

**LIGA DE ENSINO DO RIO GRANDE DO NORTE
CENTRO UNIVERSITÁRIO DO RIO GRANDE DO NORTE
CURSO DE NUTRIÇÃO**

LILLYANE AMÁLIA FERREIRA DE MENESES CRUZ

**ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE SANDUÍCHES COMERCIALIZADOS EM
EMPRESAS DE *FAST FOOD* DE NATAL-RN**

**NATAL/RN
2012**

LILLYANE AMÁLIA FERREIRA DE MENESES CRUZ

**ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE SANDUÍCHES COMERCIALIZADOS EM
EMPRESAS DE *FAST FOOD* DE NATAL-RN**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao curso de Nutrição do
Centro Universitário do Rio Grande do
Norte, como requisito obrigatório para
obtenção do título de bacharel em
Nutrição.

Orientadora: Prof^a. Ms. Monique Silveira
Rosa.

**NATAL/RN
2012**

Catálogo na Publicação – Biblioteca do UNI-RN
Setor de Processos Técnicos

Cruz, Lillyane Amália Ferreira de Meneses.

Análise microbiológica de sanduíches comercializados em empresas de *fast food* de Natal-RN / Lillyane Amália Ferreira de Meneses Cruz. – Natal, 2012.
31f.

Orientador: Prof^a. Monique Silveira Rosa.

Monografia (Graduação em Nutrição) – Centro Universitário do Rio Grande do Norte.

1. Nutrição – Monografia. 2. Qualidade Higiênico-Sanitária – Monografia.
3. Fast food – Monografia. I. Rosa, Monique Silveira. II. Título.

RN/UNI-RN/BC

CDU 612.39

LILLYANE AMÁLIA FERREIRA DE MENESES CRUZ

**ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE SANDUÍCHES COMERCIALIZADOS EM
EMPRESAS DE *FAST FOOD* DE NATAL-RN**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao curso de Nutrição do
Centro Universitário do Rio Grande do
Norte, como requisito obrigatório para
obtenção do título de bacharel em
Nutrição.

Aprovado em: 04/12/2012

BANCA EXAMINADORA

Profª Monique Silveira Rosa

Orientadora

Profª Juliana Padilha Neves Ramos

Profª Valtêmia Porpino Gomes Costa

Dedico este trabalho a minha mãe, Leneide Meneses, que nunca mediu esforços para que esse sonho pudesse se tornar real, e principalmente por me apoiar em todos os momentos. Mainha essa conquista também é sua!

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus pela minha vida e por sempre iluminar meus caminhos.

Á minha mãe Leneide, heroína que me deu apoio, incentivo nas horas difíceis, de desânimo e cansaço, e principalmente por me ensinar a viver.

Ao meu pai Wilson e ao meu avô João, que infelizmente não estão presentes nesse momento tão feliz, mas que não poderia deixar de agradecer, pois hoje sou o que sou graças aos seus ensinamentos e valores passados.

Ao meu irmão Netinho, pela constante torcida e pelo companheirismo diário, você é muito especial na minha vida.

Á vovó Esmeralda, pelo cuidado, amor e carinho que me dedica até hoje.

Á tia Núbia, pelo acolhimento e dedicação, sem isto não conseguiria.

Á Vivinha que me ensinou a estudar, e principalmente, me mostrou os caminhos certos á seguir.

Á minha grande família, pelo amor e apoio de sempre.

Ao meu namorado Graciliano, pelo apoio, carinho, incentivo e principalmente pela compreensão nos momentos de ausência.

Á todos os amigos que fazem parte da minha história. Principalmente a Lílian e Manuella (Manú), companheiras de graduação e irmãs na amizade que vão continuar presentes em minha vida para sempre.

Á todos os colegas que fizeram parte da minha vida durante esses quatro anos, proporcionando e ao mesmo tempo dividindo momentos de alegrias, tristezas, experiências, conquistas... E não poderia deixar de agradecer em especial a Janaína, Késsia e Laryssa, pela grandiosa ajuda nas análises.

Á minha orientadora Monique Rosa, que com sua paciência me incentivou e me apoiou, sempre esclarecendo minhas dúvidas da melhor forma possível, e principalmente por acreditar no meu potencial.

Á todos os professores pelos conhecimentos compartilhados de forma tão sábia, meus eternos agradecimentos.

“Enfim, a todos que contribuíram para o sucesso deste trabalho: MUITO
OBRIGADA!”

RESUMO

Além da praticidade, o *fast food* oferece opções variadas e de baixo custo, portando é cada vez mais frequentado por grande parte da população. Considerando a necessidade de aplicação das boas práticas nos serviços de alimentação, este trabalho tem a finalidade de avaliar a qualidade higiênico-sanitária e os riscos associados à manipulação de sanduíches produzidos e comercializados em empresas de *fast food* da cidade de Natal-RN, pois esse produto é consumido por um significativo público do mundo inteiro, o qual necessita do conhecimento sobre reais condições de comercialização, porque diz respeito à saúde, visto que as enfermidades causadas por alimentos contaminados constituem um dos problemas sanitários mais difundidos no mundo hoje. A presente pesquisa foi realizada no laboratório de microbiologia do UNI-RN. Onde foram analisadas 20 (vinte) amostras de sanduíches prontos para o consumo. Tais amostras foram adquiridas na qualidade de consumidor, onde foram armazenadas em recipientes isotérmicos e levados ao laboratório para análise imediata. Para tanto analisou-se a presença de coliformes à 45°C, *Salmonella* sp e *Staphylococcus aureus*. Em todas as amostras, a presença de Coliformes foi detectada, mais apenas 50% apresentaram coliformes fecais acima do padrão recomendado pela legislação vigente. As amostras foram analisadas a partir do Número Mais Provável (NMP), sendo o padrão exigido pela ANVISA de $\geq 100/g$ de NMP para sanduíches prontos para consumo. À presença de *Salmonella* coagulase positiva, foi detectada em 45% das amostras, estando esses impróprios para o consumo. Em relação às análises de *Staphylococcus aureus*, foi detectada presença desse microrganismo em 3 amostras, todas dentro do padrão permitido pela ANVISA. A identificação de bactérias em algumas amostras, talvez possa ser justificada pelo tempo de cocção insuficiente e técnicas de manipulação inadequadas. Por tanto, é importante que haja treinamentos com os manipuladores dos alimentos, a fim de implantar os métodos de boas práticas, através do Sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) e assim minimizar os riscos de Doenças Transmitidas por Alimentos, visto que cada vez mais a população se alimenta fora de casa.

