



Acta Scientiarum. Biological Sciences

ISSN: 1679-9283

eduem@uem.br

Universidade Estadual de Maringá

Brasil

Destri, Kelli; Bairros, Jacqueline; Languer Vargas, Bianca; Silva Nascente, Patrícia da; Burkert Del Pino, Francisco Augusto; Guerra Lund, Rafael

Análise microbiológica de doces de leite vendidos em feiras livres de Pelotas, Estado do Rio Grande do Sul

Acta Scientiarum. Biological Sciences, vol. 31, núm. 2, 2009, pp. 153-157

Universidade Estadual de Maringá

.png, Brasil

Disponível em: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=187115790006>

- Como citar este artigo
- Número completo
- Mais artigos
- Home da revista no Redalyc

redalyc.org

Sistema de Informação Científica

Rede de Revistas Científicas da América Latina, Caribe , Espanha e Portugal
Projeto acadêmico sem fins lucrativos desenvolvido no âmbito da iniciativa Acesso Aberto

Análise microbiológica de doces de leite vendidos em feiras livres de Pelotas, Estado do Rio Grande do Sul

Kelli Destri, Jacqueline Bairros¹, Bianca Languer Vargas¹, Patrícia da Silva Nascente¹, Francisco Augusto Burkert Del Pino² e Rafael Guerra Lund^{2*}

¹Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil. ²Departamento de Bioquímica, Instituto de Química e Geociências, Universidade Federal de Pelotas, s/n, Cx. Postal 354, 96010-900, Campus Universitário, Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil. *Autor para correspondência. E-mail: rafael.lund@gmail.com

RESUMO. O consumo de doce de leite caseiro, vendido em feiras livres, é comum no Estado do Rio Grande do Sul. Geralmente, estes produtos não são fabricados em acordo com as boas normas de fabricação e podem constituir perigo à saúde do consumidor. O objetivo do presente estudo foi analisar, microbiologicamente, amostras de doce de leite comercializado nas feiras livres da cidade de Pelotas, Estado do Rio Grande do Sul, conforme legislação em vigor da Agência Nacional de Vigilância Sanitária – Anvisa, e, dessa forma, verificar as condições sanitárias do produto em questão. Foram adquiridas, aleatoriamente, amostras de doce de leite de feiras livres existentes na cidade de Pelotas, Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. Das 12 feiras cadastradas na prefeitura de Pelotas, em apenas cinco foram encontradas amostras de doce de leite. As análises microbiológicas foram realizadas conforme metodologias preconizadas pela Resolução RDC nº 12 de 2 de janeiro de 2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária – Anvisa. Com base nas metodologias empregadas, não se obteve isolamento de microrganismos patogênicos nas amostras de doce de leite pesquisadas. De acordo com os critérios estabelecidos pelo documento RDC nº 12 da Anvisa, concluiu-se que nenhuma das amostras de doce de leite revelou contaminação bacteriana patogênica.

Palavra-chave: contaminação bacteriana, saúde pública, alimentos.

ABSTRACT. *Microbiological analysis of doces de leite commercialized in free markets from Pelotas, Rio Grande do Sul State.* The consumption of homemade *doce de leite*, which is sold in street markets, is very common in the state of Rio Grande do Sul, Brazil. Generally, these products are not manufactured according to good hygiene guidelines, and may be a risk to consumers' health. The aim of the present study was to analyze microbiologically samples of *doce de leite* commercialized in street markets in the city of Pelotas, Rio Grande do Sul State, according to the present legislation of Brazil's National Health Surveillance Agency (Anvisa), and thus verify the sanitary conditions of this product. Samples of *doce de leite* were randomly acquired from street markets in Pelotas, Rio Grande do Sul State, Brazil. Among the 12 street markets registered in the Pelotas City Council, *doce de leite* samples were found in only five. The microbiological analyses were carried out according to document RDC nº 12 (Jan. 12, 2001) from Brazil's National Health Surveillance Agency (Anvisa). Based on the methodologies employed, no microbial pathogen isolates were detected in the investigated samples of *doce de leite*. According to the criteria established by document RDC nº 12, it was concluded that none of the *doce de leite* samples revealed pathogenic bacterial contamination.

