

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE VETERINÁRIA

**QUALIDADE E INOCUIDADE DE PRODUTOS FATIADOS EM REDES DE
SUPERMERCADO NO MUNICÍPIO DE PORTO ALEGRE -RS**

INGRID EMERIM

PORTO ALEGRE

2017/1

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE VETERINÁRIA

**QUALIDADE E INOCUIDADE DE PRODUTOS FATIADOS EM REDES DE
SUPERMERCADO NO MUNICÍPIO DE PORTO ALEGRE - RS**

Autor: Ingrid Emerim

**Trabalho apresentado à Faculdade de
Veterinária como requisito parcial para obtenção
da Graduação em Medicina Veterinária**

**Orientador: Prof^a Dra. Amanda de Souza da
Motta**

PORTO ALEGRE

2017/1

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais Marília e Gelson, pelo amor, pela confiança, pela paciência e compreensão pelos momentos em que estive ausente devido aos compromissos da faculdade.

Aos meus irmãos Eric e Marc, pelos bons exemplos, pelas risadas e pela parceria sempre.

Ao meu namorado Rodrigo, pelo constante incentivo e por sempre acreditar em mim, antes mesmo que eu mesma.

Aos meus colegas de curso, pelos chimarrões compartilhados, pelos estudos pré-prova, pelas risadas e por tornarem a faculdade mais leve ao lado de vocês.

Às minhas colegas de laboratório Maya e Larissa, por conseguirmos ter montado um time e, mais que isso, por ter descoberto em vocês amizade, apoio e companheirismo.

Ao grupo do laboratório 222-C, pelas dúvidas urgentes, ajudas e principalmente por sempre tornarem o estágio prazeroso.

À minha orientadora Amanda, pelo carinho, pela paciência, pelas oportunidades, pelo conhecimento e por sempre ter me recebido de braços abertos.

RESUMO

Os produtos fatiados são amplamente consumidos e são alimentos prontos para o consumo, tendo sua fase final de processamento em Laboratórios de Fiambreteria nas Redes de Supermercados. Por isso, fatores de risco como a alta manipulação desses produtos e o controle adequado do ambiente de manipulação devem ser considerados. Este trabalho teve o objetivo de avaliar as condições higiênico-sanitárias dos Laboratórios de Fiambreteria de diferentes redes de supermercado do município de Porto Alegre. Foram estudados seis Laboratórios de Fiambreira, nos quais foi aplicado um questionário para a avaliação das condições de trabalho. Também foram feitas coletas de amostras de alimentos (queijos e presuntos), suabes de superfície e suabes das mãos dos colaboradores. Foram observados problemas como falta de treinamento periódico dos funcionários, produtos de higienização vencidos, alguns alimentos fora do prazo de validade e em algumas situações falta de roupas adequadas por parte dos funcionários. Quanto as análises realizadas, as contagens padrão em placa apresentaram-se altas, bem como uma alta contagem de estafilococos coagulase negativos. Não foi encontrada *Salmonella* nem a espécie *Listeria monocytogenes*. Os níveis das contagens encontrados tanto nos alimentos, como nas mãos e superfícies, serão objeto de um trabalho por parte da Equipe de Vigilância de Alimentos do município de Porto Alegre, para buscar juntos as Redes de Supermercado, uma melhor sensibilização para a qualidade do ambiente, do processo e principalmente a higiene no operador. Isto de forma a oferecer produtos prontos para consumo em condições higiênico-sanitárias satisfatórias, assegurando a inocuidade dos alimentos e a saúde do consumidor.

Palavras-chave: queijos, presunto, laboratório de fiambreteria, qualidade microbiológica, boas práticas

ABSTRACT

Sliced products are widely consumed and are ready-to-eat foods, with their final stage of processing in Fiambreria Laboratories in Supermarket Chains. Therefore, risk factors such as high manipulation of these products and adequate control of the handling environment should be considered. This work had the objective of evaluating the hygienic-sanitary conditions of the Fiambreria Laboratories of different supermarket chains in the city of Porto Alegre. Six laboratories were studied, in which a questionnaire was applied to evaluate the working conditions. Samples of food (cheese and hams), surface swabs and swabs were also collected from the collaborators' hands. Problems such as lack of periodic training of employees, overdue hygiene products, some out-of-date foodstuffs, and in some situations lack of adequate clothing by employees have been observed. Regarding the analyzes performed, standard plaque counts were high, as well as a high coagulase negative staphylococcal count. *Salmonella* and the species *Listeria monocytogenes* were not found. The levels of the counts found in both food, hands and surfaces will be the object of work by the Food Surveillance Team of the city of Porto Alegre, to seek together the Supermarket chains, a better awareness of the quality of the environment, of the process and mainly the hygiene in the operator. This is to provide products ready for consumption under satisfactory hygienic-sanitary conditions, ensuring food safety and consumer health.

Key-words: cheese, ham, fiambreria laboratory, microbiological quality, good practices

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Resultados de questionário aplicado em 6 Laboratórios de Fiambreteria.....	16
Tabela 2. Resultados de Contagem Total em Placas de alimentos.....	18
Tabela 3. Resultados de Contagem Total em Placas de alimentos.....	19
Tabela 4. Contagem de <i>Staphylococcus aureus</i> coagulase positiva em superfície de mãos.....	21

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	7
2 MATERIAIS E MÉTODOS	9
2.1 Aplicação de Checklist aos Laboratórios de Fiambreteria	9
2.2 Coleta de amostras nos Laboratórios de Fiambreteria das redes de supermercado	9
2.2.1 Alimento.....	9
2.2.2 Superfície de contato.....	10
2.2.3 Mãos de manipulador.....	10
2.3. Análises microbiológicas realizadas	11
2.3.1 Contagem Total em Placas.....	11
2.3.2 Contagem Coliformes Termotolerantes.....	12
2.3.3 Contagem de estafilococos coagulase positiva.....	12
2.3.4 Pesquisa de <i>Salmonella</i> sp.....	13
2.3.5 Pesquisa de <i>Listeria monocytogenes</i>	14
2.4. Identificação de amostras por Maldi-tof	15
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	16
4 CONCLUSÕES	22
5 REFERÊNCIAS	23
ANEXO 1 – Questionário Aplicado em Laboratórios de Fiambreteria.....	25

1.INTRODUÇÃO

As doenças transmitidas por alimentos, também chamadas de DTA, têm alta incidência na população e representam um importante impacto na saúde pública. A segurança alimentar tem-se tornado cada vez mais desafiadora e muitos fatores contribuem para que os alimentos não sejam seguros e causem doenças. As causas principais são: o controle inadequado da temperatura durante o cozimento, do resfriamento e da estocagem; higiene pessoal insuficiente; contaminação cruzada entre produtos crus e processados e monitoramento inadequado dos processos (FORSYTHE, 2013).

