

TRABALHO ORIENTADO: AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE ALIMENTO PRONTO PARA CONSUMO COMERCIALIZADO EM ALEGRE-ES

Cassiane Araujo Elias¹, João Lucas Braga Perin², Luciene do Nascimento Quaresma³, Clara Avelino Alves Henrique⁴, Ana Julia Rodrigues Lacerda⁵, Rodolfo Moreira Baptista⁶, Yasmin Pena Santos⁷.

Universidade Federal do Espírito Santo, Alto Universitário, S/N - Guararema, 29500-000 - Alegre-ES, Brasil, cassianearaujo36@gmail.com¹, joaobragaperin@gmail.com², lucieneng7@gmail.com³, clara.henrique@edu.ufes.br⁴, anajulia.r09@gmail.com⁵, rodolfombaptista@outlook.com⁶, yasminpna2@gmail.com⁷.

Resumo

O objetivo deste estudo foi avaliar a qualidade microbiológica de um alimento pronto para consumo comercializado no município de Alegre-ES, como etapa de aprendizado prático da disciplina de Microbiologia de Alimentos, ofertada no curso de Farmácia da Universidade Federal do Espírito Santo, *campus* Alegre. Para isso, a técnica do número mais provável ou técnica dos tubos múltiplos foi utilizada, para estimar uma população de microrganismo presente no pudim fabricado por uma padaria da cidade de Alegre no Espírito Santo. Através da análise observou-se a ausência de crescimento microbiano por coliformes, representando assim o uso das Boas Práticas de Manipulação dos alimentos durante a produção do mesmo e até o envase do produto acabado, nesse caso o pudim.

Palavras-chave: Microbiologia. Análise microbiológica. Alimentos. Doenças Transmitidas por Alimentos. Boas Práticas de Fabricação.

Área do Conhecimento: Ciências biológicas. Microbiologia.

Introdução

Os alimentos compõem umas das necessidades mais básicas para a manutenção da vida, sendo fontes de nutrição e obtenção de energia pelos seres vivos. Entretanto, podem se comportar como verdadeiros meios de crescimento de microrganismos, ao oferecer nutrientes e condições essenciais para a sua proliferação. Sendo assim, é necessário que os alimentos possam garantir segurança ao consumidor (LUSTOSA *et al*, 2021).

Doenças transmitidas por alimentos (DTAs), são causadas pela ingestão de agentes patogênicos presentes em alimentos e água contaminados (SIRTOLI; COMARELLA, 2018), resultantes de práticas higiênico-sanitárias inadequadas, contaminações cruzadas, utilização de sobras armazenadas incorretamente, processo de produção irregular e conservação imprópria (BOAVENTURA *et al*, 2017). Já as doenças veiculadas por alimentos (DVAs), podem comprometer a saúde do consumidor através da ingestão não apenas de patógenos, mas também de toxinas, agrotóxicos e metais pesados, por exemplo (SILVA *et al*, 2016).

No Brasil, a resolução nº 216/04 publicada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), implementa as Boas Práticas de Fabricação (BPF), que aplicam critérios mínimos aceitáveis para o controle da higiene, segurança e saúde de ambos os ambientes e seus funcionários, devendo ser seguidos pelos estabelecimentos de fabricação e comercialização de alimentos (OLIVEIRA *et al*, 2021). Tal decreto possui como principal objetivo a regulamentação de procedimentos para que se adequem às exigências sanitárias de modo a garantir uma maior segurança para o consumo destes alimentos (SILVA *et al*, 2015).

Segundo a ANVISA, é considerado um manipulador “qualquer pessoa do serviço de alimentação que entra em contato direto ou indireto com o alimento” (ANVISA, 2004). Assim, o funcionário pode se tornar o principal vetor da transmissão de patógenos quando não atende às Boas Práticas higiênico-sanitárias ou encontra-se infectado, levando à contaminação do alimento e infecção do consumidor (OLIVEIRA *et al*, 2021). Deve-se considerar a realização de treinamentos que capacitem a equipe responsável sobre boa higienização e Boas Práticas desde o momento de aquisição até a exposição

dos alimentos, além de um ambiente de trabalho salubre e seguro, compõem as normas estabelecidas pelas Boas Práticas de Fabricação (OLIVEIRA *et al*, 2021), resultando no controle da incidência de transmissão de DTAs e DVAs (BOAVENTURA *et al*, 2017).