Key words: contamination by bacteria, public health, food.

Introdução

O doce de leite, também encontrado em referências internacionais como *dulce de leche*, é um importante alimento produzido e comercializado, principalmente, na Argentina e no Brasil (DEMIATE et al., 2001). Esse produto é resultante da cocção de leite com açúcar, podendo ser adicionadas outras substâncias alimentícias

permitidas, até concentração conveniente à parcial caramelização (ANVISA, 1978). O doce de leite apresenta elevado valor nutricional por conter proteínas e minerais, além do conteúdo energético. É um alimento menos perecível que o leite e de grande aceitação sensorial (DEMIATE et al., 2001).

As doenças veiculadas por alimentos representam importante problema de saúde pública, pois se

estima que milhões de pessoas de todo o mundo sejam acometidas por doenças transmitidas por alimentos, e a maioria destas está ligada às condições da matéria-prima, aos maus hábitos dos manipuladores, à higienização e ao controle ambiental (RADDI et al., 1988; NOLLA; CANTOS, 2005).

A Anvisa define como DTA: "Uma doença de natureza infeciosa ou tóxica causada por, ou por meio de consumo de alimento ou água" (ZANDONADI et al., 2007, p. 21).

As DTAs são responsáveis, atualmente, pela maior parte dos surtos de diarréia em quase todos os países. O desenvolvimento econômico e a globalização do mercado mundial, as alterações nos hábitos alimentares, com a crescente utilização de alimentos industrializados ou preparados fora de casa, alteraram o perfil epidemiológico dessas doenças, expondo a população a vários tipos de contaminantes (SCARCELI; PIATTI, 2002; CVE/CCD-SES, 2004). A comercialização de alimentos de origem animal em feiras livres, expostos em barracas sem refrigeração, sem proteção contra pioira e insetos, pode alterar sua qualidade (CORREIA; RONCADA, 1997).

Os alimentos obtidos por processos artesanais têm grande possibilidade de se apresentarem contaminados, pelo uso de matérias-primas de fontes não-seguras, utensílios mal higienizados ou contaminados, elaboração em condições impróprias e armazenamento e comercialização em temperatura inadequada, fatores que contribuem para aumentar o risco de causarem enfermidades (DUARTE et al., 2005).

Do ponto de vista de saúde pública, a população deve ter ao seu alcance alimentos de boa qualidade, dentro de padrões pré-estabelecidos, não só em valores nutritivos, como também quanto às condições higiênicas que propiciam segurança para a saúde do consumidor (CORREIA; RONCADA, 1997; FAGUNDES; OLIVEIRA, 2004). Portanto, a Anvisa estabelece, por meio da Resolução RDC nº 12 de 02 de janeiro de 2001, que dispõe do regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos, que o doce de leite deve ser analisado quanto à presença de *Salmonella* sp., Coliformes a 45°C (Coliformes fecais) e Estafilococos coagulase positivo (*Staphylococcus aureus*) (ANVISA, 2001).

A *Salmonella* sp. é uma enterobactéria que pode causar graves infecções gastrintestinais de origem alimentar (ANTUNES PINTO, 1996).

Staphylococcus sp. tem importância na epidemiologia das doenças veiculadas por alimentos,

o que decorre de sua alta prevalência e do risco de produção, nos alimentos contaminados, de toxinas causadoras de gastroenterites alimentares (REIS et al., 2002).

Já os coliformes fecais, do ponto de vista sanitário, funcionam como indicadores capazes de evidenciar maior probabilidade de que o alimento tenha entrado em contato com material de origem fecal, indicando, com maior precisão, a possível presença de patógenos entéricos (NOVAK; ALMEIDA, 2002; LUND et al., 2007).

Com base nas informações citadas acima, o presente estudo teve por objetivo analisar, microbiologicamente, amostras de doce de leite comercializado nas feiras livres da cidade de Pelotas, Estado do Rio Grande do Sul, conforme legislação em vigor da Agência Nacional de Vigilância Sanitária – Anvisa, e, dessa forma, verificar as condições sanitárias do produto em questão.