O conceito de qualidade de alimentos, na visão do consumidor, corresponde à satisfação de características como sabor, aroma, aparência, embalagem, preço e disponibilidade (PINHEIRO et al, 2010). No entanto, a gravidade das DTAs é ocasionada por alimentos de aspecto e sabor normais, mas que possuem quantidades de patógenos suficientes para causar doenças. Isto, diferente das bactérias deteriorantes, que quando presentes, alteram as características do produto conferindo cor e sabor desagradáveis tornando-os facilmente rejeitados pelo consumidor.

Segundo Ministério da Saúde, existem mais de 250 tipos de DTAs e a maioria são infecções por bactérias, vírus e parasitas. As doenças transmitidas por bactérias, geralmente são divididas de acordo com sua forma de apresentação: infecção, intoxicação e toxinfecção. O primeiro grupo abrange as bactérias que conseguem colonizar e multiplicar-se no indivíduo acometido. O segundo é representado por bactérias que produzem toxina no alimento ou durante a sua passagem pelo trato intestinal. Já, a forma de toxinfecção é causada por bactérias patogênicas viáveis no alimento que produzem toxina após colonizar e multiplicar-se no hospedeiro.

A mudança dos hábitos alimentares da população através da procura por alimentos prontos para o consumo se tornou uma tendência atual pela constante busca pela praticidade e facilidade de obtenção. Entre eles, os alimentos fatiados têm grande importância pois são produtos consumidos mundialmente e muito utilizados em sanduíches e pratos quentes. Por serem produtos que serão consumidos sem passar por nenhum processo de cozimento, tornam-se possíveis veículos de patógenos. Salienta-se ainda que produtos lácteos, durante a sua fabricação, não passam por etapas de cozimento (ex: queijos), diferente dos de origem cárnea (ex: presunto). No entanto, segundo MACEDO et al (2014), nos setores de fatiamento,

muitas vezes, não há o controle ou a inspeção necessária, para garantir a segurança alimentar para os consumidores. Nesse ambiente, é fracionada grande quantidade de alimentos, e os produtos estão sujeitos ao risco de contaminação cruzada, tanto pelo manipulador como pelos utensílios e equipamentos empregados no processo.

Para obter-se um alimento seguro para a saúde é imprescindível que a matéria-prima seja de certificação e de boa qualidade. Como também, deve-se obter o menor grau de contaminação durante a manipulação. Para isso, é obrigatório que serviços de alimentação disponham de Manual de Boas Práticas e de Procedimentos Operacionais Padronizados (SILVA JÚNIOR, 2016). De acordo com a ANVISA (1993), Boas Práticas são normas de procedimento para atingir um determinado padrão de identidade e qualidade de um produto e/ou um serviço na área de alimentos, cuja eficácia e efetividade deve ser avaliada através de inspeção e/ou investigação. Já, os Procedimentos Operacionais Padronizados devem conter as instruções sequenciais das operações e a frequência de execução, especificando nome, o cargo e ou a função dos responsáveis pelas atividades. Entre elas os itens: higienização de instalações, equipamentos e móveis; controle integrado de pragas; antissepsia dos manipuladores e programa de recolhimento de alimentos e resíduos.

Portanto, esse trabalho teve como objetivo avaliar qualitativamente as condições higiênico-sanitárias de Laboratórios de Fiambreria de diferentes redes de supermercado de Porto Alegre juntamente com a Equipe de Vigilância em Alimentos (EVA) da Coordenadoria Geral de Vigilância em Saúde – Prefeitura de Porto Alegre. Também, foram analisadas superfícies, mãos de manipulador e fatiados lácteos e cárneos processados nestes locais afim de buscar-se os perfis microbiológicos da qualidade desses produtos prontos para o consumo.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. APLICAÇÃO DE CHECK-LIST AOS LABORATÓRIOS DE FIAMBRERIA

Foi preparado e aplicado questionário (Anexo 1) aos seis Laboratórios de Fiambreria dos supermercados visitados durante os meses de Janeiro à Julho de 2017. Para seleção dos locais foram escolhidas três redes de supermercado que atendem grande parte da população e duas unidades de cada uma. Por isso, para critério de identificação usou-se a denominação A, B e C para as redes de supermercado e 1 e 2 para as unidades respectivas.

O questionário foi subdividido em 5 aspectos para a coleta de informações, sendo elas informações gerais, específica da loja, sobre os equipamentos, sobre os funcionários e produtos fatiados. As entrevistas foram feitas com o funcionário responsável pelo setor ou gerente presente no horário da visita.

2.2 COLETA DE AMOSTRAS NOS LABORATÓRIOS DE FIAMBRERIA DAS REDES DE SUPERMERCADO

As coletas foram realizadas junto com a Equipe de Vigilância em Alimentos da Coordenadoria Geral de Vigilância em Saúde – Prefeitura de Porto Alegre. Foi coletado material dos principais pontos de riscos de contaminação que foram de alimentos, superfície de contato com alimento e mãos de manipulador. Para a coleta das amostras, a metodologia adotada foi prescrita pela Instrução Normativa 62, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA).