Alimentos preparados com ingredientes de origem animal, tais como bolos e pudins, podem apresentar riscos ainda mais altos de contaminação, pois sua segurança depende da saúde prévia dos animais (BRUGEFF *et al*, 2023). Leite e ovos apresentam riscos elevados de contaminação devido a, respectivamente, seu alto nível de atividade de água (CHAWLA *et al*, 2018), e por sua vulnerabilidade à contaminação por *Salmonella* e coliformes, por exemplo, caso recém-postos em ambientes insalubres (GANTOIS *et al*, 2009).

Escherichia coli é uma bactéria presente na microbiota intestinal de humanos e animais e, conseqüentemente, em suas fezes. Por existir em simbiose, a *E. coli* mostra-se geralmente inofensiva – mas apresenta algumas cepas patogênicas que podem causar desde infecções em regiões não-intestinais do corpo, até quadros de diarreia severa e potencialmente mortal (SMITH; FRATAMICO, 2017). Devido à sua natureza, sua presença torna-se um forte indicativo de um preparo do alimento sob condições higiênico-sanitárias precárias, ou que, no mínimo, foi produzido a partir de ingredientes ou água contaminados (OLIVEIRA *et al*, 2013).

Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar a qualidade microbiológica de um alimento pronto para consumo comercializado no município de Alegre-ES, como etapa de aprendizado prático da disciplina de Microbiologia de Alimentos, ofertada no curso de Farmácia da Universidade Federal do Espírito Santo, *campus* Alegre.

Metodologia

No dia 12 de agosto de 2024, a amostra de pudim foi adquirida em uma padaria do município de Alegre-ES pelos alunos do curso superior em Farmácia, matriculados na disciplina de Microbiologia de Alimentos. A amostra foi encaminhada ao laboratório de microbiologia da Universidade Federal do Espírito Santo, *campus* Alegre nas mesmas condições em que foi encontrados. Foi iniciada a avaliação na aula prática, no mesmo dia, da presença e enumeração de coliformes a 35°C e a 45°C na amostra.

As amostras foram analisadas de acordo com os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água (Brasil, 2003). Foi utilizado a técnica do Número Mais Provável (NMP/g) para a pesquisa de coliformes a 35°C e a 45°C. Assepticamente, higienizou-se a embalagem da amostra com álcool 70%GL. Após, pesou-se 25g da amostra em saco esterilizado, onde foi transferida para 225ml de água peptonada 0,1% e, posteriormente, foram preparadas diluições até 10⁻³. Para coliformes a 35°C, utilizou-se o caldo Lauril Sulfato Triptose (LST), incubado por 48 horas, em triplicata. Caso o caldo LST apresentasse resultado positivo para crescimento, seria necessário realizar o teste confirmativo utilizando o caldo Bile Verde Brilhante (BVB) para coliformes totais, e o caldo EC para coliformes termotolerantes, com incubação a 45°C. A cada 24 horas, foram feitas visitas ao laboratório para avaliar o crescimento microbiológico.

Resultados

Após aplicação da técnica do NMP, considerando três amostras em cada uma das diluições (10⁻¹, 10⁻² e 10⁻³) e incubação das amostras do pudim, foi feita a análise dos tubos em dois tempos, 24 e 48 horas, resultando em ausência de contaminação em todos os tubos em ambos os tempos.

Tabela 1: Resultados da análise de coliformes na amostra em tubo LST utilizando a técnica do NMP.

Amostra	Diluição	Número de Tubos Inoculados	Número de Tubos Positivos	NMP (100 mL)
Pudim de Padaria	10 ⁻¹	3	0	0
	10 ⁻²	3	0	0
	10 ⁻³	3	0	0

Fonte: Os autores

Figura 1: Registro das triplicatas dos tubos (10⁻¹, 10⁻² e 10⁻³), respectivamente no tempo de 24 horas.



Fonte: Os autores.

