola A

Amostra/Data	Local	Resultado
Repolho com cenoura 26/02/2013	Cozinha piloto	Ausente
	Creche D	Ausente
	Creche I	Ausente
Salada de alface 05/03/2013	Cozinha piloto	Ausente
	Creche D	Cisto de <i>Entamoeba coli</i>
	Creche I	Ausente
Salada de alface 12/03/2013	Cozinha piloto	Ausente
	Creche D	Ausente
	Creche I	Ausente
Repolho com cenoura 26/03/2013	Cozinha piloto	Ausente
	Creche D	Ausente
	Creche I	Ovo de <i>Ascaris lumbricoides</i> *
Repolho com cenoura 03/04/2013	Cozinha piloto	Ausente
	Creche D	Ausente
	Creche I	Ausente
Salada de tomate 09/04/2013	Cozinha piloto	Ausente
	Escola V	Ausente
	Escola C	Ausente
	Escola O	Ausente
Repolho com tomate 18/04/2013	Escola A	Ausente
	Cozinha piloto	Ausente
	Escola V	Ausente
	Escola C	Ausente
Salada de tomate 05/11/2013	Escola O	Ausente
	Escola A	Ausente
	Cozinha piloto	Ausente
	Escola V	Ausente
Salada de alface 12/11/2013	Escola C	Ausente
	Escola O	Ausente
	Escola A	Ausente
Salada de alface 12/11/2013	Cozinha piloto	Ausente
	Creche D	Ausente
	Creche I	Ausente

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

As altas contagens de coliformes totais demonstram uma deficiência das condições higiênicas da Cozinha Piloto, Escola C, Escola A, Escola V, Escola O, Creche I e Creche D. A maior contagem de coliformes totais nas saladas pode ser explicada por ser um alimento cru, que tem a contaminação facilitada devido ao contato direto com o solo ou até mesmo causado pela falta de higiene do manipulador. Acredita-se que as menores contagens de bactérias observadas nas saladas das escolas em comparação com a cozinha piloto, seja devido ao vinagre usado nas escolas para temperar as saladas, como mostra o estudo de Sengun e Karapinar¹⁹ que concluíram que o vinagre causa uma redução significativa da carga microbiana presente no alimento. No período de 1996 a 2004, a Administração de Alimentos e Drogas (FDA) respondeu a 14 surtos de doenças transmitidas por alimentos, nos quais alfaces ou tomates foram confirmados como a fonte de infecção, sendo associados a 859 casos da doença relatados. Em 2011, o Comitê Consultivo para a Segurança Microbiológica de Alimentos (ACMSF) informou que no Reino Unido houve 531 casos de morbidade devido o consumo de frutas e vegetais, incluindo um óbito²⁰.

A presença de coliformes termotolerantes pode ser explicada pela falha na higienização das mãos dos manipuladores, resultando em uma contaminação cruzada. Da mesma forma Santana et al⁷ encontraram coliformes termotolerantes nas saladas de alface com cenoura e tomate da merenda escolar de escolas públicas de Salvador - Brasil. Sospedra et al²¹ também coletaram várias amostras de alimentos, onde seus resultados mostraram que as amostras de alface e tomate foram os vegetais que mais apresentaram contaminação por enterobactérias, estando estes micro-organismos em menor quantidade no arroz (13 %). De acordo com os autores, as falhas de higiene na manipulação de alimentos têm contribuído para a contaminação dos alimentos, o que poderá causar surtos de toxinfecção alimentar, sendo estes ainda mais graves se causados pela *E. coli* que pode estar presente. Neste estudo, três (20 %) amostras

