



CENTRO UNIVERSITÁRIO LUTERANO DE PALMAS

Recredenciado pela Portaria Ministerial nº 3.607, de 17/10/05, D.O.U. nº 202, de 20/10/2005
ASSOCIAÇÃO EDUCACIONAL LUTERANA DO BRASIL

TATIANE DA COSTA ARAUJO SOUSA

**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE PRESUNTOS FATIADOS
COMERCIALIZADOS EM PALMAS – TO**

Palmas – TO

2015

TATIANE DA COSTA ARAUJO SOUSA

**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE PRESUNTOS FATIADOS
COMERCIALIZADOS EM PALMAS – TO**

Monografia elaborada e apresentada como requisito parcial para aprovação na disciplina de TCC em Ciências Biomédicas do curso de Biomedicina pelo Centro Universitário Luterano de Palmas (CEULP/ULBRA), coordenado pelo o Profº. Luiz Fernando Castagnino Sesti.

Orientador: Profª. MSc Marta Cristina de Menezes Pavlak.

Palmas – TO

2015

TATIANE DA COSTA ARAUJO SOUSA

**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE PRESUNTOS FATIADOS
COMERCIALIZADOS EM PALMAS – TO**

Monografia elaborada e apresentada como requisito parcial para aprovação na disciplina de TCC em Ciências Biomédicas do curso de Biomedicina pelo Centro Universitário Luterano de Palmas (CEULP/ULBRA), coordenado pelo o Prof^o. Luiz Fernando Sesti.

Orientador: Prof^a. MSc Marta Cristina de Menezes Pavlak.

Aprovado em: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a MSc. Marta C. de Menezes Pavlak
Centro Universitário Luterano de Palmas

Prof.^a Dr.^a Dayane Otero Rodrigues
Centro Universitário Luterano de Palmas

Prof.^o Luis Fernando Albarello Gellen
Centro Universitário Luterano de Palmas

Palmas – TO

2015

Dedico esse trabalho primeiramente a Deus por ser essencial em minha vida, meu guia, autor do meu destino, dedico ao meu amado esposo Rafael, que de forma especial e carinhosa me deu força e coragem nos momentos de dificuldade, ao meu pai Geraldo e minha mãe Geruza que não mediram esforços para que eu chegasse até aqui, aos meus queridos irmãos por sempre estarem ao meu lado. Em fim, dedico a todos essa Vitória!

AGRADECIMENTOS

Primeiramente quero agradecer a Deus por ter me guiado e permitido chegar até aqui. Agradeço aos meus queridos pais, Geruza Valéria da Costa Araújo e Antônio Geraldo F. Araújo que sempre deram-me força para vencer os obstáculos e me incentivaram a prosseguir. Ao meu Amor, Rafael Lima de Sousa, que sempre esteve ao meu lado, pois suas palavras trouxeram-me: confiança, paz e segurança. Agradeço aos meus irmãos Thalita, Tiago e Thays pelo o apoio e admiração. As minhas amigas Tuanny Cristian Cadore e Vanessa Swaggart Rosa pelo o companheirismo e cumplicidade. A minha orientadora Prof^a. MSc Marta Cristina de Menezes Pavlak pela a sua dedicação e incentivo que tomaram possível a conclusão dessa monografia. Enfim agradeço a todos! E hoje quero compartilhar esta conquista com vocês e dizer muito obrigada por fazerem parte da minha vida.

**Bem-aventurado
aquele que teme ao Senhor
e anda em seus caminhos!
Pois comerá do fruto do seu trabalho,
será feliz e próspero.
(Salmos 128.1-2)**

RESUMO

SOUSA, Tatiane da Costa Araujo. **Avaliação microbiológica de presuntos fatiados comercializados em Palmas –TO.** Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação – Curso de Biomedicina, Centro Universitário Luterano de Palmas, Palmas-TO 2015.

Os produtos cárneos são facilmente contaminados por microrganismos durante a manipulação e o processamento, sendo que condições inadequadas de higiene dos manipuladores e do ambiente favorecem o crescimento microbiano. Considerando a incidência das doenças de origem alimentar e o impacto na saúde pública, o presente estudo realizou uma avaliação microbiológica de presuntos fatiados comercializados em Palmas –TO. Para essa análise, as amostras foram submetidas a Contagem de Coliformes totais e termotolerantes, realizado pelo o método do Número Mais Provável, pesquisa de *Salmonella* e contagem de *Staphylococcus aureus* obtidas pelo método de contagem direta em placas com plaqueamento em superfície. Os resultados encontrados foram comparados com a Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001, da Anvisa. Em relação aos Coliformes totais e termotolerantes e *Staphylococcus aureus* das 5 amostras analisadas, todas estavam de acordo com os padrões de qualidade microbiológicos estabelecidos pela a legislação vigente. Para a pesquisa de *Salmonella* spp. 40% das amostras foram consideradas impróprias para consumo, indicando possível contaminação no pós-processamento do produto. Ao comparar a qualidade microbiológica de presuntos fatiados e embalados a vácuo com presuntos embalados em bandeja de isopor, ambos estão sujeitos a contaminação dependendo das medidas higiênicas adotadas pelo fabricante ou supermercado. A pesquisa revela a importância de adotar medidas de controle microbiológico para reduzir a contaminação por bactérias patogênicas, e melhorar a qualidade do presunto disponibilizado para os consumidores.

Palavras chaves: Doenças Transmitidas por Alimentos. Intoxicação alimentar.