(PALAVRAS-CHAVE) *Fast food*. Coliformes. *Salmonella*. *Staphylococcus*.

ABSTRACT

Besides the convenience, fast food offers varied options and low cost, hence is increasingly frequented by most of the population. Considering the need to implement good practices in food services, this work aims to evaluate the sanitary quality and risks associated with the handling of sandwiches produced and marketed in fast food companies of Natal-RN, for this product is consumed by a significant worldwide public, which requires knowledge about the actual marketing conditions as it relates to health, since the diseases caused by contaminated food is one of the most widespread health problems in the world today. This research was performed in the microbiology laboratory of the UNI-RN. Where were analyzed twenty (20) samples of sandwiches ready to eat. These samples were acquired as a consumer. The samples were stored in containers isothermal and taken to the laboratory for immediate analysis. For this we analyzed the presence of coliforms at 45 ° C, *Salmonella* sp. and *Staphylococcus aureus*. In all samples, the presence of coliform was detected, only 50% had more fecal coliform above the standard recommended by the current legislation. The samples were analyzed from the Most Probable Number (MPN), the default being required by ANVISA of ≥ 100 / g of NMP for sandwiches ready for consumption. In the presence of *Salmonella* sp., Was detected in 45% of samples, and those unfit for consumption. With respect to analyzes of *Staphylococcus coagulase* positive, this microorganism was detected in three samples, all within the allowable standard ANVISA. The identification of bacteria in some samples, might be explained by insufficient cooking time and manipulation techniques inadequate. Therefore, it is important that training of food handlers in order to deploy the methods of good practice through the System Hazard Analysis and Critical Control Points (HACCP) and thus minimize the risk of Foodborne Diseases, whereas increasing the population is fed out.

(Keywords) *Fast food. Coliformes. Salmonella. Staphylococcus.*

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	9
OBJETIVOS.....	11
2.1 Objetivo Geral	11
2.2 Objetivos Específicos	11
REFERENCIAL TEÓRICO.....	12
3.1 Segurança Alimentar	12
3.2 <i>Fast Food</i>	13
3.3 Possíveis Microrganismos Presentes.....	14
3.3.1 Coliformes à 45°C	15
3.3.2 <i>Salmonella sp.</i>	15
3.3.3 <i>Staphylococcus aureus</i>	16
METODOLOGIA	17
4.1 Tipo de Pesquisa.....	17
4.2 Material.....	17
4.2.1 Amostragem	17
4.3 MÉTODOS	18
4.3.1 Preparação das amostras	18
4.3.1.1 Determinação de Coliformes à 45°C (ICMSF, 1978)	19
4.3.2 Contagem de <i>Staphylococcus coagulase positiva</i> (ICMSF, 1978)	20
4.3.2.1 Semeadura inicial	20
4.3.2.2 Contagem e isolamento das cepas isoladas (ICMSF, 1978)	20
4.3.2.3 Identificação das cepas isoladas (CMSF, 1978)	20
4.3.3 Pesquisa de <i>Salmonella sp</i> (ICMSF, 1978)	21
RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
CONCLUSÃO E CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	28
REFERÊNCIAS.....	29

1. INTRODUÇÃO

O desenvolvimento econômico, o ambiente empresarial e as necessidades de se enquadrar no mercado atual trouxeram mudanças no perfil alimentar da comunidade. Essas mudanças nos hábitos alimentares são originadas, principalmente, pela forte presença das mulheres e jovens no mercado de trabalho, bem como o crescimento das cidades e o acúmulo de tarefas diárias. Sendo assim, os profissionais sentem a necessidade de agilizarem seu tempo de pausa para realizarem suas refeições, por isso os mesmos buscam por alimentações rápidas, ou seja, *fast food*. (POERNER [s.d.]; VIEIRA, 2007).

A preferência atual dos consumidores por refeições mais convenientes influenciou o mercado da alimentação coletiva. Ele cresce no mundo todo e, no Brasil, atende a mais de dois milhões de trabalhadores. (ZANDONADI, et al. 2007).

Esta linha de crescimento é diagnosticada pela Associação Brasileira de Refeições Coletivas (ABERC), a qual registrou que o mercado de refeições coletivas forneceu 10,5 milhões de refeições por dia em 2011, representando um valor de 13,4 bilhões de reais por ano.

As redes de *fast food* estão exercendo alto índice de influência sobre a população, e por isso é necessário que alguns pontos sejam esclarecidos, a fim de que o direito à alimentação segura e de qualidade sejam assegurados à população, visto que a alimentação por ser uma necessidade básica para toda a população deve ser saudável, completa, variada, agradável ao paladar e segura para, assim, desempenhar suas funções.

A contaminação dos alimentos se inicia na produção da matéria-prima e se estende às etapas de transporte, recebimento e armazenamento. Durante a manipulação pode haver contaminação por condições precárias de higiene de manipuladores, equipamentos, utensílios, ambientes e condições inadequadas de armazenamento dos produtos prontos para consumo (ZANDONADI, et al. 2007).

A questão da qualidade dos alimentos e da dieta alimentar é de extrema importância, na medida em que o componente da segurança nutricional incorpora-se ao conceito de segurança alimentar. Isto implica que todos os cidadãos consumam alimentos seguros que satisfaçam suas necessidades nutricionais, seus hábitos e práticas alimentares culturalmente construídas, promovendo sua saúde. Hoje, no Brasil, os problemas de saúde decorrentes da ingestão de uma dieta

qualitativamente inadequada são tão graves quanto os problemas decorrentes da falta absoluta de acesso aos alimentos.