2.2.1 Alimento

Para esta coleta selecionaram-se os produtos lácteo e cárneo que eram fatiados em maior volume na unidade. Foram coletados duas peças inteiras lacradas e 100g de seus respectivos fatiados de cada Laboratório de Fiambreria visitado. Tanto a peça inteira quanto os fatiados foram armazenados em caixa isotérmica com gelo para transporte munidos de suas embalagens individuais e originais nas quais seriam comercializadas. As análises feitas para alimento foram Contagem Total em Placas, Contagem de Coliformes Termotolerantes,

Contagem de Estafilococos coagulase positiva, Pesquisa de *Salmonella* sp. e Pesquisa de *Listeria monocytogenes*.

2.2.2 Superfície de contato

Para esta coleta, foram selecionadas as áreas de maior contato com os alimentos sendo elas o equipamento fatiador e a bancada anexa a ele onde eram apoiadas as peças a serem fatiadas. Foi feita distinção dos equipamentos usados para fatiar somente produtos cárneos dos lácteos nas unidades que manipulavam desta forma.

A técnica do suabe foi utilizada para coleta de amostras de superfície. Foram usados suabes estéreis de algodão com haste de 12 cm de comprimento, umedecidos em água peptonada estéril 0,1% (Merk, São Paulo, Brasil) e friccionados contra a superfície de fatiador e bancada por três vezes no sentido vai-e-vem em uma área de 100 cm². Para acondicionamento e transporte dos suabes foram usados tubos de 10 ml contendo meio solução diluente (água peptonada 0,1% estéril) e para as amostras de pesquisa para *Listeria* caldo de enriquecimento para *Listeria* (UVM) (Himedia, Mumbai, Índia) . Durante o momento da coleta foram usadas luvas descartáveis. Para as análises de superfície foram feitas Contagem Total em Placas, Contagem de Coliformes Termotolerantes, Contagem de Estafilococos coagulase positiva e pesquisa de *Listeria monocytogenes*.

2.2.3 Mãos de manipulador

Selecionou-se o manipulador presente no momento da visita ao supermercado. O manipulador foi reconhecido como funcionário do supermercado ou promotor das indústrias alimentícias que estavam naquele momento manuseando os produtos. As coletas foram feitas após o manipulador ter higienizado ambas as mãos. A higiene era feita em locais específicos para isso, com utilização de torneiras com acionamento automático, sabonete líquido para antissepsia das mãos e papel toalha descartável para secar as mãos. Os funcionários geralmente lavavam as mãos ao começar a trabalhar.

O coletador, fazendo uso de luvas descartáveis, usou suabe umedecido na solução diluente e friccionou-o contra a superfície do manipulador abrangendo a área palmar das mãos, interdígitos e unhas. Para acondicionamento da coleta usou-se tubos de 10 ml com solução diluente (água peptonada 0,1 % estéril (Merk))). Para as análises de mãos foram feitas

Contagem Total em Placas, Contagem de Coliformes Termotolerantes, Contagem de Estafilococos coagulase positiva.

Após a coleta, todos os tubos foram identificados e armazenados em caixa isotérmica com gelo e transportados imediatamente ao laboratório de microbiologia ICBS- UFRGS para processamento.

2.3 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS REALIZADAS

O processamento foi realizado com objetivo de traçar um padrão microbiológico e avaliar padrão sanitário das amostras coletadas. Para isso, foram realizadas contagem total, contagem de estafilococos coagulase positiva, contagem de coliformes fecais a 45°, Pesquisa de *Salmonella* sp. e *Listeria monocytogenes*. A metodologia aplicada para o processamento das amostras foi baseada no Instrução Normativa 62, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA).

2.3.1 Contagem Total em Placas

Para a contagem total foram analisadas todas as amostras coletadas, sendo elas provenientes de alimento, superfície e mãos de manipulador. Para isso, foi identificado todo os materiais, entre eles, tubos para diluição e placas com meio de cultura Ágar Padrão para Contagem (PCA) (Kasvi, Curitiba, Paraná).

Para as amostras de alimento, tanto peça quanto fatiado, utilizou-se para primeira diluição (10^{-1}) 25 g de cada produto adicionados a 225 ml de água peptonada 0,1% estéril (Merk). Após agitação, 1 ml da amostra foi diluída em tubos 9 ml de água peptonada 0,1% (Merk) estéril até diluição 10^{-5} . Já, para as amostras de superfície e mão, os tubos de coleta caracterizaram-se como diluição 10^0 e passaram por diluição semelhante até 10^{-2} e 10^{-1} , respetivamente.

Para a contagem em placa, utilizou-se a técnica spread-plate através da semeadura em superfície de 0,1 ml de cada diluição para as placas em duplicata e espalhadas uniformemente sobre a superfície do meio com alça de Drigalsky. As placas foram incubadas invertidas à 36°C por 48 h.

Para a leitura, as placas de PCA (Kasvi) foram selecionadas a partir do critério de contagem. Dessa forma, contaram-se - com auxílio de um contador de colônias- as placas que continha m entre 25 e 250 colônias. Para a expressão dos resultados, calculou-se a média das duplicatas provenientes da contagem em placa multiplicados pela respectiva diluição. Este resultado foi ainda multiplicado por um fator de correção de valor 10 para as amostras de alimento e mãos. Os resultados das contagens foram expressos em UFC/g para as amostras de alimento, UFC/cm² para superfícies e UFC/mãos para superfície de mãos.

2.3.2 Contagem de Coliformes Termotolerantes

Este método foi aplicado em todas as amostras coletadas. O meio de cultura Cristal Violeta Vermelho Neutro Bile (VRBA) para contagem de coliformes fermentadores de lactose presentes nas amostras. O meio foi aquecido até completa dissolução e mantido a 44-45°C para ser vertido. Identificou-se as placas estéreis em duplicata e, em câmara de fluxo laminar, foi inoculado 1ml de cada diluição e vertido VRBA. Em seguida, foi feito movimentos em sentido circular para homogeneizar o inóculo com o agar. Depois de solidificado, foi vertido ainda uma sobrecamada de VRBA e incubados por 24 h em estufa à 36°C.