Coliformes totais.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Medidas de controle do desenvolvimento microbiano nos alimentos	18
Tabela 2 - Padrões Microbiológico estabelecido na RDC nº 12 de 2 de janeiro de 2001 da ANVISA	24
Tabela 3 - Resultados do Número Mais Provável para Coliformes totais e termotolerantes encontrados nas amostras de presuntos fatiados comercializados em Palma-TO	25
Tabela 4 - Resultados encontrados para <i>Salmonella</i> spp. nas amostras de presuntos fatiados comercializados em Palmas-TO.....	27
Tabela 5 - Resultados encontrados do crescimento sugestivo de <i>Staphylococcus</i> spp. nas amostras de presuntos fatiados comercializados em Palmas-TO	28

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

APPCC	Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle
CEULP/ULBRA	Centro Universitário Luterano de Palmas
EC	Escherichia coli
EPI	Equipamento de Proteção Individual
EPS	Exapolissacarídeos
LACEN-TO	Laboratório Central do Estado do Tocantins
LST	Lauril Sulfato Triptose
NMP	Número Mais Provável
PH	Potencial Hidrogeniônico
PVC	Policloreto de Vinila
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
SS	<i>Salmonella e Shigella</i>
ULBRA	Universidade Luterana do Brasil
VB	Verde Brilhante Bile

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	11
2 OBJETIVOS	12
2.1 Objetivo Geral	12
2.2 Objetivos Específicos	12
3 REFERENCIAL TEÓRICO	13
3.1 Procedimentos de fabricação do presunto	13
3.2 Fontes potenciais de contaminação	13
3.3 Alterações químicas e deterioração dos alimentos causada por contaminação ..	14
3.4 Principais agentes patogênicos encontrados em presuntos fatiados	15
3.4.1 <i>Coliformes totais e termotolerante</i>	15
3.4.2 <i>Salmonella spp.</i>	16
3.4.3 <i>Staphylococcus spp.</i>	17
3.5 Controle de Doenças transmitidas por alimentos	18
3.6 Legislação quanto aos padrões microbiológicos para alimentos	19
4 METODOLOGIA	21
4.1 Desenho do Estudo	21
4.2 Objeto de Estudo	21
4.3 Processamento das amostras	22
4.3.1 <i>Preparação da amostra e diluição seriada</i>	22
4.3.2 <i>Análise microbiológica</i>	22
4.3.2.1 Contagem de Coliformes totais e termotolerantes	22
4.3.2.2 Contagem de <i>Salmonella sp.</i>	23
4.3.2.3 Contagem de <i>Staphylococcus aureus</i>	23
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	25
6 CONCLUSÃO	30
REFERÊNCIAS	31

1 INTRODUÇÃO

O presunto é definido como “produto cárneo industrializado obtido dos cortes do membro posterior do suíno, desossado ou não, e submetido ao processo térmico adequado”. Se o produto não for obtido de suínos, é denominado de Presunto, seguido do nome da espécie animal de procedência, de acordo com a Instrução Normativa nº 20, de 31 de julho de 2000 do Ministério da Agricultura (BRASIL, 2000).

Em meio à variedade de produtos cárneos disponíveis ao consumidor, o presunto fatiado se destaca devido à sua praticidade, pois podem ser comercializados em embalagens contendo porções pequenas já fatiadas. Atualmente é evidente o crescimento de sua demanda, pois além de ser um alimento fácil de preparar, os consumidores prezam por alimentos de qualidade e de preferência frescos (GEITENES et al., 2013; BRESSAN et al., 2007).

Entretanto os produtos fatiados, de modo geral, são altamente perecíveis. Além disso, o presunto apresenta fatores intrínsecos e extrínsecos que favorecem o crescimento microbiano. Como por exemplo, a alta atividade de água, pH favorável para a maioria dos microrganismos e elevado teor de nutrientes. Por isso, são considerados excelentes meios de cultura para os microrganismos (MOTTIN, 2008).

A análise microbiológica de produtos cárneos, como o presunto, pode prevenir a chamada intoxicação alimentar, causada pela ingestão de produtos contaminados por agentes patogênicos. Alertando a população para possíveis indícios de condições higiênico-sanitárias inadequadas durante o processamento, transporte e armazenamento desses produtos (MOTTIN, 2008).

Assim, para prevenir os riscos e garantir a segurança alimentar dos consumidores é imprescindível a investigação de microrganismos capazes de causar doenças de origem alimentar, pois dependendo das informações obtida na pesquisa será possível avaliar se o produto encontrar-se em condições sanitárias satisfatórias e se estão de acordo com os padrões estabelecidos pela legislação.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar a qualidade microbiológica de presuntos fatiados comercializados em Palmas – Tocantins.

2.2 Objetivos Específicos

- o Verificar a presença de agentes patogênicos que inclui a pesquisa de Coliformes totais e termotolerantes, *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus* nas amostras coletadas;
- o Comparar a qualidade microbiológica das amostras fatiadas e embaladas em bandejas de isopor pelos supermercados com as amostras fatiadas embaladas a vácuo pelo fabricante.
- o Verificar se as amostras atendem aos parâmetros de qualidade estipulados pela legislação brasileira;

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Procedimentos de fabricação do presunto

Guiné (2012) descreve as etapas do processo de fabricação do presunto, como sendo inicialmente recessão de pernas, em seguida, pesagem, malaxagem (etapa para tornar a textura da carne macia), salga, lavagem, secagem, embalagem e rotulagem, e só então o produto é fornecido aos supermercados.

No Brasil é mais comum a produção de presunto cozido, mas em países europeus o tipo mais consumido é o presunto cru, apreciado pelos consumidores pelo sabor e aroma característicos. O processo de produção do presunto cru consiste utilizando a carne de pernil suíno como principal matéria prima, com o sal, sem a adição de conservantes, aromatizantes e proteínas vegetais sendo considerado como verdadeiro presunto (COSTA, 2007).

O período de produção de presuntos crus pode durar de 9 a 24 meses, dependendo dos métodos aplicados, do tipo de produto e do peso dos pernis. Existem técnicas que podem acelerar o processo de maturação utilizando pernis desossados, câmeras de secagem com controle de temperatura e umidade além de serem utilizada inoculação de culturas iniciadoras como técnica de aceleração (COSTA, 2007).

3.2 Fontes potenciais de contaminação

Os produtos originados da carne estão sujeitos à contaminação em todas as fases, principalmente nas operações em que são manipulados e quando não são acondicionados em locais adequados para manter uma boa conservação (CARVALHO, 2010). Segundo Franco; Landgraf (2008), os presuntos são mais susceptíveis à contaminação durante o fracionamento, sendo o equipamento fatiador considerado uma das principais fontes de contaminação. Vale ressaltar que após o fatiamento do presunto torna-se mais passível a multiplicação de bactérias aeróbias por expor maior superfície de contato com o oxigênio.