foram confirmadas para presença de *E. coli* como mostra a Tabela 1, não atendendo aos padrões estabelecidos, que estipulam ausência deste micro-organismo, considerado como um grande indicador de contaminação fecal. Os sintomas da doença incluem cólicas abdominais e diarreia, que podem ser de sangue. Febre e vômitos também podem ocorrer. A maioria dos pacientes se recupera dentro de dez dias, embora em alguns casos a doença pode tornar-se fatal. Os riscos desta doença são maiores em idosos e em crianças menores de cinco anos de idade². Da mesma forma, Sospedra et al²¹ também encontraram *E. coli* em 6,6 % amostras de alface. Em 2006, nos Estados Unidos, houve um surto de *E. coli* O157:H7 devido ao espinafre contaminado, envolvendo 276 casos e três mortes foram relatadas. Em maio de 2011 na Alemanha, foi relatado um surto de *E. coli* produtor de toxina Shiga (STEC), o sorotipo O104:H4. No final do surto, 3.785 casos da doença e 45 mortes foram relatados na Alemanha. Outras doenças e mortes referidas a este surto foram relatadas fora da Alemanha, onde mais tarde foi descoberto que os veículos do surto foram brotos de feijão²⁰. De acordo com a legislação, esses alimentos contaminados com *E. coli* são impróprios para o consumo. No entanto estes estão sendo ingeridos por crianças diariamente, podendo causar graves doenças. Esses resultados sugerem um maior cuidado na aquisição da matéria-prima utilizada e principalmente em sua manipulação.

Os resultados apresentados na Tabela 2 podem ter sido ocasionados devido a uma contaminação cruzada, resultante da má higiene e manipulação do manipulador, pois o contato direto das mãos ou recipientes contaminados pode ser suficiente para transferir para o alimento uma quantidade de bactérias suficiente até mesmo para causar doença. O principal reservatório de *Staphylococcus aureus* em seres humanos são as narinas, embora também possa ser encontrada nas mãos, no entanto esta é a causa da maioria dos surtos de intoxicação alimentar, tendo como principais agravantes a produção de toxinas e resistência antimicrobiana²². Já para *Staphylococcus coagulase negativa*, a ANVISA não possui padrões

de contagem, porém temos que evitar sua presença, pois estudos realizados por Freitas et al²³ detectaram a presença de genes toxigênicos de *Staphylococcus* spp. isolados de queijo de coalho, o que nos mostra que a ocorrência de vários genes toxigênicos em amostras de *Staphylococcus* coagulase negativa é um fato importante e preocupante. Ryu et al²⁴, ao analisarem amostras de alimentos servidos em escolas não encontraram este micro-organismo em nenhuma das amostras investigadas. Por outro lado, Kotzekidou²⁵ encontrou *Staphylococcus aureus* em 12,5 % das sobremesas com creme de leite e em 11 % dos sanduíches de cantinas universitárias, resultado semelhante a este estudo. Assim como foi encontrado *Staphylococcus aureus* nas amostras de arroz nesta pesquisa, Santana et al⁷, investigando refeições servidas em escolas, mostraram que o arroz e as almôndegas também estavam contaminados por *Staphylococcus aureus*, apresentando contagens maiores do que os padrões estabelecidos pela ANVISA¹⁸. O *S. aureus* é a terceira causa mais importante de DVA no mundo, tendo como seus principais agravantes a produção de toxinas e resistência antimicrobiana²².

Quanto a pesquisa de *Salmonella* spp., os alimentos estavam dentro dos padrões higiênico-sanitários adequados, devido à ausência deste micro-organismo em todas as amostras. Estes resultados foram semelhantes a estudos realizados por Oliveira et al²⁶ em alimentos servidos em escolas públicas de Porto Alegre. No entanto, Duarte et al²⁷ encontraram amostras positivas para *Salmonella* spp. em 9,6 % de carcaças de frango, onde a *Salmonella* Enteritidis foi o sorotipo mais frequente. Faustino et al²⁸, realizaram pesquisas em alimentos suspeitos de DVA, onde 30,7% das amostras foram condenadas devido a presença de *Salmonella* spp. em mousse de clara de ovos e bolo de chocolate. Em avaliações realizadas no restaurante e na cantina de uma universidade, das 343 amostras analisadas, Kotzekidou²⁹ encontrou apenas uma (0,3 %) positiva para *Salmonella* spp. em torta congelada. A ausência de *Salmonella* spp. é importante, pois este micro-organismo é uma das principais causas de hospitalização e morte, bem como gastrinterite, principalmente por

se tornarem cada vez mais resistentes aos antimicrobianos clinicamente importantes³⁰.