Considerando a necessidade de aplicação das boas práticas nos serviços de alimentação, este trabalho tem a finalidade de avaliar a qualidade higiênico-sanitária e os riscos associados à manipulação de sanduíches produzidos e comercializados em empresas de *fast food* da cidade de Natal-RN, pois esse produto é consumido por um significativo público, onde pode-se dizer, do mundo inteiro, o qual necessita do conhecimento sobre reais condições de comercialização, pois diz respeito à saúde, visto que as enfermidades causadas por alimentos contaminados constituem um dos problemas sanitários mais difundidos no mundo hoje. E dessa forma obter dados que possam ser comparados com outros resultados, com as normas de qualidade e com os limites mínimos aceitáveis estabelecidos pela legislação vigente, além da contribuição para futuras pesquisas relacionadas.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Analisar a qualidade microbiológica de sanduíches comercializados em empresas de *fast food* da cidade de Natal-RN.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar o número mais provável de coliformes fecais à 45°C;
- Determinar a presença de *Staphylococcus aureus*;
- Determinar a presença de *Salmonella sp.*

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 SEGURANÇA ALIMENTAR

Em todo o mundo vêm aumentando o interesse do público no que diz respeito à segurança alimentar, pois o crescimento e a gravidade de doenças transmitidas por alimentos estão cada vez maiores. (FORSYTHE, 2002)

Silva Jr. (2005) afirma que segurança alimentar pode ser definido como o acesso universal aos alimentos, aos aspectos nutricionais e, conseqüentemente, as questões relativas à composição, à qualidade e ao aproveitamento biológico.

De acordo com o Ministério da Saúde (2011), segurança alimentar que, anteriormente, conceituava-se restritamente ao abastecimento, na quantidade apropriada, foi ampliado, abrangendo também o acesso universal aos alimentos, o aspecto nutricional e, conseqüentemente, as questões relativas à composição, à qualidade e ao aproveitamento biológico. O Brasil adotou esse novo conceito a partir de 1986, com a I Conferência Nacional de Alimentação e Nutrição, o qual se consolidou com a realização da I Conferência Nacional de Segurança Alimentar, em 1994.

A Secretaria Nacional de Segurança Alimentar e Nutricional (SESAN) tem como principal objetivo garantir aos cidadãos brasileiros o acesso à comida e água em quantidade, com qualidade e regularidade suficientes, de maneira sustentável e respeitando as diversidades culturais.

Vale ressaltar, que é de responsabilidade de todos, desde os operários do transporte até os mais altos executivos, a produção de alimentos seguros. (FORSYTHE, 2002).

Um ponto crucial para a produção de alimentos seguros é produzi-los de forma microbiologicamente corretos. Ou melhor, é necessário certificar-se de que nenhum microrganismo do alimento irá se multiplicar. Para tanto, é importante que estejam inativos e que não haja toxinas, essencialmente em temperaturas e cozimentos ideais para cada tipo de alimento. (FORSYTHE, 2002).

As ações voltadas a garantir essa segurança dão, assim, decorrência ao direito humano à alimentação e nutrição, excedendo, portanto, o setor saúde e

alcançando um caráter intersetorial, sobretudo no que se refere à produção e ao consumo, o qual engloba, necessariamente, a capacidade aquisitiva da população e a escolha dos alimentos que devem ser consumidos, nesta incluída os fatores culturais que intervêm em tal seleção. (BRASIL, 2011).

3.2 FAST FOOD

O termo *Fast Food* em inglês significa comida rápida. Este tipo de alimentação tem como característica principal a produção de lanches de forma rápida. Com o crescimento das cidades e do acúmulo de tarefas diárias, a população passou a buscar esse tipo de serviço, pois, normalmente procura por uma alimentação próxima ao local de trabalho com a finalidade de evitar a perda de tempo, assim, proliferam-se em variedade e em número as redes de *fast foods* no mundo.

Stella (2003) afirma que *fast food* é um segmento no setor de alimentação que se constitui pela produção mecanizada de um determinado número de itens padronizados, os quais são sempre idênticos em peso, aparência e sabor. Em geral, essas redes oferecem variedade limitada de produtos no cardápio, garantia da procedência de sua matéria-prima e preços compatíveis com o tipo de alimentos comercializados.

Nos países mais desenvolvidos não é necessário ir longe para encontrar um restaurante de *fast food*. Segundo a Associação Brasileira de Bares e Restaurantes (Abrasel, 2011), o mercado de *Food Service*, em 2010, alcançou o melhor desempenho dos últimos dez anos no Brasil com crescimento de 16,5%, atingindo R\$ 185 bilhões de faturamento, conforme estimativa da Associação Brasileira das Indústrias da Alimentação (ABIA) apresentada durante o 4º Congresso Internacional de *Fast Food* em São Paulo.

O maior símbolo da cultura gastronômica dos Estados Unidos, de acordo com sua história e identidade atribuída, é o *fast food* que não pode ser considerado simples indício de regressão gastronômica, pois apresenta um aspecto funcional inegável: satisfaz a necessidade atual de rapidez e responde as demandas decorrentes da cultura urbana e de seu ritmo. (FREDERICO apud FRANCO, 2008).

3.3 POSSÍVEIS MICRORGANISMOS PRESENTES

Todos os alimentos, sejam eles de origem animal ou vegetal, podem apresentar, desde a origem, contaminação pelos mais diversos tipos de microrganismos, os quais fazem parte de suas floras habituais. Para manter o processo de multiplicação, esses microrganismos necessitam de condições favoráveis, representadas por vários fatores. (GERMANO e GERMANO 2008).

Como o consumidor espantosamente ainda não está ciente dos grandes problemas envolvidos com os alimentos, quantidades significativas são ingeridas, proporcionando que doses infectivas de microrganismos sejam excedidas. (FORSYTHE, 2002).

Os alimentos podem contaminar-se mediante contato com utensílios, superfícies e equipamentos limpos indevidamente. É importante dizer que os microrganismos patógenos podem manter-se em partículas de alimentos ou em água sobre os utensílios lavados inadequadamente. A palavra sujidade se refere a presença de milhões de bactérias que podem contaminar os alimentos e representar riscos à saúde dos consumidores, como também quando se refere a alimentos cozidos que não se destinam ao consumo imediato. (SILVA JR., apud HOOBS; GILBERT, 1986).

Os microrganismos causadores de doenças alimentares podem ser transmitidos a partir de fezes contaminadas pelos dedos de manipuladores de alimentos com hábitos higiênicos inadequados, por insetos e também pela água. (JAY, 2005).

Acredita-se que a incidência de doenças microbianas de origem alimentar no Brasil seja alta. Mesmo em países desenvolvidos, nos quais o abastecimento de gêneros alimentícios é considerado seguro do ponto de vista de higiene e saúde pública, a ocorrência destas doenças vem tendo um significativo aumento, apesar dos avanços tecnológicos nas áreas de produção e controle de alimentos. (FRANCO e LANDGRAF, 2008).