Conforme Serio e colaboradores (2009), a superfície do cortador mal higienizado representa uma importante fonte de microrganismo, ou seja, o

fatiamento de presuntos consiste em uma etapa determinante no controle da estabilidade microbiana desse alimento.

Carvalho (2010) descreve que a contaminação da carne pode ocorrer por contaminação endógena, ou seja, pela infecção do animal vivo ou contaminação exógena, devido invasão *post mortem*, que pode ser proveniente da água utilizada no processo de lavagem da carne, na superfície dos equipamentos, dos utensílios como facas e serras mal higienizados e praticas de manipulação inadequada.

O homem possui em sua microbiota inúmeras bactérias, caso o manipulador não tiver hábitos de higiene adequados conseqüentemente será uma fonte de contaminação dos presuntos. O trato intestinal tanto do homem, quanto dos animais de sangue quente pode ser a fonte de contaminação dos produtos com cepas de *Salmonella*, *Shigella*, *coliformes totais*, *Staphylococcus aureus*, dentre outros (OLIVEIRA et al. 2014).

Assim a contaminação pode ocorrer em todas as operações relativas ao processamento do alimento, desde o abate do animal até a distribuição do produto, sendo que a sua incidência depende das medidas higiênicas adotadas.

3.3 Alterações químicas e deterioração dos alimentos causada por contaminação

Os microrganismos desempenham papéis muito importantes, dependendo do tipo de interação existente com o alimento e seus nutrientes, sendo classificados em benéficos quando modificam as características originais dos alimentos, transformando-os em um novo alimento, como por exemplo, a fermentação láctica empregada na produção de laticínios como queijos, coalhada, iogurte, entre outros (GEITENES et al., 2013).

Deteriorantes quando causam alterações prejudiciais, como mudanças de cor, sabor e aspecto (GEITENES et al., 2013). A deterioração rápida de produtos derivado da carne é causada principalmente devido à conservação inadequada que favorece a proliferação de microrganismos patogênicos, que em sua maioria são capazes de liberar toxinas e produzir enzimas envolvidas em doença de origem alimentar (CARVALHO, 2010). Vale ressaltar que a presença de microrganismo nem sempre altera as características físicas do alimento (FRANCO;LANDGRAF,2008).

Segundo Geitenes e colaboradores (2013) as amostras contaminadas por microrganismos, dentre os quais bactérias lácticas, *S. aureus*, *Salmonella*, *Coliformes* e leveduras podem apresentar alterações sensoriais como aromas e sabores indesejáveis, descoloração e até mesmo coloração esverdeada. Também, pode ser observado um decréscimo do pH, exsudado leitoso, logo as embalagens à vácuo podem estufar, tornando o produto impróprio para o consumo.

Essas alterações são consequências da formação de biofilme em sua superfície, definidos como sendo uma comunidade de microrganismos encharcada por material extracelular, formado de polímeros de exopolissacarídeos (EPS), esse é um mecanismo de defesa das bactérias que lhes conferem capacidade de adesão. Os biofilmes também podem ser formados na superfície de equipamento e utensílios, quando mal higienizados deixando resíduos que servem como nutrientes para a adesão das bactérias como nos fatiadores de presunto (ANDRE et al., 2010).

Serio e colaboradores (2009), analisando amostras de presunto fatiado comercializados em quatro supermercados na cidade de Fortaleza, Ceará, constatou que mesmo dentro do prazo de validade, o presunto mostrou-se como um alimento extremamente susceptível ao desenvolvimento de biofilmes bacterianos detectados por microscopia eletrônica.

Os microrganismos também podem ser classificados como patogênicos sendo a *Salmonella* spp. principal bactéria causadora de intoxicação alimentar, o que representa risco a saúde do consumidor. Sabe-se que a gravidade das manifestações clínicas em indivíduos acometido pela infecção depende de suas defesas imunológicas, casos mais graves geralmente envolve crianças e idoso, depende também do agente etiológico e da carga microbiana a que o hospedeiro foi exposto (OLIVEIRA et al., 2014;CAVALHO, 2010).

3.4 Principais agentes patogênicos encontrados em presuntos fatiados

3.4.1 *Coliformes totais e termotolerante*

As bactérias desse grupo pertencem à família Enterobacteriaceae, são bacilos Gram-negativos, facultativas e não formadoras de esporos. A *Escherichia coli* esta incluída nesse grupo e tem como hábitat o trato intestinal do homem e animais de sangue quente, porém outras espécies não entéricas podem ser

classificadas como coliformes totais, dentre as quais encontram-se espécies de *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella* e *Serratia* (GAVA, 2008; SILVA, 2010).

Para Kaminski e Barreto (2013) a contagem de coliformes totais e termotolerantes é de suma importância, pois permitem obter informações imprescindíveis sobre a qualidade microbiológica de presuntos fatiados. Conforme Franco e Landgraf (2008), a pesquisa de *E. coli* é a melhor e mais segura indicação da eventual presença de enteropatógenos.

Sendo que a presença de um número considerável de coliformes pode ser ocasionada pelo processamento impróprio do alimento ou ocorrência de contaminação no pós-processamento, podendo citar a manipulação sem cuidados de higiene e equipamento sujo, sendo as causas mais frequentes (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

Dentre os coliformes destaca-se a *E. coli* enteropatogênica, que também é denominada como invasoras e hemorrágicas e são capazes de provocar infecção de origem alimentar. Porém, esses biossorogrupos patogênicos não compõem a microbiota intestinal e se caracterizam pela capacidade de se desenvolverem em temperatura extrema, sendo capazes de degradarem a lactose (GAVA, 2008).

3.4.2 *Salmonella* spp.

As bactérias desse gênero são divididas em *Salmonella bongori* e *Salmonella entérica*. As células apresentam forma de bacilos Gram-negativos e pertencem à família *Enterobacteriaceae*. A maioria são móveis pela presença de flagelos, anaeróbios facultativos e possuem metabolismo respiratórios e fermentativos (HOLT et al. 1994 apud MOTTIN, 2008).