É importante destacar que o tubo 10^{-1} encontra-se mais turvo que os demais por se tratar do tubo que continha a amostra menos diluída, ou seja, havia maior concentração de amostra em comparação com os tubos 10^{-2} e 10^{-3} .

Figura 2: Registro das triplicatas dos tubos (10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3}), respectivamente no tempo de 48 horas.



Fonte: Os autores.

As figuras acima ilustram os resultados obtidos nos dois tempos de incubação durante a aplicação da técnica NMP para detecção de coliformes no pudim de padaria. A Figura 1 apresenta os resultados no tempo de 24 horas, demonstrando a ausência de contaminação em cada uma das diluições (10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3}), assim como na Figura 2, onde também há ausência de contaminação.

Discussão

Para reduzir riscos de contaminação externa, a técnica foi realizada em condições assépticas, assim como todo o procedimento com a amostra de pudim foi realizado em um ambiente próximo ao Bico de Bunsen, para que a integridade da amostra pudesse ser mantida, de acordo com os parâmetros da Organização Pan-Americana da Saúde (OPS, 2012) que evidencia que a implementação de Boas Práticas em laboratórios de microbiologia farmacêutica, é crucial para assegurar a confiabilidade dos resultados obtidos.

Os resultados mostraram não haver contaminação por coliformes totais e termotolerantes, demonstrando que o pudim não estava contaminado e apresentava-se dentro dos padrões de segurança alimentar esperados, respeitando a RDC nº 216/2004 que trata sobre as Boas Práticas de Manipulação de alimentos e a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2024) que afirma que os padrões microbiológicos estabelecem limites para a presença de microrganismos em alimentos.

A técnica NMP para detecção de coliformes foi efetuada de maneira eficaz, comprovando sua aplicabilidade em análises microbiológicas de alimentos, e afirmações obtidas pela literatura conclui que o método de análise microbiológica utilizado é uma importante ferramenta de avaliação de qualidade microbiológica dos alimentos (SILVA *et al*, 2017).

A presença de coliformes totais pode indicar que as práticas de higiene durante a produção ou o processamento do alimento não foram adequadas, fugindo dos padrões microbiológicos estabelecidos pela Resolução RDC nº 724/2022 da ANVISA o que pode indicar a manipulação inadequada dos alimentos. Embora nem todos os coliformes sejam patogênicos, sua presença sugere que o ambiente

ou as práticas que permitiram a sua presença também podem facilitar a entrada de outros microrganismos patogênicos.

Uma das possíveis justificativas a serem consideradas responsáveis por esse resultado está na produção recente do pudim – um alimento preparado sob aquecimento – que havia sido produzido no mesmo dia da análise (JOSÉ *et al*, 2012). O método de preparo característico do pudim pode reforçar a sua segurança, já que abrange etapas como a pasteurização e cozimento, por exemplo, que envolvem a utilização de altas temperaturas, resultando na eliminação de patógenos presentes – já que muitos destes agentes não são capazes de suportar temperaturas demasiadamente elevadas. (LEONARDI; AZEVEDO, 2018).

Sua disposição à venda sob temperatura de refrigeração e em embalagem plástica fechada no momento da aquisição também é um fator responsável por garantir a sua segurança (JOSÉ *et al*, 2012). A frequência da rotação e reposição dos produtos em estoque são fatores que contribuem para que não cheguem contaminados ao consumidor, já que alimentos possuem uma natureza instável e sua degradação pode ser afetada tanto pelo ambiente onde estão expostos, quanto por sua composição, principalmente se preparados com ingredientes perecíveis. Por isso, apresentam validades diversas que devem respeitar a velocidade com que o alimento pode se deteriorar, com que pode perder seus caracteres organolépticos, e com que os possíveis contaminantes presentes, ainda que em cargas aceitáveis, possam se proliferar (LIM, 2015). A aquisição e análise do pudim realizados no mesmo dia em que este foi preparado reforçam ainda mais estes conceitos.

A atividade prática reforça para os alunos do curso de Farmácia a importância do controle microbiológico no setor alimentício e a necessidade de adesão às Boas Práticas de Fabricação, pois em caso contrário, a produção do estabelecimento será contaminada e pode comprometer a saúde da população consumidora (REBELO *et al*, 2013).

