

**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA E RECUPERAÇÃO DE CEPAS DE
STAPHYLOCOCCUS AUREUS EM SORVETES**

RICARDO HENRIQUE SANTIAGO ANDRADE¹, IVANA APARECIDA DA SILVEIRA²;
ROSEANE MARIA EVANGELISTA OLIVEIRA³, ANDRÉA RESENDE COSTA DE OLIVEIRA⁴,
TAÍSE APARECIDA CARVALHO LICAS⁵

RESUMO

Staphylococcus aureus são microrganismos tipicamente Gram-positivos, que necessitam de certos compostos orgânicos para sua nutrição. Para o seu desenvolvimento é necessário: temperatura de 35-37°C, pH 7 a 7,5 e atividade da água na faixa de 0,86 a 0,90. Normalmente, esse microrganismo é transmitido por um único alimento, mas contaminações cruzadas podem causar sua transferência para outros alimentos. O aquecimento subsequente do alimento irá destruir as bactérias, porém não irá inativar a toxina termoestável. Este trabalho foi realizado com o objetivo de recuperar cepas de *S. aureus* em sorvetes visando caracterizar seu mecanismo de sobrevivência e adaptação. Inicialmente, foi realizada a avaliação microbiológica das amostras com a pesquisa de *S. aureus* e coliformes fecais. Prosseguindo realizou-se a inoculação dos sorvetes com 10mL de uma suspensão de *S. aureus* numa população estimada de 10^{-6} céls g⁻¹ do produto. Na avaliação da qualidade microbiológica não foi constatada a presença de *S. aureus* em nenhuma das amostras, porém, constatou-se a presença de coliformes fecais em 16,7% das amostras.

Palavras-chaves: *Staphylococcus aureus*, microbiológica

INTRODUÇÃO

Staphylococcus aureus necessita de compostos orgânicos para sua nutrição. Os aminoácidos são utilizados como fontes de nitrogênio, a tiamina e o ácido nicotínico são necessários entre as vitaminas do Complexo B e outros compostos como glutamato monossódico, além de sais inorgânicos e arginina para a enterotoxina tipo B (JAY, 2005).

Um maior número de *S. aureus* tende a ser encontrado nas mucosas do corpo e superfícies da pele, como por exemplo, narinas, axilas e na área das virilhas (FRANCO & LANDGRAF, 2003). As duas fontes mais importantes de contaminação para alimentos são as fontes nasais, mãos e braços de manipuladores de alimentos, em especial aqueles portadores de furúnculos e carbúnculos (GOLDMAN & BENNETT, 2001). As doenças transmitidas por alimentos (DTAs) têm se mostrado cada vez mais comuns em vários países, com etiologias variadas, muitas vezes por contaminação da matéria-prima ou do produto para consumo. O manipulador de alimentos é o principal veículo dessa transmissão já que pode introduzir e espalhar microrganismos patogênicos sendo responsável por 60% das DTAs, de acordo com a Organização Mundial da Saúde. *Staphylococcus aureus* é um desses

¹ Graduando do curso de Farmácia – UNILAVRAS - ivana@unilavras.edu.br

² Professora, UNILAVRAS - ivana@unilavras.edu.br

³ Nutricionista, UNILAVRAS - arc-oliveira@bol.com.br

⁴ Mestre em Ciência dos Alimentos – DCA/UFLA – meevangelista@hotmail.com

⁵ Graduanda em Biologia - UNILAVRAS

microrganismos comumente associados com surtos envolvendo manipuladores de alimentos (SOUZA, 2010).

O controle microbiológico de sorvetes é de fundamental importância, e por não sofrer qualquer processo de cocção ou esterilização após seu preparo final, como acontece com outros alimentos, pode constituir-se num veículo de disseminação de microrganismos causadores de toxinfecções. Os sorvetes contêm a microbiota dos ingredientes utilizados na sua preparação e aqueles à base de leite e ovos podem ser potencialmente perigosos à saúde, pois se constituem em ótimos meios de cultura para a maioria dos microrganismos incluindo os patogênicos (FALCÃO et al., 1983).

O padrão microbiológico, RDC nº12 de janeiro de 2001, determina para coliformes termotolerantes o valor limite de 5×10^6 NMP g⁻¹ de sorvete (TARGINO, COELHO e CABRAL, 2009). Portanto, este trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar a presença de *Staphylococcus aureus* em amostras de sorvetes e também recuperar cepas de *S. aureus* em amostras de sorvetes visando caracterizar seu mecanismo de sobrevivência e adaptação.

MATERIAL E MÉTODOS

Material

Foram obtidas no comércio de Lavras-MG, cinco amostras de 100g de sorvetes industrializados, adquiridos em suas embalagens originais e encaminhados em caixas isotérmicas contendo gelo picado, diretamente ao Laboratório de Microbiologia e Higiene dos Alimentos do Centro Universitário de Lavras (UNILAVRAS).

Um grama de cada amostra foi adicionado a 9mL de água peptonada a 0,1%, seguindo-se de homogeneização, obtendo-se assim a diluição 10⁻¹. Nova diluição foi preparada a partir da diluição anterior até diluição 10⁻³.