Após o crescimento, selecionaram-se colônias típicas caracterizadas pela coloração rósea e foram passadas para Caldo EC (Merk, São Paulo, Brasil) como prova confirmativa. Após 24 h em banho-maria à temperatura de 45°C, observou-se a turvação e formação de gás nos tubos Durhan.

Para a leitura, as placas de VRBA (Acumedia) foram selecionadas a partir do critério de contagem. Dessa forma, contaram-se - com auxílio de um contador de colônias - as placas que continham entre 25 e 250 colônias. Para a expressão dos resultados, calculou-se a média das duplicatas provenientes da contagem em placa multiplicados pela respectiva diluição. Este resultado foi ainda multiplicado por um fator de correção de valor 10 para as amostras de alimento e mãos. Os resultados das contagens foram expressos em UFC/g para as amostras de alimento, UFC/cm² para superfícies e UFC/mãos para superfície de mãos.

2.3.3 Contagem de Estafilococos Coagulase Positiva

Este método foi aplicado em todas as amostras coletadas. Usou-se o meio de cultura Baird Parker (Nebotrade, Budapeste, Hungria) para isolamento e diferenciação e *Staphylococcus* spp.. A metodologia aplicada foi semelhante à Contagem Total em Placas, através da técnica spread-plate para a contagem. As placas foram incubadas invertidas à 36°C por 48 h.

Após crescimento, selecionou-se 3 colônias típicas, caracterizadas por serem colônias enegrecidas com formação de halo transparente e outro de precipitação, e 3 colônias atípicas de cada diluição. Estas colônias foram submetidas ao teste da catalase e gram para confirmação e, em seguida, ao teste da coagulase.

O teste da coagulase foi feito por recomendações do MAPA, com modificações. Foi transferido 0,1 ml de cada tubo de cultivo em TSA (Himedia, Mumbai, Índia) para tubos estéreis contendo 0,1 ml de plasma de coelho. Foram considerados positivos os tubos que apresentaram formação de coágulo 3+ e 4+. As colônias confirmadas, portanto, devem ser cocos gram positivas, catalase positivas e coagulase positiva.

Para a leitura, as placas de Baird Parker (Nebotrade) foram selecionadas a partir do critério de contagem. Dessa forma, contaram-se - com auxílio de um contador de colônias - as placas que continham entre 25 e 250 colônias. Para calcular dos resultados, fez-se a média das duplicatas provenientes da contagem em placa multiplicados pela respectiva diluição. Este resultado foi ainda multiplicado por um fator de correção de valor 10 para as amostras de alimento e mãos. Os resultados das contagens foram expressos em UFC/g para as amostras de alimento, UFC/cm² para superfícies e UFC/mãos para superfície de mãos.

Quando não se confirmaram todas as colônias através de gram, catalase e coagulase, foi feito um segundo cálculo de acordo com a fórmula:

$$Rt = \frac{C \times c \times d}{R}$$

Onde “Rt” é o resultado para colônias típicas; “C” é o número de colônias contadas, “c” é o número de colônias confirmadas, “d” é a diluição e “R” é o número de colônias repicadas.

Essa mesma fórmula é aplicada para as colônias atípicas. Os resultados finais expressos foi a soma das colônias típicas e atípicas confirmadas.

2.3.4 Pesquisa de *Salmonella* sp.

Para esta técnica avaliou-se as amostras de alimento, sendo elas fatiados e peça de produtos cárneo e lácteo. Nesta avaliação, foi realizado um pré-enriquecimento em 25 g de cada produto diluídos em 225 ml de Água peptonada tamponada 0,1% estéril (Merk). Foram incubadas em estufa à temperatura de 36°C. Após 24 h, o enriquecimento foi feito através da passagem de 1 ml deste inóculo para o caldo de enriquecimento Tetrionato (Acumedia). Este foi incubado à 41°C em banho-maria por 24 h. Após, foi feito o isolamento e seleção através da semeadura em placas com o meio de cultura Xilose-lisina-desoxicolato (XLD) (Acumedia) para última incubação de 24 h em temperatura de 35°.

As colônias de *Salmonella* se caracterizam pelo crescimento de cor vermelho-amareladas com centros pretos do meio XLD (Acumedia). Para confirmação, as colônias que apresentam esse crescimento são submetidas ao teste de gram e catalase devendo ser bacilo gram negativo e catalase negativo.

2.3.5 Pesquisa de *Listeria monocytogenes*

Nesta pesquisa, utilizou-se as amostras de alimento e superfície. Das amostras alimento foram selecionadas 25 g de cada produto e diluídos (10^{-1}) em 225 ml de caldo de enriquecimento para *Listeria* (UVM) (Himedia, Mumbai, Índia). Já, para a primeira diluição de superfície foram considerados os tubos com caldo de enriquecimento utilizados para a coleta (10^0). Ambas diluições foram incubadas por 24 h em estufa à 30°. Após, foram inoculados 0,1 ml de cada amostra para tubos com caldo Fraser de 10 ml e incubados por 48 h à 30°C. Depois de enriquecidas, foram inoculadas em placas de meio de cultura Palcam (Merk), as amostras cuja origem eram de produto cárneo, e em meio Oxford (Acumedia) todas as amostras. Após incubação por 24 h em temperatura de 30°C, foram selecionadas as colônias típicas, caracterizadas pelo crescimento de cor preta em Oxford (Acumedia) e cinzas com halos escuros ao redor em meio Palcam (Merk). Essas colônias selecionadas foram submetidas à confirmação por teste da catalase e gram, se confirmando quando bacilo curto gram e catalase positivos.