Através de atividades práticas os alunos têm a oportunidade de aplicar conceitos teóricos em situações reais, o que aprofunda seu entendimento sobre riscos microbiológicos e suas implicações na saúde pública, esse modelo de ensino ativo promove a construção do conhecimento de forma mais efetiva, estimulando a tomada de decisões baseadas em evidências científicas, bem como a resolução de problemas e o desenvolvimento de habilidades críticas que serão essenciais para sua formação profissional (LOMBARDI *et al*, 2021).

Além disso, o ensino ativo, por meio de aulas práticas, como as de Microbiologia de Alimentos, proporciona aos estudantes uma compreensão mais sólida sobre a importância da segurança alimentar. O controle rigoroso dos contaminantes microbiológicos é essencial para prevenir surtos de doenças transmitidas por alimentos, sendo este um aspecto fundamental da atuação do farmacêutico no setor alimentício (WHO, 2020).

Conclusão

A análise microbiológica realizada no pudim de padaria indica que, com base na avaliação de coliformes, este alimento pronto para consumo não apresenta riscos evidentes à saúde do consumidor. No entanto, é importante observar que a análise foi limitada a coliformes, e não podemos afirmar a ausência de outras possíveis contaminações, como Salmonella ou demais contaminantes. Portanto, é necessário realizar estudos e técnicas diferentes e específicas para confirmar completamente a segurança do alimento para o consumo humano. A aplicação da técnica do Número Mais Provável (NMP) não apenas confirmou a ausência de contaminação por coliformes, mas também proporcionou aos alunos uma compreensão prática da qualidade microbiológica de um produto comercializado pronto para consumo. Isso destaca a importância de utilizar métodos e técnicas de referência nas aulas práticas da disciplina de Microbiologia de Alimentos.

Referências

BOAVENTURA, L. T. A. *et al*. Conhecimento de manipuladores de alimentos sobre higiene pessoal e boas práticas na produção de alimentos. **Revista Univap**, v. 23, n. 43, p. 53–62, 18 dez. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.18066/revistaunivap.v23i43.1817>. Acesso em: 15 ago. 2024.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). *Padrões microbiológicos*. Brasília: ANVISA, 2020.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC nº 724, de 1 de julho de 2022. Dispõe sobre o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Encarte boas práticas para serviços de alimentação. Brasília: ANVISA, 2022.

BRASIL. Métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água. **Instrução Normativa nº 62/2003, Diário Oficial da União de 18/09/2003**, p. 14-14, 2003.

BRUGEFF, E. C. L. *et al.* Knowledge and good food handling practices for products of animal origin in the home setting. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 26, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1981-6723.05523>. Acesso em: 17 ago. 2024.

CHAWLA, S. *et al.* Role of Water Activity in Dairy Industry. *International Journal of Trend in Research and Development*, v. 5, n. 2, p. 176-178, mar./abr. 2018. Disponível em: <https://www.ijtrd.com/papers/IJTRD15891.pdf>. Acesso em: 17 ago. 2024.

GANTOIS, I. *et al.* Mechanisms of egg contamination by *Salmonella* Enteritidis. *FEMS Microbiology Reviews*, v. 33, n. 4, p. 718–738, jul. 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2008.00161.x>. Acesso em: 17 ago. 2024.

JOSÉ, Jackline Freitas Brilhante de São. Contaminação microbiológica em serviços de alimentação: importância e controle. *Nutrire Rev. Soc. Bras. Aliment. Nutr*, p. 78-92, 2012.

LEONARDI, J. G.; AZEVEDO, B. M. Métodos de conservação de alimentos. *Revista Saúde em Foco*, ed. 10, p. 51-61, 2018. Disponível em: [https://portal.unisepe.com.br/unifia/wp-content/uploads/sites/10001/2018/06/006 MÉTODOS DE CONSERVAÇÃO DE ALIMENTOS.pdf](https://portal.unisepe.com.br/unifia/wp-content/uploads/sites/10001/2018/06/006_MÉTODOS_DE_CONSERVAÇÃO_DE_ALIMENTOS.pdf). Acesso em: 15 ago. 2024.