Material e métodos

A cidade de Pelotas, Estado do Rio Grande do Sul, dispõe de 12 feiras livres cadastradas na prefeitura e distribuídas em diferentes locais da cidade. A realização de cada uma destas feiras ocorre semanalmente, porém em dias diferenciados, e foi nesse tipo de varejo que se pesquisou a qualidade do alimento em estudo. A análise microbiológica foi realizada no Laboratório de Bacteriologia do Instituto de Biologia da Universidade Federal de Pelotas.

As amostras foram obtidas na forma como expostas na feira, acondicionadas em potes plásticos e conduzidas em temperatura ambiente ($20 \pm 5^\circ\text{C}$) para imediata análise. As amostras foram coletadas no início da manhã e pesavam aproximadamente 200 g, de acordo com a disponibilidade no momento da aquisição. O transporte até o local de análise se deu nas mesmas condições de temperatura do local da coleta, e as análises microbiológicas foram iniciadas imediatamente após a obtenção das amostras.

As análises microbiológicas foram realizadas com base nas normas da Resolução RDC nº 12 da Anvisa, a qual estabelece que o doce de leite deve ser analisado quanto à presença de *Salmonella* sp., Coliformes a 45°C (coliformes fecais) e Estafilococos coagulase positivo (*Staphylococcus aureus*) (ANVISA, 2001).

Para isolamento e identificação de *Salmonella* sp., foram pesados assepticamente 25 g de amostra, homogeneizados em 225 mL de Caldo Lactosado (CL). Verificou-se o pH e a amostra foi incubada a 36°C , por 24h, para recuperação de células bacterianas injuriadas. Após, a amostra foi inoculada

em tubos contendo os meios de enriquecimento seletivo Rapaport (RR), Tetratônato (TT) e Selenito (SL) e novamente encubados a 36°C, por 24h. Após este período, de cada tubo inoculado, foram semeadas placas com os meios seletivos Ágar HE (*Hektoen Enteric*) e XLD (*Xylose Lysine Deoxycholate*), pelo método de esgotamento, e incubadas a 36°C, por 24h. Colônias suspeitas de *Salmonella* foram selecionadas para procedimentos de testes bioquímicos nos meios: Ágar lisina ferro (LIA), Ágar tríplice açúcar e ferro (TSI) e Ureia para obtenção de resultados conclusivos.

Para os procedimentos de *Coliformes* a 45°C e Estafilococos coagulase positivo, foram pesados assepticamente 25 g de amostra, homogeneizados em 225 mL de Água Peptonada estéril e, a partir da homogeneização, preparadas diluições seriadas em tubos estéreis até 10⁻³.

A fim de isolar e identificar *Coliformes* a 45°C, para cada tubo de diluição (3) com Água Peptonada estéril, utilizou-se o repasse de 1 mL para três tubos contendo CL e tubos de Durham invertidos. Este material foi incubado a 37°C, por até 48h. Amostras dos tubos positivos para formação de gás foram inoculadas em tubos contendo caldo EC, também com tubos de Durham invertidos, e incubados em banho-maria a 45°C, por até 48h, quando foi verificada a produção de gás para posterior contagem do Número Mais Provável (NMP).

Para isolamento e identificação de *E. coli*, repicou-se a amostra suspeita em tubos de EC para placas contendo ágar EMB, pelo método de esgotamento, com posterior encubação a 36°C, até 48h. As colônias suspeitas de *E. coli* foram selecionadas para os testes bioquímicos nos meios MRVP e SIM, para obtenção de resultados conclusivos.

Para isolamento e identificação de *S. aureus*, ou Estafilococos coagulase positivo, semeou-se 1 mL de cada diluição em três placas contendo Ágar Baird Parker (ABP), que foram posteriormente incubadas a 36°C, durante 48h. Nas placas com crescimento de colônias suspeitas, realizou-se contagem das mesmas e, em placas que continham entre 20 e 200 colônias, foi coletada uma colônia para o teste bioquímico de coagulase, realizado com plasma de coelho.