Essas bactérias demandam cuidados especiais no ambiente de processo, pois esse grupo possui a habilidade de formar biofilmes em superfícies de contato com alimentos. Os alimentos que são mais propícios para desenvolverem *Salmonella* spp. são carnes bovinas, suínas, aves e ovos crus (JOSEPH; OTTA; KARUNASAGAR, 2001; MOTTIN, 2008).

Os sintomas da intoxicação aparecem de 12 a 36 horas, podendo durar até 72 horas. As principais manifestações clínicas causadas por esses agentes são dores abdominais, diarreia, febre baixa e vômito que são manifestações mais comuns causadas por salmonelose. Os sintomas geralmente sofrem redução em 2 a

3 dias, não sendo necessário tratamento com antibiótico em pessoas imunocompetentes (SHINOHARA,2008).

Porém a infecção causada por *Salmonella typhi* que é uma subespécie da *Salmonella entérica*, possui sintomas muito graves dentre os quais são septicemia, febre alta, diarreia e vômito, denominada febre tifoide. Os sintomas podem persistir por meses ou anos sendo que a febre tifoide pode evoluir para óbito (SHINOHARA,2008).

3.4.3 *Staphylococcus spp.*

As bactérias do gênero *Staphylococcus* são cocos Gram-positivos, quando visualizados em microscópio aparecem em pares, em cadeias curtas ou em cachos, semelhante aos de uva, sendo que algumas cepas são capazes de produzir toxinas proteicas termoestáveis. Esses microrganismos são aeróbios e fermentativos, capazes de fermentar carboidratos, obtendo como produto final a produção de ácidos, mas não de gás (MOTTIN, 2008).

Os *Staphylococcus* fazem parte da microbiota humana, estão presentes na pele, mucosas, trato respiratório superior e no intestino, portanto os manipuladores são a fonte primária de contaminação e os fatiadores de frios são facilmente contaminados pelos manipuladores e podem atuar também com fonte de contaminação por patógenos, esse é um indicativo de condições higiênicas insatisfatórias (FACHINELLO et al., 2013).

As intoxicações alimentares causadas por *Staphylococcus* estão relacionadas à ingestão de um produto contendo enterotoxinas produzidas por *S. aureus*, quando os alimentos são deixados em temperaturas inadequadas, favorece o crescimento das bactérias *Staphylococcus*, produzindo toxinas como produto da multiplicação (MOTTIN,2008).

As cepas de *Staphylococcus aureus* não resistem ao calor quando são expostas a altas temperaturas e podem ser eliminadas no momento em que o presunto é cozido. Porém, as toxinas produzidas por essa bactéria são altamente resistentes, pois são capazes de suportar rigorosos tratamentos térmicos como a esterilização (SILVA, 2010).

Os sintomas da intoxicação alimentar são mais severos no início, sendo que o período de incubação é de 30 minutos a 8 horas, as manifestações clínicas são

náuseas, vômitos, cólicas, prostração, pressão baixa e temperatura subnormal, também pode ser observado alterações na frequência cardíaca. O indivíduo acometido pode se recuperar em torno de dois dias e caso necessário pode ser realizado o tratamento por reposição hidroeletrólítica (BRASIL, 2005).

3.5 Controle de Doenças transmitidas por alimentos

O controle do desenvolvimento microbiano nos alimentos é realizado primeiramente bloqueando-se o acesso dos agentes patogênicos aos alimentos, segundo, evitando-se as condições favoráveis para seu crescimento ou atividade metabólica e terceiro através da destruição do microrganismo (CARVALHO, 2010).

Soto e colaboradores (2006) salientam que é necessário à implantação de boas práticas operacionais dos produtos que possam eliminar ou reduzir o risco de contaminação dos alimentos, desde a fabricação, até aquisição do presunto pelos supermercados, pois a contaminação pode ocorrer em qualquer fase do processo e das mais variadas fontes. Assim, as principais medidas preventivas recomendadas para o controle do desenvolvimento microbiano em alimentos podem ser observadas na tabela 1 a seguir.

Tabela 1 - Medidas de controle do desenvolvimento microbiano nos alimentos

Processamento	<p>Controle de fatores que afetam a multiplicação, tais como: pH, acidez, atividade da água (Aw), conservantes.</p> <p>Controle de tempo/temperatura para evitar a proliferação de microrganismos</p> <p>Tratamento térmico adequado para a eliminação do patógeno.</p> <p>Manutenção de condições atmosféricas desfavorável para o crescimento microbiano (embalagens a vácuo, por exemplo).</p>
Manipulação	<p>Cuidados com a higiene pessoal.</p> <p>Uso de equipamentos de proteção individuais (EPI's) como luvas, toucas e avental.</p> <p>Práticas de manipulação segura.</p>
Ambiente	<p>Limpeza eficaz dos equipamentos.</p> <p>Sistemas adequados de limpeza e sanitização após o processamento.</p>

Fonte: FRANCO; LANDGRAF (2008); SENAI (2001)

As medidas de processamento bloqueiam o crescimento microbiano utilizando métodos de conservação que retarda o desenvolvimento de microrganismos, o método mais utilizado geralmente é o armazenamento em temperaturas baixas, em conjunto disso é realizado o controle de fatores que afetam a multiplicação como, pH, acidez, uso de conservantes químicos, condições anaeróbia através do uso de embalagens a vácuo, evitando assim condições favoráveis para seu crescimento (CARVALHO, 2010).

A eliminação de patógenos em alimentos é obtida através da exposição do produto a altas temperaturas, considerado um método mais eficaz e usado com mais frequência. Porém existem outros métodos como irradiação do alimento realizado por meio do tratamento com radiação ionizante e a destruição mecânica dos microrganismos (altas pressões, por exemplo). O controle de tempo/temperatura é definido como sendo o tempo necessário para ocorrer a destruição das cepas e esporos que estão presentes no alimento quando o mesmo é submetido a temperaturas elevadas (CARVALHO, 2010)..

A manipulação adequada evita o acesso dos agentes patogênicos aos alimentos, pois o homem é considerado como reservatório natural de microrganismos dessa forma faz-se necessários cuidados com a higiene pessoal priorizando o uso de EPI's tais como luvas, toucas e avental (FRANCO; LADGRAF, 2008; SHINOHARA et al., 2008).