Apesar de apenas uma (1,4 %) amostra apresentar contagem de 2×10^2 UFC/g para *Bacillus cereus* e esta não ultrapassar os padrões estabelecidos, sua presença deve ser evitada, pois estudos realizados por Chaves et al³¹, sobre diversidade genética, em relação ao perfil toxigênico de *Bacillus cereus* isolados de alimentos, sugerem que a maioria das estirpes presentes em vários tipos de alimentos no Brasil representa um risco potencial de provocar intoxicação alimentar, devido à elevada prevalência dos genes de toxinas encontrados nestas estirpes. Aragon-Alegro et al³², também confirmaram que todas as cepas de *Bacillus cereus* investigadas em alimentos no Brasil, apresentaram capacidade toxigênica podendo representar um risco para os consumidores se as boas práticas não forem seguidas. Em pesquisas realizadas por Kotzekidou²⁵, foi encontrada a bactéria patogênica *B. cereus* em 31,8 % dos bolos congelados vendidos em cantinas universitárias. Ryu et al²⁴ também encontraram *Bacillus cereus* em uma amostra de alimento servida em uma escola da Coreia do Sul. *Bacillus cereus* foi o agente mais identificado, 41,2 % dos 80 surtos de DVA ocorridos no Distrito Federal³³.

Para análise de clostrídios sulfito redutores, foram pesquisadas amostras a base de carne, que apresentaram contagens < 10 UFC/g do micro-organismo, sendo os mesmos resultados encontrados por Vieira et al³⁴, que avaliaram a qualidade microbiológica de preparações a base de carne servidas em nove escolas de Poços de Caldas, MG. Já um surto investigado por Dailey et al³⁵ ocorrido na Carolina do Norte, foi confirmado por eio de amostras de fezes dos participantes de uma conferência, que *Clostridium perfringens* foi a causa do surto, onde os participantes referiram que o frango servido estava mal cozido. Daelman et al³⁶ realizaram análises nos alimentos de uma empresa para gestão da segurança alimentar da mesma e detectaram a presença de clostrídios sulfito redutores em 1,94 % das 258 amostras analisadas.

Pelos resultados apresentados na Tabela 3,

as formas evolutivas de parasitos nas saladas apresenta uma necessidade de melhoria na higienização das mesmas e também das mãos dos manipuladores que podem ser um veículo de transmissão, para assim evitar a contaminação às crianças. Peres Junior et al³⁷, avaliando amostras de alface de dez restaurantes, também detectaram a presença de enteroparasitos em amostras de dois restaurantes (20 %), sendo encontrados a ameba *Endolimax nana* e o ciliado *Balantidium coli*. Este estudo indica que a via de infecção por saladas desempenha um papel importante na transmissão de parasitas.

Fracassos em tratamentos devido à resistência aos antimicrobianos aumentam o custo do tratamento e causam morbidade por mais tempo aos pacientes, sendo um grande desafio, a busca de estratégias para a cura, que representa um grande problema e ameaça para a saúde pública. Edward e Chikwem³⁸ também detectaram amostras (100 %) de *E. coli* isoladas de saladas resistentes à amoxicilina. Todos os isolados de *E. coli* foram sensíveis a ofloxacina (100 %). A porcentagem de sensibilidade no caso da gentamicina foi de 96,7 %, ác. nalidíxico 90 %, nitrofurantoína 80 %, cotrimoxazol 50 % e tetraciclina 6,7 %. Ao contrário de resultados encontrados por Furlaneto-Maia et al³⁹, onde não houve isolados de *E. coli* resistentes à ampicilina em amostras de sanduíches. Já o oposto deste estudo, em uma pesquisa sobre a caracterização de *S. aureus* em alimentos infantis como cereal de arroz e leite em pó, Wang et al⁴⁰ encontraram 54 cepas resistentes a eritromicina (75,9 %), ciprofloxacina (51,9 %) e trimetoprim/sulfametoxazol (27,8 %), gentamicina (22,2 %), tetraciclina (18,5 %) e cefoxitina (3,7 %). Já iguais a este estudo, todos *S. aureus* isolados por Wang et al⁴⁰ foram sensíveis à oxacilina e cloranfenicol. Guimarães et al⁵ ao investigarem o perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos de cepas de *Staphylococcus coagulase* positiva em amostras de queijo de coalho, mostraram que nitrofurantoína, tetraciclina, cloranfenicol e sulfametoxazol-trimetoprim foram eficazes, iguais aos resultados obtidos neste estudo; no entanto, verificou-se resistência a gentamicina, oxacilina (13,3 %) e a

eritromicina (26,7 %).