Análise microbiológica

Para análise de *Staphylococcus aureus*, foram utilizadas placas de Petri, contendo Agar Baird-Parker. A cada placa foi acrescido 0,1 de diluição, sendo a semeadura feita com auxílio de uma alça de Drigalski, seguindo de incubação em estufa a 35-37°C por 24-48 horas. Colônias negras com halo seriam indicativas da presença de *Staphylococcus aureus*.

Avaliação da qualidade

A contagem do microrganismo foi feita manualmente, expressando-se o resultado pelo número de unidades formadoras de colônias por g (UFCg⁻¹). Para determinação do grupo coliforme total utilizou-se a técnica do Número mais provável, em caldo Lauryl Sulfato Triptose. Uma série de três tubos por diluição foi inoculada com 1mL das respectivas diluições (Direto, 10¹, 10² e 10³), seguindo-se de incubação em estufa a 35° - 37°C por 24-48h. Foram consideradas positivas as amostras que apresentaram turvação e presença de gás. Na determinação da presença de coliformes termotolerantes foram retiradas alíquotas de 0,1ml dos tubos considerados positivos para coliformes totais e repicadas para tubos contendo caldo EC, seguindo-se de incubação em BM a 45°C/24-48h. Os tubos que apresentaram turvação e gás foram repicados para placas de Petri contendo Agar BEM para confirmação da presença de *Escherichia coli*

Inoculação de *Staphylococcus aureus* em sorvete

Porções de 50g de cada amostra de sorvete foram inoculadas com cultura líquida de *Staphylococcus aureus* em uma população estimada de 10⁻⁶ célula. Após o inóculo, os sorvetes voltaram ao freezer, permanecendo por um período de 3 meses. Mensalmente foram retiradas alíquotas desses sorvetes para pesquisa de *Staphylococcus aureus*, em Agar Baird-Parker.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na avaliação da qualidade microbiológica dos sorvetes não foi constada a presença de *Staphylococcus aureus* em nenhuma das amostras analisadas. Deve-se ressaltar que os sorvetes foram preparados com leite pasteurizado atendendo a legislação para gelados. A microbiota dos sorvetes, antes do tratamento térmico, está relacionada com ingredientes utilizados, sendo que de acordo com a

XIX CONGRESSO DE PÓS-GRADUAÇÃO DA UFLA
27 de setembro a 01 de outubro de 2010

legislação, todos os gelados comestíveis elaborados com laticínios ou ovos, deverão ser obrigatoriamente pasteurizados (HOFFMANN, 2000).

Com relação à pesquisa de coliformes totais e fecais 16,7% das amostras apresentaram contaminação por coliformes acima do permitido pela legislação. Os resultados obtidos para coliformes estão representados na Tabela 1.

Quadro 1 Resultados das análises de coliformes totais e fecais.

Amostras	Coliformes totais NMP g ⁻¹	Coliformes termotolerantes NMP g ⁻¹
1	1,5x10 ¹	0
2	9,5x10 ¹	1,1x10 ¹
3	0,4x10 ¹	0,4x10 ¹
4	4,5x10 ²	4,5x10 ²
5	0,4x10 ¹	0,4x10 ¹

O leite é considerado o mais completo alimento, possuindo elevado valor biológico na alimentação humana. Os elementos nutricionais, sobretudo proteínas, carboidratos, vitaminas e minerais contidos no leite, o transformam em um excelente substrato para o crescimento de microrganismos. Por este motivo, o leite deve ser obtido com máxima higiene e mantido em baixa temperatura, desde a ordenha até a ocasião de seu beneficiamento, visando garantir as características físicas, químicas e nutricionais do produto final (HOFFMANN, 2000).

O congelamento dos alimentos tem a finalidade de prolongar sua vida útil. As temperaturas utilizadas são baixas o suficiente para reduzir ou parar a deterioração causada pelos microrganismos, enzimas ou parar a deterioração causada pelos microrganismos, enzimas ou agentes químicos como o oxigênio (FRANCO e LANDGRAF, 2003).

Após o inóculo e congelamento, verificou-se que todas as amostras de sorvete inoculadas apresentaram e mantiveram viável uma população de *S. aureus* maior que 3,0x10³ UFCg.

CONCLUSÃO

As amostras de sorvete apresentaram-se dentro dos padrões microbiológicos para *Staphylococcus aureus*. No entanto, constatou-se presença de coliformes fecais acima do permitido em uma das amostras analisadas, demonstrando condições higiênico-sanitárias insatisfatórias.

Foi possível recuperar e isolar o inóculo de *Staphylococcus aureus* em 100% das amostras de sorvete.

REFERÊNCIAL BIBLIOGRÁFICO

FALCÃO, D.P.; FILHO, G.S.; NISHIDA, N.K. Exame microbiológico de sorvetes não pasteurizados. **Revistas de Saúde Pública**, v.17, n.1 São Paulo, fev., 1983.

FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia de Alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2003.

GOLDMAN, L.; BENNETT, J.C. **Tratado de Medicina Interna**. 21ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.

HOFFMANN, F.L., PENNA, A.L.B., COELHO, A.R. Qualidade higiênica sanitária de sorvetes comercializados na cidade de São José do Rio Preto –SP. **Revista Higiene Alimentar**. v.11, n.76, p.62-68, set., 2000.

JAY, J.M. **Microbiologia de Alimentos**. 6ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

SOUZA, V.A. Surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos Envolvendo Manipuladores de Alimentos. **Revista Higiene Alimentar**. v.24, n.182, p.40-46, mar., 2010.