Vale lembrar que após o processamento e manipulação do presunto deve-se realizar a limpeza tanto do ambiente quanto equipamentos do utilizado e todas as partes do equipamento que entra em contato com o alimento precisam ser higienizadas. Em fim, essas são as medidas de controle normalmente mais utilizadas para evitar doenças transmitidas por alimentos (CARVALHO, 2010).

3.6 Legislação quanto aos padrões microbiológicos para alimentos

Para garantir a segurança alimentar do consumidor, é necessário que o presunto comercializado esteja de acordo com os padrões estabelecidos na Resolução da Diretoria Colegiada, RDC nº 12 de 2 de janeiro de 2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (BRASIL, 2001).

Produtos em condições sanitárias satisfatórias são aqueles cujos resultados analíticos apresentam-se abaixo ou igual aos parâmetros estabelecidos para amostra indicativa ou amostra representativa, conforme especificado no Anexo I da Resolução vigente. Entretanto, produtos em condições sanitárias insatisfatórias são aqueles cujos resultados analíticos estão acima dos limites estabelecidos, ou seja, o produto é considerado impróprio para consumo (BRASIL,2001).

De acordo com a RDC nº 12 de 2 de janeiro de 2001, o descumprimento aos termos desta Resolução constitui infração sanitária, sujeitando os infratores às penalidades da Lei nº 6.437, de 20 de agosto de 1977, e demais disposições aplicáveis (BRASIL,1977).

As ações de vigilância sanitária de abrangência nacional são voltadas para coibir ou prevenir os riscos advindos de produtos ou práticas que possam trazer prejuízos à saúde da população. A fiscalização é realizada através de uma política de inspeção nos estabelecimentos e de programas de monitoramento de produtos no comércio com a participação das vigilâncias estaduais e dos Laboratórios de Centrais de Saúde Pública (LACEN) (BRASIL, 2002).

4 METODOLOGIA

4.1 Desenho do Estudo

O presente estudo realizou uma avaliação microbiológica de presuntos fatiados comercializados em supermercados de Palmas, Tocantins, através de uma pesquisa básica, de natureza quali-quantitativa, com caráter descritivo e laboratorial, nos meses de julho a novembro de 2015.

4.2 Objeto de Estudo

O objeto de estudo foi o presunto fatiado, sendo que para a realização da pesquisa foram adquiridas 5 amostras diferenciadas pelo o tipo de embalagem descritas como:

a) Três amostras de presunto foram obtidas através da compra em três estabelecimentos comerciais de Palmas-TO, fatiadas e embaladas em bandejas de isopor, envolvidas com filme de PVC pelos funcionários dos supermercados, sendo que cada estabelecimento possui práticas operacionais de mercadoria, adotadas desde a obtenção do produto dos fornecedores, estoque, fatiamento, armazenamento até a exposição para os clientes, conforme a RDC 216, de 15 de setembro de 2004. As três amostras foram adquiridas dentro do prazo de validade estipulado pelo o local que embalou o produto (BRASIL, 2004).

b) Duas amostras foram provenientes da fábrica que possuem tipo de embalagens a vácuo e conforme a RDC nº 275, de 21 de outubro de 2002 cada empresa possui procedimentos operacionais padrão, aplicado desde a aquisição da matéria-prima, até o preparo, produção, embalagem, rotulagem e transporte do produto. Também adquiridas dentro do prazo de validade estipulado nas embalagens pelo fabricante (BRASIL, 2002).

O transporte foi realizado após as amostras serem acondicionadas em um recipiente de isopor com gelo e com temperatura monitorada, com o auxílio e um termômetro portátil, sendo imediatamente encaminhadas ao Laboratório de microbiologia do Centro Universitário Luterano de Palmas- CEULP/ULBRA para análise microbiológica.

4.3 Processamento das amostras

4.3.1 Preparação da amostra e diluição seriada

Após a chegada das amostras ao Laboratório, o presunto foi processado dentro da capela, utilizou-se 25g de cada amostra para realizar o preparo das diluições, adicionando o presunto cortado com o auxílio de uma tesoura esterilizada em 225 mL de água peptonada a 0,1%, obtendo assim a diluição 10^{-1} , depois de ser homogeneizado transferiu-se 1 mL da diluição 10^{-1} para um tubo contendo 9 mL de solução salina peptonada 0,1%, de forma a obter a diluição 10^{-2} . A partir da diluição 10^{-2} , tomou-se 1 mL e misturou-se com 9 mL de solução salina peptonada, de forma a obter a diluição 10^{-3} (SILVA et al., 2010).

4.3.2 Análise microbiológica

As amostras foram submetidas às seguintes análises microbiológicas: Contagem de Coliformes totais e termotolerantes; Pesquisa de *Salmonella*; Contagem de *Staphylococcus aureus*.

4.3.2.1 Contagem de Coliformes totais e termotolerantes

De acordo com Silva e colaboradores (2010), a contagem de coliformes adotada foi pelo o método do Número Mais Provável (NMP), que inclui as etapas descritas abaixo:

Inicialmente realizou-se o teste presuntivo, onde transferiu-se 1ml das diluições 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} para uma série em triplicata de tubos contendo 10 ml de Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST) com tubos de Durhan invertidos, seguiu-se a incubação em estufa à 35°C, com leituras em 24 e 48 h. Os tubos que apresentaram crescimento e produção de gás, caracterizados por turvação e formação de bolhas, foram classificados como positivos, e os tubos que não sofreram nenhuma alteração foram classificados como negativos (SILVA et al., 2010).

Para o teste confirmatório de coliformes totais e termotolerantes, foi transferida uma alçada dos tubos positivos para tubos contendo Verde Brilhante Bile (VB) e Caldo E. coli (EC).

Os tubos de Verde Brilhante Bile (VB), foram incubados em estufa à 35°C/24h observando o crescimento (turvação) e produção de gás, os tubo positivos foram considerados confirmatórios para a presença de coliformes totais (SILVA et al., 2010).