Nesta pesquisa, as cepas analisadas apresentam-se sensíveis a maioria dos antimicrobianos testados. No entanto, o grande desenvolvimento de resistência relatado em vários estudos, estabelece uma grande preocupação em relação à saúde pública, reduzindo a quantidade de antimicrobianos eficazes nos tratamentos, destacando a importância do uso adequado dos antimicrobianos, evitando a veiculação de espécimes multirresistentes.

Por fim, os dados aqui apresentados mostram a necessidade de um melhor aperfeiçoamento nas condições de preparo dos alimentos, devido à alta prevalência de coliformes, a detecção das bactérias *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* resistentes à ampicilina e penicilina respectivamente, e de parasitos que indicam condições higiênicas inadequadas. A contaminação detectada pode ocasionar sérias doenças às crianças, além de diminuir os recursos de antimicrobianos que poderão ser utilizados em tratamentos. Recomenda-se a adoção de medidas higiênico-sanitárias e capacitação dos manipuladores de alimentos para garantir alimentos seguros e de qualidade às crianças envolvidas e evitar possíveis surtos.

AGRADECIMENTOS

A CAPES e CNPQ pelo apoio financeiro, a prefeitura, secretaria de educação, cozinha piloto e escolas por permitirem a realização da pesquisa no município.

REFERÊNCIAS

1. Hanson LA, Zahn EA, Wild SR, Döpfer D, Scott J, Stein C. Estimating global mortality from potentially foodborne diseases: an analysis using vital registration data. *Popul Health Metrics*. 2012;10(5):1-7. [DOI: 10.1186/1478-7954-10-5].