3.3.1 Coliformes à 45°C

O Ministério da Saúde, através da Resolução nº 12, de 2 de janeiro de 2001, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), adotou a denominação coliformes à 45°C, considerando os padrões “coliformes de origem fecal” e “coliformes termotolerantes” como equivalentes a coliformes à 45°C. (SILVA, 2006).

Silva Jr (2005) define os coliformes à 45°C como bactérias pertencentes aos coliformes, porém utilizam a lactose à 44,5°C no meio de cultura EC com produção de gás. O mais importante microrganismo desse grupo é a *Escherichia coli*, fazendo parte exclusivamente do intestino do homem e de animais de sangue quente.

Para indicação de contaminação durante o processo de produção e/ou até mesmo pós-processamento, a confirmação da presença de coliformes merece destaque. (SILVA et al, 2006).

3.3.2 *Salmonella* sp

O gênero *Salmonella* pertence à família *Enterobacteriaceae*, gram-negativas, anaeróbicas facultativas, não formam esporos e têm forma de bastonetes curtos. (FORSYTHE, 2002).

A *Salmonella* sp é responsável por graves intoxicações alimentares, sendo um dos principais agentes envolvidos em surtos registrados em vários países. Uma ampla variedade de alimentos pode ser contaminados por essa bactéria, pois aqueles que possuem alto teor de umidade, de proteína e de carboidratos são mais susceptíveis. Isso se dá pelo controle inadequado da temperatura, práticas inadequadas de manipulação ou por contaminação de alimentos crus em contato com alimentos processados. (SHINOHARA, 2008).

Por tanto, para que os casos de contaminação por *Salmonella* sp sejam controlados, medidas devem ser adotadas, principalmente a constante e ordenada vigilância na linha de produção e distribuição de alimentos, com isso, garantir a produção de alimentos seguros. (SHINOHARA, 2008).

3.3.3 *Staphylococcus aureus*

O *Staphylococcus aureus* é uma bactéria patogênica, esférica (coco) gram-positiva, que dividem-se em planos diferentes, quando vistos ao microscópio aparecem em pequenas cadeias ou em forma de cacho similares aos de uva. São facultativas anaeróbicas, com maior crescimento sob condições aeróbicas, quando, então, produzem catalase. Causa uma doença transmitida por alimentos (DTA), usualmente de curta duração e sem ameaça de morte ou sequelas, com sintomas auto limitados, mas que causam severo desconforto. (FRANCO; LANDGRAF, 2008; SILVA, et al 2007).

Forsythe (2002) afirma que os *Staphylococcus* existem no ar, na poeira, no esgoto, no leite e nos alimentos ou equipamentos de processamento de alimentos, nas superfícies expostas aos ambientes, nos seres humanos e nos animais, sendo esses os principais reservatórios. Estão presentes também no trato respiratório superior, cabelo, pele, também de indivíduos saudáveis, principalmente naqueles que entram em contato com pessoas doentes e ambientes hospitalares.

A temperatura ideal para o crescimento *S. aureus* é de 35 a 40°C, com limites entre 7 e 45°C. Para que a toxina seja produzida ocorre uma faixa mais limitada de temperatura. (SILVA Jr., 2005).

A pesquisa desta bactéria em alimentos permite avaliar a qualidade higiênico-sanitária dos processos de produção de alimentos, servindo como indicador de contaminação pós-processo (SILVA, et al., 2007).

4. METODOLOGIA

4.1 Tipo de Pesquisa

Pesquisa do tipo descritiva laboratorial realizada no laboratório de microbiologia do UNI-RN.