Em seguida, foram feitos alguns testes bioquímicos como a verificação de motilidade, prova do vermelho de metila (VM), fermentação de carboidratos como a xilose, ramnose e manitol. Para a prova de motilidade foi utilizado o meio SIM e incubado a temperatura de

25°C por 5 dias. Foram consideradas amostras positivas as que obtiveram crescimento característico em forma de guarda-chuva. Foram inoculados meios com caldo VM e incubados em estufa 36°C por 5 dias. Após, foi adicionado solução de vermelho de metila para realização do teste. Foram considerados positivos os que formaram halo vermelho na superfície do caldo. Já, para os caldos xilose, ramnose e manitol foram inoculados e incubados à 30°C por 36 h. A viragem de cor do indicador vermelho de fenol para amarelo indicar a fermentação do açúcar presente.

2.4. IDENTIFICAÇÃO DE AMOSTRAS POR MALDI- TOF

A partir do crescimento em TSA, 1 colônia de cada isolado ou aproximadamente (5-10 mg de material) foi inoculada em tubo Ependorff, com 300 µL de água Milli-Q. Homogeneizar-se-á com vórtex. A seguir, foram adicionados 900 µL de etanol. Após centrifugação a velocidade de ≥ 13.000 rpm, durante 2 min. Centrifugou-se mais uma vez, cuidadosamente, sem perturbar o sedimento. Retirou-se a fração do álcool e foi deixado o complexo etanol-pellet secar a temperatura ambiente, durante dois a três minutos. Adicionou-se ácido fórmico 70% (25 µL) ao sedimento e misturou-se bem por pipetagem e/ou vórtex. Foi adicionado acetonitrila pura (25 µL) e misturado novamente por vórtex. Centrifugou-se durante 2 minutos à velocidade ≥ 13.000 rpm, de tal forma que todo o material seja recolhido num pellet. Após pipetar 1 µL de sobrenadante sobre uma placa MALDI e foi deixado secar completamente à temperatura ambiente, após aplicar 1 µL de solução HCCA e esperou-se secar a temperatura ambiente

As análises foram realizadas em um aparelho MALDI Biotyper 4.0, software MBT OC.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Através do questionário realizado nas visitas constatou-se que todos os Laboratórios de Fiambreteria fatiam tanto produtos lácteos quanto cárneos. O mais fatiado entre eles é o queijo mussarela (83,33% das unidades elencaram como o mais fatiado) e em segundo lugar o presunto cozido (Tabela 1). O volume médio de produtos fatiados, não levando em consideração a sua origem, na rede A é de 162,5 Kg/dia, na rede B é de 59 Kg/dia e na rede C é de 34 Kg/dia. Esses números revelam a importância de manter a qualidade sanitária desses produtos, uma vez que chegam em alta quantidade para consumo direto da população.

Tabela 1 – Resultados de questionário aplicado em 6 Laboratórios de Fiambreteria

Perguntas	Frequência de respostas (%)
Uso de apenas um fatiador	66,66%
Fazem limpeza fatiador	83,33%
Apresentam danos nos equipamentos e bancadas	33,33%
Local equipado para lavagem de mãos	100%
Proteções de portas e luminárias	100%
Má condição do condensador	66,66%
Temperatura do LF > 12° C	83,33%
Temperatura câmaras de armazenamento < 7 °C	100%
Declaram alta rotatividade de funcionários	66,66%
Fornecimento de treinamento	100%
Uso de uniformes e luvas	100%
Lavagem de mãos e troca de luvas entre produtos	83,33%
Uso de detergentes e sanitizantes vencidos	33,33%
Peças fatiadas dentro da validade	100%
Avaliação qualitativa geral da unidade: ruim	50%

LF: Laboratórios de Fiambreteria

Como aspecto positivo, foi possível perceber que os funcionários detêm informações corretas sobre a higienização das mãos, bem como todos apresentavam locais adequados para fazê-lo. Entre os entrevistados, 83,33% alegaram que lavam as mãos e trocam as luvas entre cada produto fatiado, o que se torna relevante quando é fatiado no mesmo turno diferentes produtos. Sabe-se que é fornecido treinamento para todos os funcionários, porém, somente 66,66% declararam existir alguma periodicidade nas capacitações. Isso significa que 33,33% dos Laboratórios de Fiambreteria visitados fornecem treinamento somente no período de contratação do funcionário. Quando associado à rotatividade de funcionários, nos quais 66,66% dos entrevistados declaram alta, se torna mais difícil de manter o nível adequado de Procedimentos Operacionais Padronizados.

As temperaturas de armazenamento dos produtos estavam de forma correta, mantendo os produtos em temperatura inferior à 7°C. Mas quando observou-se as temperaturas mantidas nos Laboratórios de Fiambreteria percebeu-se uma quebra na continuidade da cadeia do frio. De acordo com o questionário, 83,33% dos locais fatiam em temperatura maior que 12°C. O aumento de temperatura pode levar a uma maior multiplicação de micro-organismos pondo em risco a qualidade sanitária dos alimentos. Como aspecto negativo, foi possível perceber falhas na higienização de superfícies ao observar que 33,33% dos locais usaram produtos para desinfecção fora do período de validade. Como também, 66,66% fazem uso de apenas um fatiador para processar produtos de diferentes origens. Essas ações remetem à maiores riscos de contaminação cruzada entre diferentes produtos.

Os aspectos gerais das unidades foram avaliados entre péssimo, ruim, regular, bom e excelente. Entre as 6 unidades, 50% foram avaliadas como ruins, 16,66% como regulares e 33,33% como ruins. A avaliação como “ruim” se deu em função de muitas unidades apresentarem aspectos qualitativos ruins como presença de poças d’água, paredes e estruturas gerais deterioradas e odores fortes provenientes de umidade. Quanto a avaliação do condensador 66,66% apresentaram estar em más condições, muitas vezes não sendo feita as devidas manutenções (Tabela 1).

Quanto as análises de amostra de alimento, foi detectada alta contagem em placas em 45,8% das amostras coletadas dos 6 diferentes supermercados (Tabela 2). Segundo SILVA JÚNIOR (2016), a contagem total de alimentos quando em valores acima de 3×10^5 UFC/g podem indicar exposição à contaminação ambiental, permanência prolongada em temperatura ambiente e armazenamento em temperatura inadequada de refrigeração. Uma vez que o ágar PCA permite o crescimento tanto de micro-organismos patógenos quanto de deteriorantes,

esse dado reflete sobre a carga microbiana total do alimento estudado. Estocagem e resfriamento em temperaturas inadequadas compreendem cerca de 75% das causas de doenças de origem alimentar (FORSYTHE, 2013).