2. Campos AKC, Cardonha AMS, Pinheiro LBG, Ferreira NR, Azevedo PRM, Stamford TLM. Assessment of personal hygiene and practices of food handlers in municipal public schools of Natal, Brazil. *Food Control*. 2009;20(9):807-10. [DOI: 10.1016/j.foodcont.2008.10.010].
3. Brasil. Ministério da Saúde - MS. Secretaria de Vigilância em Saúde - SVS. Departamento de Vigilância Epidemiológica - DEVIT. Coordenação Geral de Doenças Transmissíveis - CGDT. Vigilância Epidemiológica das Doenças Transmitidas por Alimentos - VE-DTA. Brasília: MS; 2014.
4. Manguiat LS, Fang TJ. Microbiological quality of chicken and pork-based street-vended foods from Taichung, Taiwan, and Laguna, Philippines. *Food Microbiol*. 2013;36(1):57-62. [DOI: 10.1016/j.fm.2013.04.005].
5. Guimarães AG, Cardoso RCV, Azevêdo PF, Meneses RB. Perfil de susceptibilidade antimicrobiana de bactérias isoladas de queijos coalho. *Rev Inst Adolfo Lutz*. 2012;71(2):259-65.
6. Neves DP, Filippis T. *Parasitologia Básica*. 2ª ed. São Paulo: Editora Atheneu; 2010.
7. Santana NG, Almeida RCC, Ferreira JS, Almeida PF. Microbiological quality and safety of meals served to children and adoption of good manufacturing practices in public school catering in Brazil. *Food Control*. 2009;20(3):255-61. [DOI: 10.1016/j.foodcont.2008.05.004].
8. Kornacki JL, Johnson JL. *Enterobacteriaceae*, coliforms, and *Escherichia coli* as quality and safety indicators. In: Downes FP, Ito K. *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*. 4ª ed. Washington: American Public Health Association; 2001. p. 69-82.
9. Lancette GA, Bennett RW. *Staphylococcus aureus* and staphylococcal enterotoxins. In: Downes FP, Ito, K. *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*. 4ª ed. Washington: American Public Health Association; 2001. p. 387-403.
10. Andrews WH, Hammack TS. *Salmonella*. In: Food and Drug Administration, *Bacteriological Analytical Manual Online*. Chapter 5; 2007. [DOI:10.1001/jama.1989.03430230024007].
11. Bennett RW, Belay N. *Bacillus cereus*. In: Downes FP, Ito K. *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*. 4ª ed. Washington: American Public Health Association; 2001. p. 311-6.
12. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC nº 12 de 02 de janeiro de 2001. Aprova o regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos. *Diário Oficial da União* 2001; 04 jan.
13. Bauer AW, Kirby WM, Sherris JC, Turck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am J Clin Pathol*. 1966;45(4):493-6.
14. Clinical and Laboratory Standards Institute - CLSI. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Second Informational Supplement*. Wayne, PA: CLSI; 2012.
15. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Nota Técnica nº 01/2013. Medidas de Prevenção e Controle de Infecções por Enterobactérias multiresistentes. Brasília, DF, 2013.
16. Ritchie LS. An ether sedimentation technique for routine stool examination. *Bull U S Army Med Dep*. 1948;8(4):326.
17. Young KH, Bullock SL, Melvin DM, Sprull CL. Ethyl acetate as a substitute for diethyl ether in the formalin-ether sedimentation technique. *J Clin Microbiol*. 1979;10(6):852-3.
18. Brasil. Resolução de Diretoria Colegiada nº 12 de 02 de janeiro de 2001. Aprova o: Regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos. *Diário Oficial da União*. 10 jan. 2001
19. Sengun IY, Karapinar M. Effectiveness of household natural sanitizers in the elimination of *Salmonella typhimurium* on rocket (*Eruca sativa* Miller) and spring onion (*Allium cepa* L.). *Int J Food Microbiol*. 2005;98(3):319-23. [DOI:10.1016/j.ijfoodmicro.2004.07.011].