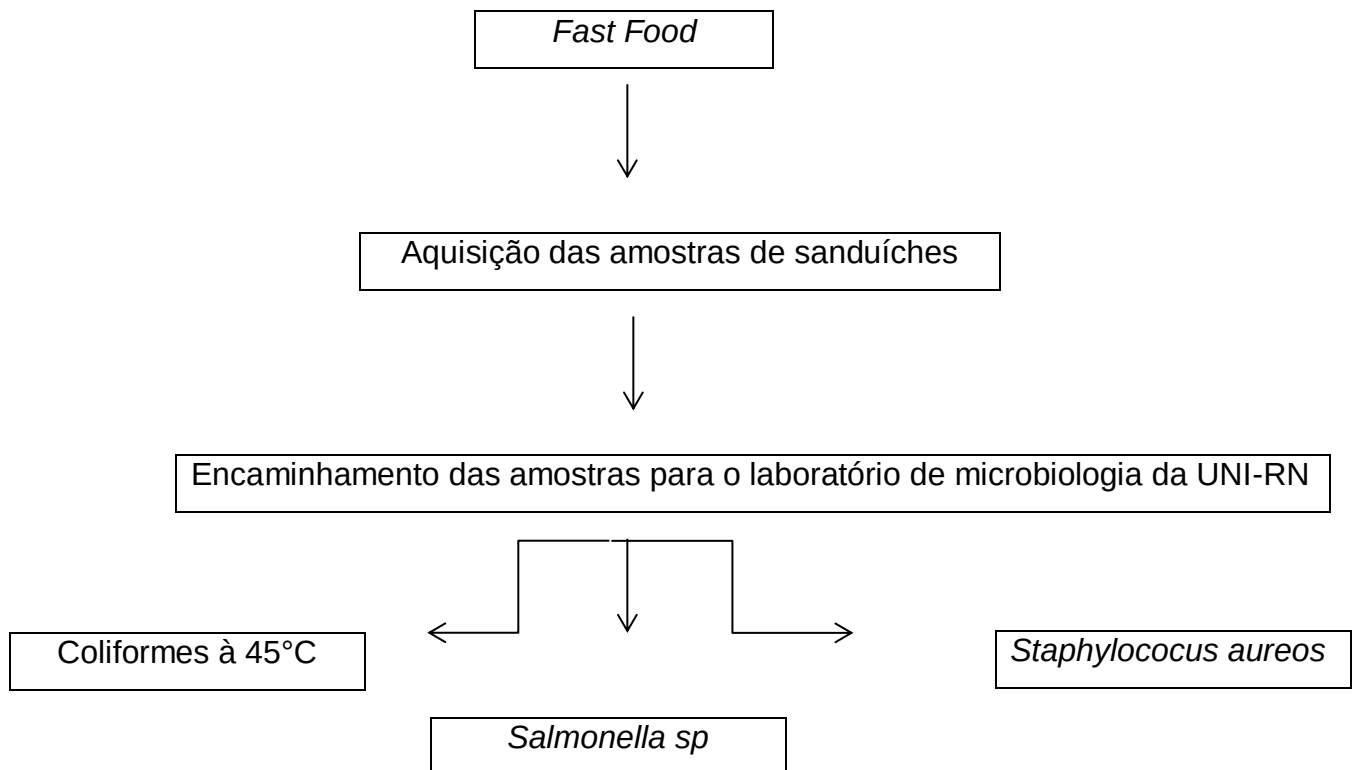
4.2 Material

Os materiais utilizados foram amostras de sanduíches com hambúrgueres de carne comercializados em *fast foods* de Natal – RN, meios de cultura, vidraria e equipamentos necessários para a realização do trabalho disponíveis no laboratório de microbiologia da instituição UNI-RN.

4.2.1 Amostragem

Foram analisadas 20 (vinte) amostras de sanduíches coletados em 5 (cinco) *fast foods* da cidade de Natal - RN, sendo 4 (quatro) amostras de cada estabelecimento. Tais amostras foram adquiridas na qualidade de consumidor, foram armazenadas em recipientes isotérmicos e levados ao laboratório de microbiologia do UNI-RN para análise imediata.

Figura 1: Fluxograma simplificado da coleta das amostras submetidas às análises microbiológicas:



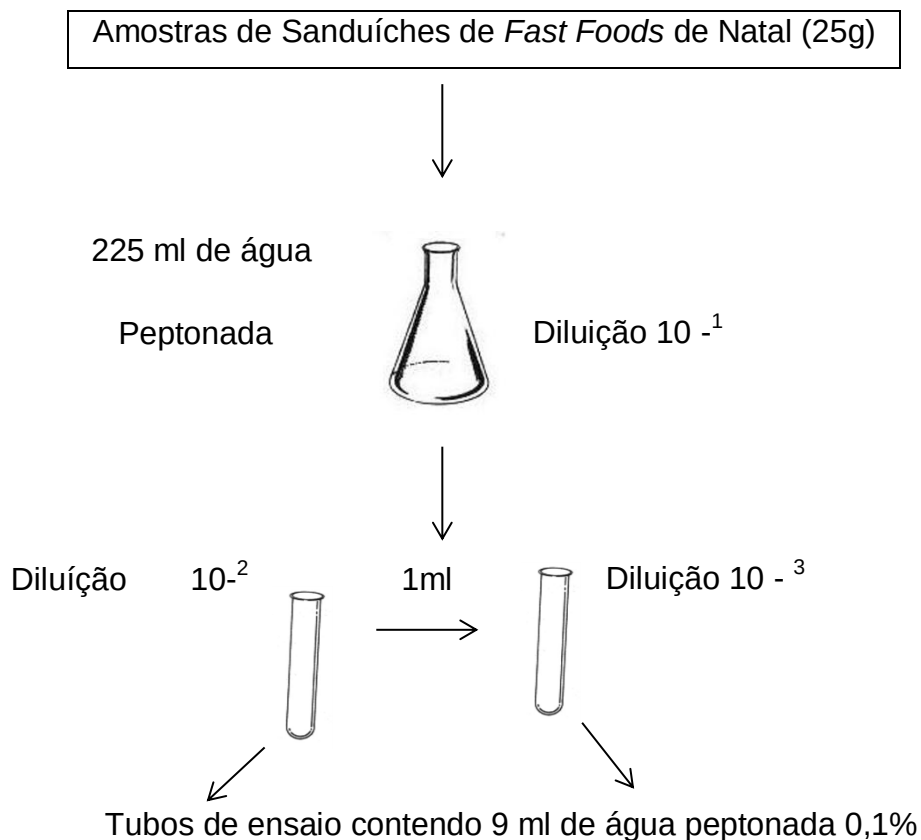
FONTE: Dados da pesquisa (2012)

4.3 MÉTODOS

4.3.1 Preparação das amostras

As amostras foram preparadas de acordo com as normas do International Commission on Microbiological Specification (ICMSF, 1978). De cada amostra, pesou-se aproximadamente 100 gramas, que foi triturada assepticamente. Após homogeneização, foi pesadas duas porções de 25g cada. Os quais foram utilizadas uma para pesquisa de *Salmonella* e a outra para a contagem de coliformes à 45°C e *Staphylococcus* coagulase positiva. Onde foram colocadas em um Erlenmeyer estéril com 225 ml de água peptonada a 0,1% e homogeneizada por 2 minutos, obtendo-se a diluição inicial 10^{-1} . Partindo-se desta diluição, foram feitas mais duas diluições decimais (10^{-2} e 10^{-3}) utilizando o mesmo diluente.

Figura 2: Fluxograma do preparo das amostras dos sanduíches dos *Fast Foods* de Natal-RN:



FONTE: Dados da pesquisa (2012)

4.3.1.1 Determinação de coliformes à 45°C (ICMSF, 1978)

➤ Prova presuntiva

De cada diluição decimal da amostra, foram tomadas três porções de 1,0 ml e transferidas para tubos contendo 10 ml de Caldo Lauril com tubos de Durham invertidos. Após completa homogeneização, os tubos foram colocados na estufa à 35°C por 24 a 48 horas. Passado esse tempo, a leitura foi realizada. Os tubos que apresentavam turvação com produção de gás (positivos) foram submetidos à prova confirmatória.

➤ **Prova confirmatória**

A partir dos tubos positivos da prova presuntiva, foi semeada uma alíquota de cada cultura, com uma alça de platina, para tubos contendo 10 mL de Caldo E.C. com tubos de Durham invertidos e incubados em banho-maria à 45°C por 24 horas. Os tubos com turvação e produção de gás, após a incubação foram tidos como positivos. Para cada diluição foi anotado o número de porções positivas e, através da tabela de Hoskins (APHA, 1975), foi determinado o NMP de coliformes fecais por grama de sanduíche analisado.