Ao observar a origem das amostras de alimento em peça, percebeu-se que as de origem carne possuem menor contagem quando comparadas às lácteas (Tabela 2). Essa baixa contagem se deve ao fato de ser condicionada pelo cozimento que esse produto sofre durante sua industrialização (MAPA, 2000). Portanto, o produto comercializado como peça inteira de presunto cozido não apresentou crescimento de mesófilos. Enquanto que a partir do momento da manipulação, passou a ter contagem expressiva.

Tabela 2 - Resultados de Contagem Total em Placas de alimentos

Amostras	Laboratórios de Fiambreteria					
	A1	A2	B1	B2	C1	C2
Queijo Peça	4×10^4	$>2,5 \times 10^4$	$2,2 \times 10^6$	$2,2 \times 10^6$	$8,8 \times 10^6$	$2,1 \times 10^6$
Queijo Fatiado	$6,7 \times 10^6$	$3,6 \times 10^7$	$4,3 \times 10^6$	$1,2 \times 10^6$	$5,1 \times 10^6$	$5,2 \times 10^5$
Presunto Peça	$<1 \times 10^1$	$<1 \times 10^1$	$<1 \times 10^1$	$<1 \times 10^1$	$<1 \times 10^1$	$<1 \times 10^1$
Presunto Fatiado	$2,9 \times 10^4$	$3,4 \times 10^3$	1×10^4	$8,8 \times 10^3$	$9,7 \times 10^4$	$5,3 \times 10^3$

Resultados expressos em UFC/g.

Em nenhuma das amostras de alimentos, sendo elas peças ou fatiados, foram isolados *Staphylococcus aureus* coagulase positiva, coliformes termotolerantes e *Salmonella sp.* Embora tenham sido isolados grande número de colônias coagulase negativas, levou-se em consideração apenas as positivas por exigência da Instrução Normativa nº 12 (2001, ANVISA). Para coliformes, de forma semelhante, obteve-se altas contagens de coliformes totais porém, o preconizado por essa legislação é a contagem somente dos termotolerantes. Apenas no supermercado E foi isolada *Listeria innocua*, identificada pelo Maldi-tof, no presunto e queijo fatiados.

Para superfícies, as análises microbiológicas são fundamentais para conhecer as condições de higiene em que o alimento foi preparado, bem como os riscos que este poderá oferecer à saúde do consumidor e se o mesmo alcançará ou não a vida útil de prateleira para ele programada (NOGUEIRA, 2016).

Na legislação brasileira não há parâmetros microbiológicos oficiais para superfícies de equipamentos e utensílios utilizados no processamento de alimentos, bem como para as mãos de manipuladores (SOUSA, 2011). Por esse motivo, buscou-se critérios internacionais para análise de mãos e superfícies. Para contagem padrão em placas a American Public Health Association (APHA) considera satisfatório a contagem menor ou igual a 2 UFC/cm². Já, a Organização Panamericana da Saúde (OPAS) avalia como satisfatório a contagem menor que 50 UFC/cm², valor também adotado por SILVA JÚNIOR, 2016.

Então, para fins comparativos, utilizando os critérios da OPAS, observou-se que 87,5% das amostras de bancada e fatiador foram consideradas insatisfatórias (Tabela 3). Os alimentos são contaminados mediante contato com utensílios, superfícies e equipamentos insuficientemente limpos (PINHEIRO, 2010). Por isso, a falta ou incorreta limpeza e desinfecção dos equipamentos e superfícies utilizados para a manipulação do alimento os tornam potenciais pontos de risco à qualidade deste. Aliados a isso, foram encontrados em 2 supermercados produtos utilizados para esses fins fora da validade. Portanto, essa informação questiona não só a realização da limpeza, mas também, a qualidade e eficácia desta.

Tabela 3 – Resultados de Contagem Total em Placas de superfície e mãos

Amostras	Laboratórios de Fiambreteria					
	A1	A2	B1	B2	C1	C2
Bancada p/ Presunto	56	-	1,08 x 10 ³	-	-	-
Bancada p/ Queijo	>250	-	2,1 x 10 ²	-	-	-
Bancada Mista	-	>250	-	4,95 x 10 ³	<1 x 10 ¹	6 x 10 ¹
Fatiador de Presunto	24	-	>250	-	-	-
Fatiador de Queijo	>250	-	4,5 x 10 ²	-	-	-
Fatiador Misto	-	1,19 x 10 ²	-	6,49 x 10 ³	2,87 x 10 ²	4,9 x 10 ³
Mãos de Manipulador	2,35 x 10 ³	8,67 x 10 ³	2,6 x 10 ²	1,32 x 10 ⁴	2,2 x 10 ³	3,45 x 10 ³

Resultados expressos em UFC/cm² para amostras de superfície e UFC/mãos para mãos. As amostras de caráter “misto” são as superfícies usadas para manipular tanto alimentos cárneos quanto lácteos usados em algumas das unidades visitadas.

Muitos estabelecimentos visitados trabalham com somente um fatiador para todos os produtos manipulados. Através dos resultados, percebemos que embora algumas unidades trabalhem com equipamentos diferentes para cada origem de alimento, o grau de contagem foi elevado independente desse fator. Sabendo que o uso de um único equipamento pode levar a uma contaminação cruzada entre os produtos, o uso diferenciado seria uma forma de diminuir os pontos de possíveis riscos ao alimento.