Os tubos contendo Caldo E. coli (EC) foram incubados em banho-maria à 45°C e após 24 horas de incubação ocorrendo o crescimento e produção de gás forma considerados positivos para Coliformes termotolerantes (SILVA et al., 2010).

A sequência obtida de tubos positivos após a análise foi comparada com a tabela de NMP citada por Silva e colaboradores (2010), obtendo-se assim os valores de NMP/grama de presunto.

4.3.2.2 Contagem de *Salmonella* sp.

A pesquisa de *Salmonella* sucedeu pelo o método de contagem direta em placas com plaqueamento em superfície de Ágar *Salmonella/Shigella*. A análise constitui da inoculação de 0,1 ml de cada diluição na superfície das placas de Ágar SS, espalhando o inóculo adequadamente com a alça de Drigalski, as placas foram levadas à estufa a 35°C por aproximadamente 24-48 horas.

Após a incubação, as placas foram analisadas observando a superfície do Agar quanto à presença de crescimento bacteriano, analisando as seguintes características macroscópicas: As bactérias que não fermentam lactose (supostamente patogênicas) formam colônias claras e incolores. Algumas espécies de *Salmonella* spp são formadoras de sulfetos que desenvolvem colônias transparentes, mas apresentam um centro negro (SILVA et al., 2010).

4.3.2.3 Contagem de *Staphylococcus aureus*

Conforme Silva e colaboradores (2010) a contagem de *Staphylococcus aureus* foi obtida pelo o método de contagem direta em placas com plaqueamento em superfície, constituída na inoculação de 0,1 ml de cada diluição em suas respectivas placas de Ágar Sal manitol, espalhando o inóculo adequadamente com a

alça de Drigalski, até o líquido ser absorvido completamente. Em seguida as placas foram incubadas na posição invertida a 35-37°C/45-48h (SILVA et al., 2010).

Avaliou-se a presença de colônias depois da incubação, contudo, realizou-se a contagem apenas de colônia típicas de *Staphylococcus aureus* fermentadores do manitol caracterizadas como colônias arredondada lisas e brilhantes, rodeadas de uma zona amarela (SILVA et al., 2010).

A partir dos dados obtidos, a contagem *Staphylococcus aureus* sucedeu-se utilizando a seguinte equação:

$$\text{UFC} = \text{Número de colônias} \times \text{Fator de diluição} \times 10 \text{ UFC/g}$$

Os dados obtidos foram tabulados, e após serem analisados, os resultados foram comparados com os padrões estabelecidos na Resolução da Diretoria Colegiada, RDC nº 12 de 2 de janeiro de 2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), conforme a tabela 2, e classificado como satisfatório ou insatisfatório (BRASIL,2001).

Tabela 2 - Padrões Microbiológicos estabelecidos na RDC nº 12 de 2 de janeiro de 2001 da ANVISA

Agente microbiológico	Tolerância Aceitável
Coliformes a 45°C	10 ³ NMP/g
<i>Salmonella</i> sp.	Ausência/ 25g
<i>Staphylococcus aureus</i>	3x10 ³ UFC/g

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após a análise das amostras, o presente estudo obteve os seguintes resultados em relação à contagem de *Coliformes totais e termotolerantes*, observados na tabela 3.

Tabela 3 - Resultados do Número Mais Provável para Coliformes totais e termotolerantes encontrados nas amostras de presuntos fatiados comercializados em Palma-TO

Amostras	Coliformes totais (NMP/g)	Coliformes termotolerante (NMP/g)
A	<3,0	<3,0
B	$3,5 \times 10^1$	$3,5 \times 10^1$
C	$4,6 \times 10^2$	$4,6 \times 10^2$
D	7,4	7,4
E	$2,3 \times 10^1$	$2,3 \times 10^1$
Tolerância aceitável para termotolerantes		10^3

Amostra A B e E- embalados em bandejas; Amostra C e D—embalados a vácuo.

Os resultados obtidos da pesquisa de Coliformes totais e termotolerantes demonstram que das 5 amostras analisadas, 4 apresentaram positividade nos testes confirmatórios para Coliformes totais, sendo que as mesmas amostras foram positiva para termotolerantes, porém os valores encontraram-se dentro da tolerância aceitável de até 10^3 NMP/g para Coliformes termotolerantes, conforme a RDC nº 12 de 2 de janeiro de 2001 da ANVISA (BRASIL,2001).

Dentre as amostras analisadas, apenas a amostra A, ao contrário das amostras B e E, apresentou a série de três tubos com diluições de 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} negativo, porém a técnica do NMP possui um intervalo de confiança de 95%, por isso deve-se considerar o valor <3,0 NMP/g para Coliformes em geral. As fatias de presuntos estavam embaladas em bandeja de isopor, envolvidas com filme PVC, dessa forma presume-se que o estabelecimento comercial realiza boas práticas de manipulação e higienização adequada dos equipamentos.

As amostras C e D de presuntos fatiados embalados a vácuo pelo fabricante, apresentaram resultados confirmatórios tanto para a presença de Coliformes totais como para termotolerantes, com valores de $4,6 \times 10^2$ NMP/g e 7,4 NMP/g, respectivamente, levando em consideração a baixa quantidade desses microrganismos, as amostras atenderam aos parâmetros exigidos pela legislação, sendo consideradas como satisfatórias (BRASIL,2001).

Resultados semelhantes foram encontrados por Kaminski e colaboradores (2013) no qual analisaram seis amostras de três supermercados do município de Sorriso, Mato Grosso, e constataram que todas estavam de acordo com os padrões máximos permitidos pela legislação vigente. Serio e colaboradores (2009), ao analisarem presuntos fatiados de quatro redes de supermercados de Fortaleza, Ceará, concluíram que todas as amostras estavam apropriadas em relação aos coliformes termotolerantes.

Para garantir a qualidade microbiológica do presunto fatiado pelo fabricante, Serio e colaboradores (2009) destacam a necessidade de boas condições higiênico-sanitárias das instalações e dos equipamentos, assim como, das boas práticas de fabricação e controle de tempo e temperatura no momento do transporte e armazenamento.