4.3.2 Contagem de *Staphylococcus coagulase positiva* (ICMSF, 1978)

4.3.2.1 Semeadura inicial

Inicialmente, foi semeado, em placas de Agar Bair – Parker 1 ml de cada diluição da amostra, na superfície do meio que foram espalhadas com um Drigalsk estéril. Em seguida, as placas foram levadas à estufa e incubadas à 35°C por 24 a 48 horas.

4.3.2.2 Contagem e isolamento de colônias típicas

Após o período de incubação, foram realizadas as contagens das colônias típicas de *Staphylococcus aureus*, caracterizadas pela cor negra brilhante, com zona de precipitação branca roseada por um halo claro transparente. Após a contagem, foram isoladas e semeadas no Caldo Infusão de Cérebro e Coração (BHI) e levadas para a estufa à 35°C por 24 horas.

4.3.2.3 Identificação das cepas isoladas (CMSF, 1978)

➤ **Prova de Coagulase**

Para a realização desta prova o produto liofilizado (plasma de coelho com EDTA) foi reconstituído com 3 ml de soro fisiológico estéril e homogeneizado delicadamente. Em uma lâmina estéril foi adicionado uma gota da cultura obtida em

BHI e uma gota também do plasma de coelho recém-constituído, e misturou-se com uma alça bacteriológica. As lâminas que mostraram coagulação imediata foram tidas como positivas, e as que não ocorreram formação de coágulos após 3 a 4 minutos foram consideradas negativas.

4.3.3 Pesquisa da *Salmonella* sp (ICMSF, 1978)

➤ Pré-enriquecimento

Na etapa do pré-enriquecimento, o meio utilizado possibilita o reparo das injúrias sofridas pelas células, sendo, portanto, de extrema importância para o isolamento.

Foram pesados 25g da amostra e transferidos para Erlenmeyer estéril contendo 225 ml de Caldo Lactosado e incubados por 24 horas à 35°C.

➤ Enriquecimento seletivo

Nesta etapa, 1 ml de Caldo Lactosado de cada amostra era inoculado assepticamente em um tubo contendo 10 ml de Caldo Selenito - Cistina e mais 1 ml em um tubo com 10 ml de Caldo Tetracionato. Logo após, os tubos foram incubados à 43°C por 24 horas.

➤ Isolamento

Com uma alça de níquel-cromo, eram semeados os caldos de enriquecimento seletivo, em placas de Ágar-Verde Brilhante (VB) e Ágar-Bismuto Sulfito (BS), em seguida eram incubadas à 35°C por 24 horas. As colônias suspeitas, no VB que se apresentaram com coloração rosa ou avermelhadas e no BS que se mostraram incolores, com centro negro ou não, eram submetidas aos testes bioquímicos.

➤ **Triagem**

Após o isolamento, foram transferidas três colônias típicas de cada placa de VB e BS para tubos contendo ágar inclinado Tríplice Açúcar - Ferro (TSI) e Lisina - Ferro (LIA). As cepas a serem identificadas eram inoculadas na base por picada profunda e na superfície inclinada do ágar TSI e LIA, e incubadas à 35°C por 24 horas.

A prova era considerada positiva para *Salmonella* quando no TSI nos mostrasse o ápice alcalino (vermelho) e a base ácida (amarela), com ou sem produção de H₂S e no LIA, tanto o ápice como a base alcalina (púrpura).

➤ **Provas de identificação**

As cepas que se revelaram positivas no TSI e LIA eram submetidas a alguns testes bioquímicos recomendados pelo FDA (1984), tais como: a prova de hidrólise da uréia e o teste do citrato.

➤ **Prova de hidrólise da uréia**

De culturas de 24 horas à 35°C em ágar simples inclinado, provenientes do TSI e LIA, as cepas eram semeadas em tubos contendo 3 ml de Caldo Uréia, seguido de incubação à 35°C por 24 horas. A mudança de coloração do meio indica reação positiva.

➤ **Prova da degradação do malonato**

Cada cepa mantida em ágar simples inclinado por 24 horas, foi inoculada em tubo contendo 2 ml de Caldo Malonato - Fenilalanina. Após incubação à 35°C por 24 horas, era feita a interpretação das provas, verificadas pela mudança de cor. A prova positiva para a degradação do malonato era caracterizada pela

alcalinização do meio, evidenciada pelo aparecimento de coloração azul. A maioria das cepas de salmonelas são malonato negativas.

➤ **Teste do citrato**

O teste do citrato foi realizado de acordo com o método descrito anteriormente. Sendo que a maioria das cepas de *Salmonellas* são citrato positivas.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A tabela 1 mostra o Número Mais Provável (NMP) de coliformes à 45°C nos sanduíches analisados, podemos observar que das 20 amostras, 10 encontravam-se acima do padrão com NMP variando de 240 à >2400. A ANVISA estabelece como padrão para o NMP de $\geq 100/g$ para sanduíches prontos para consumo.

Tabela 1: Número Mais Provável de coliformes à 45°C em sanduíches comercializados em restaurantes de *fast food* na cidade do Natal/RN, no período de maio a junho de 2012.

AMOSTRAS (Nº)	ÍNDICE NMP	RESULTADOS
1	>2400	ACIMA DO PERMITIDO
2	93	DENTRO DO PERMITIDO
3	460	ACIMA DO PERMITIDO
4	>2400	ACIMA DO PERMITIDO
5	>2400	ACIMA DO PERMITIDO
6	23	DENTRO DO PERMITIDO
7	93	DENTRO DO PERMITIDO
8	240	ACIMA DO PERMITIDO
9	460	ACIMA DO PERMITIDO
10	<3	DENTRO DO PERMITIDO
11	93	DENTRO DO PERMITIDO
12	93	DENTRO DO PERMITIDO
13	1100	ACIMA DO PERMITIDO
14	>2400	ACIMA DO PERMITIDO
15	43	DENTRO DO PERMITIDO
16	>2400	ACIMA DO PERMITIDO
17	240	ACIMA DO PERMITIDO
18	<3	DENTRO DO PERMITIDO
19	23	DENTRO DO PERMITIDO
20	43	DENTRO DO PERMITIDO

Fonte: Dados da pesquisa (2012)

A existência de poucos artigos na literatura relacionados com o tema do presente trabalho faz com que se execute uma discussão com outros produtos alimentícios com as mesmas características sendo estes comercializados por ambulantes.