Segundo o Ministério da Saúde, entre os agentes etiológicos que causaram DTA's no Brasil está em segundo lugar o *Staphylococcus aureus*. Entre suas diversas formas de patogenicidade, as enterotoxinas são aquelas responsáveis pelas intoxicações alimentares. De acordo com a Instrução Normativa n° 12 (ANVISA, 2001), serão consideradas de interesse público somente os *Staphylococcus aureus* coagulase positiva pois há uma forte correlação entre a capacidade de coagulação com a produção da toxina. Esta é capaz de causar sintomatologia como náuseas, cólicas abdominais, vômito, abatimento e diarreias quando ingerido em grandes quantidades.

Os estafilococos estão presentes no ambiente, nas superfícies e nos alimentos. No entanto, seu maior reservatório são os humanos e animais estando presente nas vias aéreas, pele e cabelo de indivíduos saudáveis. Assim, alimentos muito manipulados, como é o caso dos produtos fatiados, estão mais sujeitos a contaminação por esse agente. Nas análises de superfícies, tanto para bancadas como fatiadores, não foi isolado *Staphylococcus aureus* coagulase positiva.

Para as análises de mãos, segundo SILVA JÚNIOR (2016), são consideradas satisfatórias as contagens até 100 UFC nas duas mãos. Portanto, levando em consideração que as amostras foram coletas de manipuladores que haviam lavado as mãos, 50% foram consideradas insatisfatórias devido à higiene de mãos deficiente (Tabela 4).

Tabela 4 – Contagem de *Staphylococcus aureus* coagulase positiva em superfície de mãos

Supermercados	UFC/mãos	Classificação
A1	$1,15 \times 10^3$	insatisfatório
A2	$<1 \times 10^1$	satisfatório
B1	70	insatisfatório
B2	$4,2 \times 10^2$	insatisfatório
C1	$<1 \times 10^1$	satisfatório
C2	$<1 \times 10^1$	satisfatório

Foi utilizado, para fins comparativos, satisfatório até 100 UFC/mãos (SILVA JÚNIOR, 2016).

A procura por micro-organismos indicadores de contaminação fecal são fundamentais para a avaliação de manipulação de alimentos. De acordo com SILVA JÚNIOR (2016), se preconiza a ausência de micro-organismos potencialmente patogênicos ou indicadores de contaminação fecal nas análises de superfície e mãos. Das superfícies avaliadas, apenas 3 apresentaram isolamento confirmatório pelo caldo EC, correspondendo a 13,7% das amostras. Dentre elas foram consideradas insatisfatórias as duas bancadas do supermercado A1 e bancada para queijo do supermercado B1.

Em nenhuma das amostras de superfície, sendo elas bancadas ou fatiadores, foram isolados *Salmonella* sp. e *Listeria monocytogenes*.

4. CONCLUSÕES

Os resultados das análises microbiológicas demonstraram que embora os funcionários detenham a informação correta dos procedimentos de higienização, ela ainda é inadequada. As altas contagens em placa confirmam que há crescimento bacteriológico nas superfícies de bancada, fatiador e mãos dos manipuladores. Mesmo que não tenham sido encontrados microorganismos patogênicos em grande escala nas amostras de alimento, as superfícies e mãos contaminadas são importantes fontes a serem consideradas como riscos ao alimento. A alta rotatividade de funcionários também influencia para esses resultados, pois quando há um fluxo grande de pessoas se torna mais difícil de manter um procedimento dentro dos padrões de operacionalização pré-estabelecidos. Por isso, a higienização das mãos e superfícies devem ser constantemente observadas. Além disso, deveria haver uma periodicidade de cursos instrutivos de boas práticas a serem tomadas dentro de locais que manipulam alimentos.

Os Laboratórios de Fiambreria que empregam apenas um equipamento para fatiar os produtos também ficam mais predispostas a oferecerem risco aos alimentos a serem fatiados, uma vez que não sejam bem higienizados. Por isso, a adoção de equipamentos usados com diferenciação quanto a origem dos alimentos eliminaria essa hipótese; atrelado é claro a procedimentos de limpeza e sanitização adequados e periódicos, considerando os turnos de trabalho e o volume de produtos fatiados.

Neste sentido, observa-se a necessidade de esforços conjuntos da equipe de vigilância de alimentos e das redes de supermercado, em especial do Setor de Fiambreria, que sejam observados os cuidados a serem destinados a alimentos perecíveis e prontos para consumo, como queijo e presunto fatiados. Isto pois podem ser o veículo de uma diversidade de bactérias patogênicas e deteriorantes, que poderão pôr em risco a saúde da população e a vida de prateleira dos produtos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria nº 1428, de 26 de novembro de 1993. Aprova o regulamento técnico para inspeção sanitária de alimentos, as diretrizes para o estabelecimento de boas práticas de produção e de prestação de serviços na área de alimentos e o regulamento técnico para o estabelecimento de padrão de identidade e qualidade para serviços e produtos na área de alimentos. *Diário Oficial [da] União; Poder Executivo*, Brasília, DF, de 02 de dezembro de 1993. Disponível em: <
http://portal.anvisa.gov.br/documents/Portaria_MS_n_1428_de_26_de_novembro_de_1993 >
Acesso em: 08 jul. 2017.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução de Diretoria Colegiada nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Aprova o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. *Diário Oficial [da] União*, Poder Executivo, Brasília, DF, 10 de janeiro de 2001, nº 7, seção 1, p. 45-53. Disponível em: <
<http://portal.anvisa.gov.br/legislacao#/visualizar/26655>> Acesso em: 21 jul. 2017.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 20, de 31 de julho de 2000. Aprova os regulamentos técnicos de identidade e qualidade de almôndega, de apesuntado, de fiambre, de hambúrguer, de kibe, de presunto cozido e de presunto. *Diário Oficial [da] União*. Brasília, DF, Seção 1, p. 7 -12.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. Oficializa métodos analíticos para controle de produtos de origem animal e água. *Diário Oficial [da] União*. Brasília DF, Seção 1, p. 14. Anexo – Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água.

BRASIL. Ministério da Saúde. Descrição de doenças transmitidas por alimento. Secretaria de Vigilância em Saúde. Brasília, Centro de Documentação, 2007. Disponível em:
<http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/o-ministerio/principal/secretarias/svs/doencas-transmitidas-por-alimentos-dta>> Acesso em 28 de jul. 2017

FORSYTHE, Stephen. J. **Microbiologia da segurança dos alimentos**. 2 ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 607 p.