Resultados e discussão

De um total de 12 feiras livres existentes na cidade de Pelotas, Rio Grande do Sul, em cinco (41,7%) foram encontradas amostras de doce de leite, e foi obtida uma amostra em cada feira. Destas amostras, nenhuma apresentou contaminação pelos microrganismos entéricos patogênicos: *Salmonella*,

Coliformes a 45°C e *Staphylococcus* coagulase positiva, de acordo com as análises microbiológicas realizadas, e segundo os padrões microbiológicos determinados pela Anvisa (2001).

Os resultados obtidos indicam aspecto positivo para a cidade e para população consumidora local, já que 100% das amostras analisadas não forneceram quaisquer indícios de contaminação para os três microrganismos pesquisados.

O doce de leite é um alimento muito apreciado na região, em virtude da colonização portuguesa no local e de sua utilização em muitos preparados na cultura desses colonizadores. Portanto, pelas suas características culturais, bem como pelas condições de preparo, manipulação e comercialização efetuadas pelos comerciantes deste produto artesanal, o doce de leite foi escolhido para estabelecer quais os riscos que poderia ou não causar, em nível de Saúde Pública, na cidade de Pelotas, Estado do Rio Grande do Sul.

Esse tipo de comércio foi escolhido por apresentar maior propensão a condições sanitárias insatisfatórias, uma vez que as bancadas onde são alojados os produtos para comercialização são estruturadas em via pública e tais produtos permanecem expostos ao ar livre, ao alcance de inúmeros contaminantes e possíveis vetores de enfermidades, como animais e insetos (DUARTE et al., 2005). Nesses locais, não há acesso à água corrente para higienização das bancadas, dos utensílios e mesmo dos próprios manipuladores (RADDI et al., 1988).

Este estudo também visa diagnosticar possíveis fatores de risco de doenças transmitidas por alimentos e que possam contribuir para a disseminação das mesmas; tem-se em vista a falta de controle higiênico-sanitário, além do desconhecimento do assunto por grande parte da população, pela carência de medidas educativas a respeito e que possam esclarecer e orientar os indivíduos de como proceder para evitar que tais enfermidades ocorram.

A água ainda que potável em sistemas de distribuição é colonizada por microrganismos saprófitos heterotróficos (bactérias, fungos filamentosos, leveduras etc.) que crescem a partir da matéria orgânica biodegradável (LeCHEVALLIER et al., 1993). Microrganismos potencialmente patogênicos e microrganismos de origem fecal podem também, encontrando condições favoráveis, proliferar nestes sistemas (FASS et al., 1996).

Com relação às bactérias investigadas neste estudo, o isolamento de *Salmonella* sp. também tem sido evidenciado em inúmeras pesquisas microbiológicas de alimentos de origem animal

(BAÚ et al., 2001; SILVA et al., 2001; STAMFORD et al., 2006). Em uma pesquisa com aves comercializadas na cidade de Pelotas, Estado do Rio Grande do Sul, Baú et al. (2001) constatou que muitos produtos de frango encontravam-se contaminados com diferentes sorovares de salmonelas, especialmente da espécie *S. enteritidis*, devendo, portanto, sofrer cocção e manipulação adequadas para prevenção de surtos de salmonelose (ZANDONADI et al., 2007). Outro estudo realizado pela Divisão de Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar do CVE/CCD-SES diagnosticou surtos de toxinfecção alimentar por *Salmonella* em um evento científico realizado em São Paulo, no ano de 2004, decorrentes da falta de cuidados com a preparação, manipulação e armazenamento da alimentação oferecida no local (CVE/CCD-SES, 2004). Os dois trabalhos acima citados de isolamento de *Salmonella* justificam a importância de se ter conhecimento sobre boas práticas de alimentação, desde a obtenção da matéria-prima utilizada até a sua comercialização.

No entanto, a detecção de espécies do gênero *Staphylococcus* também é de fundamental importância na epidemiologia das doenças veiculadas por alimentos, o que decorre de sua alta prevalência e do risco de produção, nos alimentos contaminados, de toxinas causadoras de gastrorenterites alimentares (REIS et al., 2002).

Além disso, a presença de Coliformes fecais, do ponto de vista sanitário, funciona como um indicador importante, capaz de evidenciar maior probabilidade de que o alimento tenha entrado em contato com material de origem fecal, indicando, com maior precisão, a possível presença de patógenos entéricos (SILVA et al., 2001; NOVAK; ALMEIDA, 2002).