Os resultados obtidos neste presente estudo foram superiores aos encontrados por Bezerra (2007), no qual ao analisar sanduíches do tipo baguncinha vendidos nas ruas de Cuiabá, observou que 11,4% dos sanduíches analisados mostraram-se com NMP superiores ao padrão estabelecido pela ANVISA para esse tipo de alimento. Tavares e Serafini (2003) também obtiveram resultados superiores quando analisaram hambúrgueres de carne comercializados em sanduícherias tipo trailers em Goiânia, onde suas amostras mostraram-se com 35% acima do recomendado para coliformes à 45°C.

Em estudo conduzido por Lobo, Bastos e Theshima (2010), onde foi analisado sanduíches comercializados no centro da Feira de Santana-BA, a contagem de coliformes à 35°C e coliformes à 45° C em todas as amostras mostraram-se acima dos padrões estabelecidos pela legislação (10 NMP/g) para pratos prontos para consumo indicando possíveis condições higiênico sanitárias inadequadas de manipulação.

Já em uma pesquisa realizada com cachorros-quentes comercializados por vendedores ambulantes no lago do Toledo-PR, os resultados obtidos foram bem diferentes, os quais não foram identificado a presença de coliformes à 45°C em nenhuma das amostras analisadas. (PIEROZAN; LOPES-SHIKIDA; SHIKIDA, 2006).

Em 45% (gráfico 1) das mostras analisadas foi detectada a presença de *Salmonella sp*, não atendendo a resolução da ANVISA, que indica como padrão microbiológico a ausência dessa bactéria nos alimentos, o que significa dizer que os sanduíches analisados não estavam em condições higiênico-sanitárias favoráveis ao consumo.

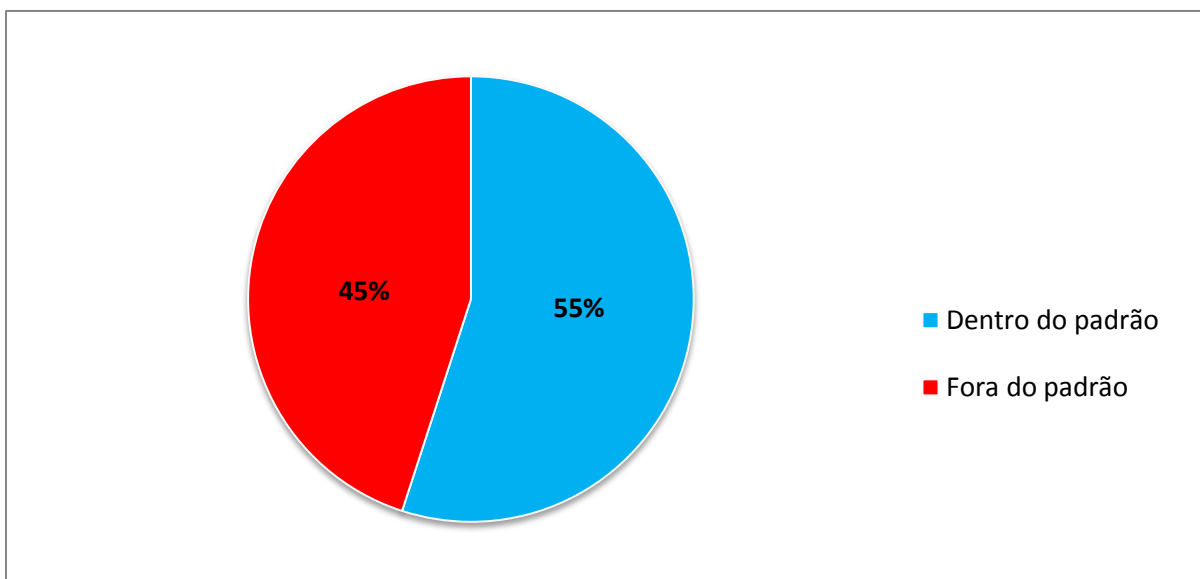


Gráfico 1: Percentual final de contaminação por *Salmonella sp* que se apresentaram dentro ou fora do padrão permitido pela ANVISA.

Fonte: Elaboração própria (2012).

Lobo, Bastos e Theshima (2010) em estudo com os sanduíches comercializados na Feira de Santana-BA, identificou presença de *Salmonella sp* em 100% das amostras analisadas, sendo este um dado preocupante, uma vez que, a simples presença deste microrganismo neste tipo de alimento torna-o impróprio para o consumo humano. Já na pesquisa de Maia, Oliveira e Oliveira (2010), bem como na de Tavares e Serafini (2003), não foi detectado a presença de *Salmonella sp*.

Em relação às análises de *Staphylococcus coagulase positiva*, foi detectada presença desse microrganismo em 3 (três) amostras do mesmo estabelecimento, porém, todas dentro do padrão permitido pela ANVISA.

Já na cidade de Limeira/SP, estudo realizado com 50 cachorros-quentes vendidos por ambulantes que possuíam registro na Vigilância Sanitária, foi detectado presença de *Staphylococcus coagulase positiva* acima do permitido pela legislação vigente em 34% das amostras analisadas. (CURI; GALLO; DIAS, 2008). Diferentemente do encontrado por Tavares e Serafini (2003), Lobo, Bastos e Theshima (2010) e também por Maia, Oliveira e Oliveira (2010), onde não detectaram a presença desta bactéria em suas análises microbiológicas.

A identificação de bactérias em algumas amostras talvez possa ser justificada pelo tempo de cocção insuficiente e técnicas de manipulação inadequadas. Então, deve-se dar maior enfoque no que se refere a isso, a fim de minimizar os riscos identificados. Por tanto, é importante que haja treinamentos com os manipuladores dos alimentos, a fim de implantar os métodos de boas práticas, através do Sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC).

O grande percentual de amostras em condições inadequadas ao consumo reflete um grande problema de saúde pública, visto que cada vez mais a população procura alimentar-se fora de casa e os *fast foods* vêm obtendo destaque devido a sua praticidade, o que implica dizer que as ações voltadas para a segurança alimentar nestes estabelecimentos estão sendo cada vez mais necessárias, para que se possa garantir o direito à alimentação segura.