20. Goodburn C, Wallace CA. The microbiological efficacy of decontamination methodologies for fresh produce: A review. *Food Control*. 2013;32(2):418-27. [DOI:10.1016/j.foodcont.2012.12.012].
21. Sospedra I, Rubert J, Soriano JM, Mañes J. Survey of microbial quality of plant-based foods served in restaurants. *Food Control*. 2013;30(2):418-22. [DOI:10.1016/j.foodcont.2012.08.004].
22. Soares LS, Almeida RCC, Cerqueira ES, Carvalho JS, Nunes IL. Knowledge, attitudes and practices in food safety and the presence of coagulase-positive staphylococci on hands of food handlers in the schools of Camaçari, Brazil. *Food Control*. 2012;27(1):206-13. [DOI:10.1016/j.foodcont.2012.03.016].
23. Freitas MFL, Luz IS, Júnior JWP, Duarte DAM, Vasconcelos AMM, Ribeiro AR, *et al.* Detecção de genes toxigênicos em amostras de *Staphylococcus* spp. isoladas de queijos de coalho. *Rev Cienc Tecnol Aliment*. 2009;29(2):375-9.
24. Ryu JH, Ko J, Park H, Yang S, Kim H. Microbial Examination of Nonheated Foods Served in Feeding Programs of Elementary Schools, Iksan City, Jeonbuk Province, Korea. *J Food Prot*. 2011;74(9):1564-8. [DOI: 10.4315/0362-028X.JFP-11-009].
25. Kotzekidou P. Microbiological examination of ready-to-eat foods and ready-to-bake frozen pastries from university canteens. *Food Microbiol*. 2013;34(2):337-43. [DOI:10.1016/j.fm.2013.01.005].
26. Oliveira ABA, Capalunga R, Silveira JT, Tondo EC, Cardoso MRI. Avaliação da presença de microrganismos indicadores higiênico-sanitários em alimentos servidos em escolas públicas de Porto Alegre – Brasil. *Rev Saude Coletiva*. 2013;18(4):955-62.
27. Duarte DAM, Ribeiro AR, Vasconcelos AMM, Santos SB, Silva JVD, Andrade PLA, *et al.* Occurrence of *Salmonella* spp. in broiler chicken carcasses and their susceptibility to antimicrobial agents. *Braz J Microbiol*. 2009;40(3):569-73. [DOI: 10.1590/S1517-83822009000300020].
28. Faustino JS, Passos EC, Mello ARP, Araújo ALM, Souza CV, Jorge LIF, *et al.* Análises microbiológicas de alimentos processados na Baixada Santista, envolvidos em doenças transmitidas por alimentos, no período de 2000 – 2006. *Rev Inst Adolfo Lutz*. 2007;66(1):26-30.
29. Kotzekidou, P. Survey of *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp. and *Escherichia coli* O157:H7 in raw ingredients and ready-to-eat products by commercial real-time PCR kits. *Food Microbiol*. 2013;35(2):86-91.
30. Zaidi MB, Campos FD, García TE, Gutierrez F, León M, Chim R, *et al.* Burden and Transmission of Zoonotic Foodborne Disease in a Rural Community in Mexico. *Clin Infect Dis*. 2012;55(1):51-60. [DOI: 10.1093/cid/cis300].
31. Chaves JQ, Pires ES, Vivoni AM. Genetic diversity, antimicrobial resistance and toxigenic profiles of *Bacillus cereus* isolated from food in Brazil over three decades. *Int J Food Microbiol*. 2011;147(1):12-6. [DOI:10.1016/j.ijfoodmicro.2011.02.029].
32. Aragon-Alegro LC, Palcich G, Lopes GV, Ribeiro VB, Landgraf M, Destro MT. Enterotoxigenic and Genetic Profiles of *Bacillus cereus* Strains of Food Origin in Brazil. *J Food Prot*. 2008;71(10):2115-8.
33. Nunes MM, Mota ALAA, Caldas ED. Investigation of food and water microbiological conditions and foodborne disease outbreaks in the Federal District, Brazil. *Food Control*. 2013;34(1):235-40. [DOI:10.1016/j.foodcont.2013.04.034].
34. Vieira CRN, Silva RR, Martino HSD, Chavasco JK. Qualidade microbiológica da merenda escolar servida nas escolas estaduais de Poços de Caldas, MG. *Hig Aliment*. 2005;19(128):90-4.
35. Dailey NJM, Lee N, Fleischauer AT, Moore ZS, Alfano-Sobsey E, Breedlove F, *et al.* *Clostridium perfringens* infections initially attributed to Norovirus, North Carolina, 2010. *Clin Infect Dis*. 2012;55(4):568-70. [DOI: 10.1093/cid/cis441].

36. Daelman J, Jacxsens L, Devlieghere F, Uyttendaele M. Microbial safety and quality of various types of cooked chilled foods. *Food Control*. 2013;30(2):510-7. [DOI:10.1016/j.foodcont.2012.07.049].
37. Peres Junior J, Gontijo EEL, Silva MG. Perfil parasitológico e microbiológico de alfaces comercializadas em restaurantes self-service de Gurupi – TO. *Rev Cient ITPAC*.2012;5(1):1-8.
38. Edward KC, Chikwem C. The antibiotic sensitivity pattern of *Escherichia coli* isolated from street vendored vegetable salad in Umuahia, Nigeria. *J Pure Appl Microbiol*. 2012;6(2):659-64.
39. Furlaneto-Maia L, Oliveira MT, Oliveira AF. Condições higiênico-sanitárias, qualidade microbiológica e teste de susceptibilidade antimicrobiana de cepas isoladas de sanduíches comercializados por ambulantes. *Rev Inst Adolfo Lutz*. 2010;69(4):489-96.
40. Wang X, Meng J, Zhang J, Zhou T, Zhang Y, Yang B, et al. Characterization of *Staphylococcus aureus* isolated from powdered infant formula milk and infant rice cereal in China. *Int J Food Microbiol*. 2012;153(1):142-7. [DOI:10.1016/j.ijfoodmicro.2011.10.030].