LIM, L.-T. 8 - Enzymes for food-packaging applications. In: RICHKEY, Y. Y. (eds.). *Improving and Tailoring Enzymes for Food Quality and Functionality*. Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition, p. 161-178, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-1-78242-285-3.00008-9>. Acesso em: 15 ago. 2024./

LUSTOSA, A. G. *et al.* Aspectos gerais de infecções por bactérias do gênero *Salmonella*, um problema de saúde pública e animal. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 4, p. e12610413656, 2 abr. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i4.13656>. Acesso em: 15 ago. 2024.

LOMBARDI, Doug; SHIPLEY, Thomas F.; ASTRONOMY TEAM, BIOLOGY TEAM, CHEMISTRY TEAM, ENGINEERING TEAM, GEOGRAPHY TEAM, GEOSCIENCE TEAM, AND PHYSICS TEAM. The curious construct of active learning. *Psychological Science in the Public Interest*, v. 22, n. 1, p. 8-43, 2021.

OLIVEIRA, A. B. A. *et al.* Avaliação da presença de microrganismos indicadores higiênico-sanitários em alimentos servidos em escolas públicas de Porto Alegre, Brasil. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 18, n. 4, abr. 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1413-81232013000400007>. Acesso em: 17 ago. 2024.

OLIVEIRA, N. R. *et al.* Conhecimento de manipuladores quanto às boas práticas de manipulação de alimentos. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 13, p. e404101321278, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i13.21278>. Acesso em: 15 ago. 2024

REBELO, Taciana Gissely da Silva et al. Aspectos higiênico-sanitários dos serviços de alimentação dos estabelecimentos públicos de ensino fundamental de Maceió. 2013.

SEBRAE. *Boas Práticas na Panificação e na Confeitaria: da Produção ao Ponto de Venda*. Brasília: SEBRAE, 2010. 102 p. (Série Qualidade e Segurança dos Alimentos, PAS - Panificação. Programa Alimentos Seguros).

SILVA, H. R. *et al.* Listeriose: uma doença de origem alimentar pouco conhecida no Brasil. **Higiene Alimentar**, v. 30, n. 262/263, p. 17-20, nov./dez. 2016. Disponível em: <https://docs.bvsalud.org/biblioref/2017/02/827444/262-263-compressed-17-20.pdf>. Acesso em: 17 ago. 2024.

SILVA, L. C. *et al.* Boas práticas na manipulação de alimentos em unidades de alimentação e nutrição. **DEMETRA: Alimentação, Nutrição & Saúde**, v. 10, n. 4, p. 797–820, 17 dez. 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.12957/demetra.2015.16721>. Acesso em: 15 ago. 2024.

SIRTOLI, D. B.; COMARELLA, L. O papel da vigilância sanitária na prevenção das doenças transmitidas por alimentos (DTA). **Revista Saúde e Desenvolvimento**, v. 12, n. 10, p. 197-209, 7 maio 2018. Disponível em: <https://revistasuninter.com/revistasauade/index.php/saudeDesenvolvimento/article/view/878>. Acesso em: 15 ago. 2024.

SILVA, N. da *et al.* Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água. São Paulo: Edgard Blücher, 2017.

SMITH, J. L.; FRATAMICO, P. M. Chapter 7 - *Escherichia coli* as a Pathogen. In: DODD, C. E. R. *et al* (eds.). *Foodborne Diseases (Third Edition)*. **Academic Press**, p. 189-208, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-385007-2.00007-3>. Acesso em: 17 ago. 2024.

Organização Pan-Americana da Saúde (OPS). *Boas práticas da OMS para laboratórios de microbiologia farmacêutica*. Washington, DC: OPS, 2012. (Rede PARF Documento Técnico Nº 11).

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Food safety. 2020. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/food-safety>. Acesso em: 17 set. 2024.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Universidade Federal do Espírito Santo, campus Alegre, bem como o professor e monitora da disciplina de Microbiologia de Alimentos, do curso de Farmácia, Rodolfo Moreira Baptista e Yasmin Pena Santos. Agradecimentos especiais, também, ao INIC pela oportunidade concedida de compartilharmos nosso trabalho.