Resultados diferentes foram encontrados por Mottin (2007), no qual o pesquisador analisou 100 amostras adquiridas de três supermercados de Porto Alegre, Rio Grande do Sul. Sendo que em 18 amostras foram detectadas a presença de Coliformes termotolerantes que com valores acima do previsto na legislação.

Atualmente, a manifestação de Coliformes em alimentos não pode ser considerada necessariamente como indicador de contaminação de origem fecal, pois esse microrganismo também está presente no ambiente. A partir disso, pressupõe-se que a proliferação pode ocorrer por contaminação cruzada, falta de sanitização dos equipamentos e utensílios, assim como práticas de manipulação inadequada são as principais fontes de contaminação dos presuntos por Coliformes (FRANCO; LANDGRAF, 2008; MOTTIN, 2008).

Após a realização da cultura para verificar o possível crescimento de *Salmonella* spp. foram alcançados os seguintes resultados observados na tabela 4.

Tabela 4 - Resultados encontrados para *Salmonella* spp. nas amostras de presuntos fatiados comercializados em Palmas - TO

Amostras	<i>Salmonella</i> spp. UFC/g
A	Ausência
B	Presença
C	Presença
D	Ausência
E	Ausência
Tolerância aceitável	Ausência

Amostras A, B e E- embaladas em bandejas; Amostras C e D–embaladas a vácuo.

Das 5 amostras analisadas neste estudo, 2 (40%) apresentaram presença de *Salmonella* spp., o que está em desacordo com a legislação vigente que estabelece ausência de *Salmonella* spp. em 25g de presunto. Comparando os tipos de embalagens das amostras, verificou-se que as 2 amostras positivas eram de embalagens diferentes. Isso significa que as práticas de manipulação adotadas e o controle de temperatura foram inadequados em algumas das fases de processamento, fatiamento ou embalagem do produto.

Fai e colaboradores (2011) analisaram 40 amostras de presunto suíno comercializados em supermercados de Fortaleza-CE e foi detectada a presença de *Salmonella* spp. em 30% das amostras. No entanto, resultados diferentes foram encontrados por Fachinello e colaboradores (2013), no qual das 14 amostras analisadas provenientes de supermercados do município de Francisco Beltrão –PR, todas apresentaram ausência para *Salmonella* spp.

Franco e Landgraf (2008) relatam que numerosos surtos de intoxicação alimentar causadas por *Salmonella* spp. já foram registrados em vários países, e descrevem que esse gênero pode ser veiculado por variados tipos de alimentos, porém, as carnes de aves, inclusive outros tipos de carne e seus derivados, são mais frequentemente envolvidos.

No processo de cozimento, o presunto é submetido à altas temperaturas, suficiente para eliminar presença de *Salmonella* spp., porém, a contaminação desse produto pode ocorrer em etapas pós-processamento, durante o manuseio e fatiamento por exemplo. Vale ressaltar que a maioria das pessoas consomem o

presunto sem nenhum tratamento térmico pós-processamento, aumentando o risco de ser acometido por doenças transmitidas por alimento (FAI et al.,2011).

As análises laboratoriais para detecção de *Staphylococcus* spp. permitiram obter os seguintes resultados visualizados na tabela 5:

Tabela 5 - Resultados encontrados do crescimento sugestivo de *Staphylococcus* spp. nas amostras de presuntos fatiados comercializados em Palmas-TO

Amostras	<i>Staphylococcus</i> spp. UFC/g
A	7,2
B	9,2
C	$1,4 \times 10^1$
D	3,3
E	$4,4 \times 10^1$
Tolerância aceitável	3×10^3

Amostra A B e E- embalados em bandejas; Amostra C e D–embalados a vácuo.

Os resultados encontrados para *Staphylococcus* spp. conforme a tabela 5 apresentaram um crescimento sugestivo de *Staphylococcus* spp. em todas as amostras analisadas, apesar da legislação determinar o padrão microbiológico específico para *Staphylococcus aureus*, nenhuma amostra ultrapassou o limite de 3×10^3 UFC/g, estabelecido na RDC nº 12 de 2 de janeiro de 2001 da ANVISA (BRASIL,2001).

A contagem das colônias demonstrou que a amostra E (presunto embalado em bandeja de isopor) apresentou maior número de Unidades Formadoras de Colônias por grama, cerca de $4,4 \times 10^1$ UFC/g, valor superior aos produtos acondicionados a vácuo. Dessa forma, sugere-se uma possível contaminação no momento da embalagem do produto, pois os *Staphylococcus* spp. fazem parte da microbiota das mão e isso faz dos manipuladores fonte primária de contaminação.

Estes resultados estão de acordo aos verificados por Fachinello e colaboradores (2013), que ao avaliarem 14 amostras de presuntos obtidos de supermercados de Francisco Beltrão-PR, detectaram a presença de *Staphylococcus* spp. em 13 (92,8%), porém todas atenderam a legislação pois as amostras não apresentaram positividade no teste de coagulase.

Em outro estudo realizado por Mottin (2008), observou-se que em 100 amostras de apresuntados provenientes de três estabelecimentos de Porto Alegre-RS, foi detectada a presença de *Staphylococcus aureus* em 16% do total amostrado, estando em desacordo com a legislação.

Pela observação dos aspectos analisados conclui-se que a detecção de número elevado de *S. aureus* revela um perigo potencial à saúde pública devido à enterotoxinas produzidas pelo mesmo, pois quando o processamento inclui manipulação do alimento, demonstra que as práticas de higiene estão sendo inadequada (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

6 CONCLUSÃO

Após a análise dos resultados obtidos no presente estudo, foi observada em relação aos *Coliformes totais e termotolerantes* e *Staphylococcus aureus*, que todas as amostras estavam de acordo com os padrões de qualidade microbiológicos, estabelecidos pela legislação vigente. Para a pesquisa de *Salmonella* spp. 40% das amostras foram consideradas impróprias para consumo, indicando possível contaminação no pós-processamento.

Em relação aos tipos de embalagens, os dois tipos estão sujeitos à contaminação dependendo das medidas higiênicas adotadas pelo fabricante ou supermercado, pois na pesquisa de *Salmonella* spp. por exemplo, verificou-se a presença da bactéria nos presuntos acondicionados em ambos os tipos de embalagens.