MACEDO, S. F.; OLIVEIRA, D. C.; MOREIRA, A. P. B.; FONSECA, C. S.; VIEIRA, E. N. F. Análise microbiológica de presuntos fatiados comercializados na cidade de Viçosa, MG. *Anais VI SIMPAC*, Viçosa, v. 6, n. 1, dez. 2014.

PINHEIRO, M. B.; WADA, T. C.; PEREIRA, C. A. M. Análise microbiológica de tábuas de manipulação de alimentos de uma instituição de ensino superior em São Carlos, SP. **Revista Simbio-logias**, Botucatu, v. 3, n. 5, dez. 2010.

SILVA JÚNIOR, E. A. **Manual de controle higiênico sanitário em serviços de alimentação**. 7 ed. São Paulo: Livraria Varela, 2014.693 p.

SOUSA, C. L.; FREITAS, J. A.; LOURENÇO, L. F. H.; ARAUJO, E. A. F.; SOUZA, J. N. S. Avaliação da qualidade microbiológica no processamento de pescados. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**. São Paulo, v. 70, n. 2, 2011.

ANEXO 1 – Questionário aplicado em Laboratórios de Fiambreteria

Informações gerais:

- 1- Data da visitação (incluindo dia da semana):_____.
- 2- Rede de Supermercado:_____.
- 3- Loja:_____.
- 4- Central de fatiamento na própria loja: ()sim () não. Se não, onde é feito o fatiamento?
_____.

Informações específicas da loja:

- 1- Quais produtos são fatiados?_____.
- 2- Qual o volume (diário ou semanal) de produtos fatiados?_____.
- 3- Qual o produto que é mais fatiado entre todos?_____.
- 4- Qual é o período do dia em que é feito o fatiamento?_____.
- 5- Qual a frequência semanal do fatiamento?_____.
- 6- Qual o tempo médio na rotina que demora para fatiar todos os produtos?_____.
- 7- Qual o tempo médio exigido para fatiar somente um produto? _____.
- 8- Qual o tempo de exposição das peças inteiras fora de refrigeração?_____.

Sobre os equipamentos:

- 1- O mesmo equipamento é usado para fatiar produtos lácteos e cárneos? ()sim () não
- 2- Como é feita a limpeza desses equipamentos?_____.
- 3- É feita a limpeza entre cada produto fatiado? ()sim () não. Qual a frequência da limpeza dos equipamentos?_____.
- 4- Os equipamentos são novos? () sim () não. Estão apresentando algum tipo de dano aparente como oxidação, amassados...? ()sim () não
- 5- As bancadas são novas? ()sim () não. Estão apresentando algum tipo de dano aparente como oxidação, rachaduras, danos estruturais...?()sim () não.
- 6- São utilizados utensílios auxiliares como facas, espátulas...? ()sim () não. Qual e de que material é feito?_____.

- 7- Como é feita a limpeza desses utensílios? _____ E com que frequência? _____.
- 8- A unidade passou por algum tipo de reforma ultimamente? ()sim ()não
- 9- Existe local para lavar as mãos? ()sim ()não. A torneira tem acionamento automático ou pedal? () sim ()não. Sabonete líquido? () sim ()não Álcool gel? () sim ()não Há papéis descartáveis para secar as mãos? () sim ()não
- 10- Ao observar torneiras, dispensers de sabonete líquido, papel ou álcool gel, como eles se encontram? () muito sujos () sujos () limpos
- 11- Quais as condições de paredes/ piso / teto da sala?
- 12- Há barreiras físicas como proteções nas portas que protegem o setor? () sim ()não
- 13- Condições de conservação e higiene do condensador?
- 14- As luminárias possuem proteção contra queda e explosão? () sim ()não

Aspectos gerais da unidade:

- 1- Qual o aspecto qualitativo geral da unidade? () excelente () bom () regular () ruim () péssimo
- 2- Temperatura na sala: _____ °C
- 3- Temperatura nas câmaras: _____ °C
- 4- Temperatura nos refrigeradores: _____ °C
- 5- Entre as pessoas que trabalham na unidade todas são funcionários do supermercado? ()sim ()não. Se não, quem são? _____.

Informações sobre os funcionários:

- 1- Qual o número de pessoas que trabalham na unidade de fatiamento? _____.
- 2- Qual a rotatividade de funcionários no setor? _____.
- 3- É oferecido algum tipo de treinamento ou capacitação para trabalhar neste setor? ()sim ()não. Se sim, é uma capacitação ()geral para o supermercado ou ()específica para o setor de fatiamento. Envolve tanto () promotores quanto () funcionários?
- 4- Qual a periodicidade deste treinamento? _____.
- 5- Os funcionários apresentam boa higiene pessoal (barbeados, unhas curtas e limpas, sem adornos.)? ()sim ()não.
- 6- Os funcionários estão uniformizados? ()sim ()não.
- 7- O uniforme é composto por: ()touca ()jaleco ()calça comprida ()sapato fechado ()uniforme claro ()sem botões e bolsos ()luvas ()máscara

8- A lavagem de mãos é feita com que frequência e em que momento (ex.: antes ou depois do uso de luvas)?_____.

Sobre os produtos fatiados:

1- A peça que será fatiada está dentro do prazo de validade esperado pela indústria? ()sim ()não

2- Qual o prazo de validade estimado para os produtos fatiados que serão comercializados no balcão/embalagem própria?_____.

3- Essa validade de produto fatiado é condizente com a validade da peça inteira? ()sim ()não

4- Quando o produto é fatiado em local fora do mercado, como é feito o transporte deste produto?_____. E quando ele é feito (periodicidade e horário)?_____.

5- Qual a frequência da reposição dos produtos de balcão?_____.

6- Qual a temperatura do balcão onde são mantidas os fatiados à granel?_____°C