6. CONCLUSÃO E CONSIDERAÇÕES FINAIS

Através dos resultados obtidos, pode-se concluir que em 50% das amostras analisadas foi detectado a presença de coliformes à 45°C acima do padrão recomendado, na verificação da presença de *salmonella sp*, houve presença em 45% das amostras. Sendo assim, constatou-se que esses estavam impróprios para o consumo. No que se refere à presença de *Staphylococcus coagulase positiva*, houve crescimento, porem dentro dos padrões.

Desta forma, ressalta-se a necessidade da adoção de Boas Práticas de Fabricação pelos estabelecimentos produtores desses alimentos, no intuito de minimizar os riscos de Doenças Transmitidas por Alimentos, esse sendo um dos problemas de saúde pública com grande destaque, visto que cada vez mais a população se alimenta fora de casa.

REFERENCIAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE BARES E RESTAURANTES. **Gastos com refeições fora do lar devem chegar a 30% em 2012**. ABRASEL; 2009. Disponível em: <<http://www.abrasel.com.br>>. Acesso em: 23 set. 2011.

Associação Brasileira de Refeições Coletivas. **Mercado Real**. ABERC; 2011. Disponível em: <http://www.aberc.com.br/mercadoreal.asp?IDMenu=21>. Acesso em: 20 nov 2011.

BEZERRA, A.C.D. **O sanduíche baguncinha nas ruas de Cuiabá – MT: Avaliação de intervenção educativa**. Universidade de São Paulo. Faculdade de Saúde Pública. São Paulo, 2007.

BRASIL. MINISTÉRIO DO DESENVOLVIMENTO SOCIAL E COMBATE À FOME. **Segurança Alimentar e Nutricional – SAN**. Disponível em: <<http://www.mds.gov.br/sobreoministerio/estrutura/secretaria-nacional-de-seguranca-alimentar-e-nutricional>>. Acesso em: 30 set. 2011.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE – SECRETARIA DE POLÍTICAS DE SAÚDE. **Política Nacional de Alimentação e Nutrição**. Disponível em: <<http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/pnan.pdf>>. Acesso em: 30 set. 2011.

CURI, J. D. do P.; GALLO, C. R.; DIAS, C. T. dos S. **Condições microbiológicas de lanches (cachorro-quente) adquiridos de vendedores ambulantes, localizados na parte central da cidade de Limeira/SP**. Piracicaba - SP, 2008.

ESTELLA, Roberta. **Escolha Certa no Restaurante de Fast Food**. São Paulo, jan. 2003. Disponível em: <<http://cyberdiet.terra.com.br/a-escolha-certa-no-restaurant-de-fast-food-2-1-1-312.html>>. Acesso em: 30 de set 2003.

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da Segurança Alimentar**. Porto Alegre: Artmed, 2002.

FRANCO, B. D. G. de M.; LANDGRAF, Marisa. **Microbiologia de Alimentos**. São Pulo: Atheneu, 2008.

FREDERICO, R. L. R.; MÓDOLO, C. M. **Identidade cultural nas imagens da mídia especializada em gastronomia**. Disponível em: <<http://www.faac.unesp.br/publicacoes/anais-comunicacao/textos/23.pdf>>. Acesso em: 30 set. 2011.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. **Higiene e Vigilância Sanitária de Alimentos**. 3 ed. Barueri, SP: Manole, 2008.

GEUS, J. A. M. de; LIMA, I. A. de. **Análise de coliformes totais e fecais: um comparativo entre técnicas oficiais VRBA e Petrifilm EC aplicados em uma indústria de carnes.** II Encontro de Engenharia e Tecnologia dos Campos Gerais. Disponível em: <<http://www.aeapg.org.br/encontro/anais/artigos>>. Acesso em: 30 set. 2011.

JAY, J. M. **Microbiologia de Alimentos.** Porto Alegre: Artmed, 2005.

LOBO, P. T. D.; BASTOS, V. P.; TESHIMA, Elsa. **Avaliação microbiológica de sanduíches comercializados no centro da Feira de Santana/BA.** Universidade Estadual de Feira de Santana. Bahia, 2010.

MAIA, L. F.; OLIVEIRA, M. T. de.; OLIVEIRA, A. F. de. **Condições higiênico-sanitárias, qualidade microbiológica e teste de susceptibilidade antimicrobiana de cepas isoladas de sanduíches comercializados por ambulantes.** Universidade Tecnológica do Paraná. Londrina/PR, 2012.

PIEROZAN, S. LOPES-SHIKIDA, S. A. R. SHIKIDA, P. F. A. **Avaliação da qualidade higiênico-sanitária de cachorros-quentes comercializados por vendedores ambulantes no lago do Toledo-PR.** Umuarama, 2006.

POERNER, Naira et al. **Avaliação das condições higiênico-sanitárias em serviços de alimentação.** Departamento de Ciência de Alimentos, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP Campinas, SP, Brasil. Departamento de Biologia e Química, Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul - UNIJUI, Santa Rosa, RS, Brasil [s.d.]

SHINOHARA, N. K. S. et al. **Salmonella spp, importante agente patogênico veiculado em alimentos.** Associação Brasileira de Pós-Graduação em Saúde Coletiva. Rio de Janeiro, 2008.

SILVA, N. da; et al. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos.** São Paulo: Livraria Varela, 2007.

SILVA, M. P.; CAVALLI, D. R.; OLIVERIRA, T. C. R. M. **Avaliação do padrão coliformes à 45°C e comparação das eficiências das técnicas dos tubos múltiplos e petrifilm e EC na detecção de coliformes totais e escherichia coli em alimentos.** Campinas, abr – jun 2006.

SILVA JUNIOR, E.A. da. **Manual de Controle Higiênico-Sanitário em Serviços de Alimentação.** São Paulo: Livraria Varela, 2005.

TAVARES, T. de M; SERAFINI, A. B. **Avaliação microbiológica de hambúrgueres de carne bovina comercializados em sanduícherias tipo trailers em Goiânia-GO.** Universidade Católica de Goiás. Goiás, 2003.

VIEIRA, A. M. et al. **Fast Food: Modificação dos Hábitos Alimentares.** Associação de Ensino de Santa Catarina. Santa Catarina, 2007.

ZANDONADI, R. P.; et al. **Atitudes de risco do consumidor em restaurantes de auto-serviço.** Revista de Nutrição. Campinas, 2007. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1415-52732007>. Acesso em: 01 out 2011.