A pesquisa revela a importância de adotar medidas de controle microbiológico para reduzir a contaminação por bactérias patogênicas e melhorar a qualidade do produto cárneo disponibilizado para os consumidores. A ação dos órgãos de fiscalização colabora para melhoria da qualidade do presunto, realizando inspeções higiênico-sanitárias nos supermercados, não só no município de Palmas, mas em todas as cidades do Brasil, observando se as práticas de manipulação, fatiamento e armazenamento estão adequadas.

Levando-se em consideração a incidência das doenças de origem alimentar e o impacto na saúde pública, o profissional Biomédico pode atuar tanto na realização das análises microbiológicas dos alimentos, quanto na fiscalização dos estabelecimentos, participando de instituições de pesquisa e na difusão do conhecimento, por meio de palestras sobre boas práticas de manipulação.

REFERÊNCIAS

ANDRE, C.; KORRES, A. M. N.; RIBEIRO, S. S. S. AGENTES CONSERVANTES SOBRE MICROORGANISMOS FORMADORES DE BIOFILMES EM PRESUNTO E APRESUNTADO. **Instituto Federal do Espírito Santo – Ifes**, 2010.

BRASIL. Instrução normativa nº 20, de 31 de julho de 2000 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Diário Oficial da União de 03/08/2000.

BRASIL. Lei nº 6.437, de 20 de agosto de 1977. Configura as infrações à legislação sanitária federal, estabelece sanções respectivas e dá outras providências. **Diário Oficial [da República Federativa do Brasil]**, Brasília, DF, p. 11145, 24 ago. 1977. Seção 1.

BRASIL. **Manual das Doenças Transmitidas por Alimentos**. Ministério da Saúde, Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo, Departamento de Vigilância Epidemiológica. Editora Ministério da Saúde, 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 12, de 2 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. **Diário Oficial [da República Federativa do Brasil]**, Brasília, DF, n. 7-E, 10 jan. 2001. Seção 1

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 275, de 21 de outubro de 2002 sobre Procedimentos Padrões de Higiene Operacional

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução **RDC 216**, de 15 de setembro de 2004

BRESSAN, M. C. et al. Influência da embalagem na vida útil de presuntos fatiados. **Ciênc Agrotec**, v. 31, n. 2, p. 433-438, 2007.

CARVALHO, I. T. **Microbiologia dos alimentos**. 1.ed. Recife:EDUFRPE, 2010. p.59.

COSTA, M. de R. et al. Perfil sensorial e aceitação de presuntos crus produzidos por métodos tradicionais e acelerado. **Ciênc. Tecnol. Aliment**, v. 27, n. 1, p. 170-176, 2007.

FACHINELLO, J. P.; CASARIL, KBPB. AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE PRESUNTOS FATIADOS, COMERCIALIZADOS NO MUNICÍPIO DE FRANCISCO BELTRÃO, PARANÁ. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 24, n. 3, p. 314, 2013.

FAI, A. E. C. et al. Salmonella sp e Listeria monocytogenes em presunto suíno comercializado em supermercados de Fortaleza (CE, Brasil): fator de risco para a saúde pública. **Ciênc. Saúde Coletiva**, v.16, p. 657-662, 2011.

FRANCO, B. D. G. de M.; LANDGRAF, M. Microbiologia dos Alimentos. São Paulo: Atheneu, 2008, 182 p.

GAVA, A. J. **Tecnologia de alimentos: princípios e aplicações.** São Paulo : Nobel, 2008. 511 p., il.

GEITENES, S. et al. Modelagem do crescimento de bactérias lácticas e análise microbiológica em apresuntado e presunto cozido fatiados e embalados à vácuo. **RECEN-Revista Ciências Exatas e Naturais**, v. 15, n. 1, p. 113-134, 2013.

GUINÉ, R. Projeto industrial de uma fábrica de produção de presunto. *Millenium*, v. 43, p. 153-162, 2012.

HOLT, J.G. et al. **Bergy's manual of Determinative Bacteriology**. 9 ed. Williams & Wilkims, 1994. 787 p. apud MOTTIN, V. D. Avaliação microbiológica de apresuntados, fatiados e comercializados em supermercados de Porto Alegre, RS. 2008.

JOSEPH, B.; OTTA, K.K.; KARUNASAGAR, I. Biofilm formation by Salmonella sp. On food contact and their sensitivity to sanitizers. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 64, p. 367-372, 2001 apud MOTTIN, V. D. Avaliação microbiológica de apresuntados, fatiados e comercializados em supermercados de Porto Alegre, RS. 2008.

KAMINSKI, S.; BARRETO, E. S. Coliformes totais e termotolerantes de presunto fatiado comercializado em supermercados do município de Sorriso-Mato Grosso, Brasil. **Revista Brasileira de Educação e Saúde**, v. 3, n. 3, 2013.

MOTTIN, V. D. Avaliação microbiológica de apresuntados, fatiados e comercializados em supermercados de Porto Alegre, RS. 2008.

OLIVEIRA, G. G. et al. ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS DE PRESUNTOS COZIDOS CONSERVADOS EM SALMOURA. In: **Congresso de Pesquisa e Extensão da Faculdade da Serra Gaúcha**. 2014. p. 413-424.

SENAC. Guia de elaboração do plano APPCC. Projeto APPCC Mesa. Rio de Janeiro: SENC/DN, 2001. 310 p.

SERIO, J. et al. Avaliação microbiológica e microscópica de presuntos fatiados refrigerados. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 20, n. 1, p. 135-139, 2009.

SHINOHARA, N. K. S. et al. Salmonella spp., importante agente patogênico veiculado em alimentos. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 13, n. 5, p. 1669-1674, 2008.

SILVA, N. et al. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e da água** 4.ed. São Paulo: Varela, 2010. 632 p.

SOTO, F. R. M. et al. Proposta e análise crítica de um protocolo de inspeção e de condições sanitárias em supermercados do município de Ibiúna-SP. **Rev. bras. epidemiol**, v. 9, n. 2, p. 235-241, 2006.