É possível que os resultados negativos de contaminação bacteriana do doce de leite, o que é um aspecto favorável para o comércio local, estejam relacionados com fatores que alteram o crescimento bacteriano nos alimentos, como a atividade de água, o pH e o potencial de oxirredução, os quais, neste caso, não foram suficientemente favoráveis para a multiplicação dos microrganismos testados (JAY, 2005).

Portanto, mesmo com estes resultados, observa-se a necessidade de novas medidas sanitárias para estabelecer critérios mais especificados para análise microbiológica e identificar não só fatores que caracterizam o alimento como substrato para a multiplicação bacteriana, mas também aqueles que avaliam os veículos da possível contaminação do alimento, visando sempre à melhoria da situação

higiênico-sanitária desse tipo de comércio informal, que vem crescendo cada vez mais em todo o país.

Considerando a constante modificação econômica que vem ocorrendo no país, onde é possível perceber a intensa atividade informal dos cidadãos brasileiros, inclusive no que diz respeito aos serviços de alimentação prestados em locais públicos, como o comércio das feiras livres, é importante salientar que a questão da higiene alimentar deve ser de interesse de todos, governo, profissionais de saúde, comerciantes e consumidores, e que constitui, indubitavelmente, um grande desafio à Saúde Pública do país.

Conclusão

Com base nos critérios estabelecidos pelo documento RDC nº 12 da Anvisa, conclui-se que nenhuma das amostras de doce de leite pesquisadas revelou contaminação bacteriana pelos três microrganismos pesquisados.

Referências

- ANTUNES PINTO, A. F. M. Doenças de origem microbiana transmitidas pelos alimentos. **Millenium**, v. 1, n. 4, p. 91-100, 1996.
- ANVISA-Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução CNNPA nº 12, de 24 de julho de 1978.
- ANVISA-Agência Nacional de Vigilância Sanitária Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001.
- BAÚ, A. C.; CARVALHAL, J. B.; ALEIXO, J. A. G. Prevalência de *Salmonella* em produtos de frangos e ovos de galinha comercializados em Pelotas, RS, Brasil. **Ciência Rural**, v. 31, n. 2, p. 303-307, 2001.
- CORREIA, M.; RONCADA, M. J. Características microscópicas de queijos prato, mussarela e mineiro comercializados em feiras livres da Cidade de São Paulo. **Revista de Saúde Pública**, v. 31, n. 3, p. 296-301, 1997.
- CVE/CCD-SES-Centro de Vigilância Epidemiológica. Divisão de Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar. Toxinfecção alimetal por *Salmonella* em um evento científico. **Revista de Saúde Pública**, v. 39, n. 3, p. 515-518, 2004.
- DEMIADE, I. M.; KONKEL, F. E.; PEDROSO, R. A. Quality evaluation of commercial samples of doce de leite - chemical composition. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 21, n. 1, p. 1008-114, 2001.
- DUARTE, D. A. M.; SCHUCH, D. M. T.; SANTOS, S. B.; RIBEIRO A. R. Pesquisa de *Listeria monocytogenes* e microrganismos indicadores de higiênico-sanitários em queijo de coalho produzido e comercializado no Estado de Pernambuco. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 72, n. 3, p. 297-302, 2005.
- FAGUNDES, H.; OLIVEIRA, C. A. F. *Staphylococcus aureus* intramammary infections and its implications in public health. **Ciência Rural**, v. 34, n. 4, p. 1315-1320, 2004.

- FASS, M. D.; REASONER, D. J.; GATEL, D.; BLOCK, J.C. Fate of *Escherichia coli* experimentally injected in a drinking water distribution pilot system. **Water Research**, v. 30, n. 9, p. 2215-2221, 1996.
- JAY, J. M. **Microbiologia de alimentos**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.
- LECHEVALLIER, M. W.; LOWRY, C. D.; LEE, R. G. GIBBON, D. L. Examining the relationship between iron corrosion and the disinfection of biofilm bacteria. **Journal of the American Water Work Association**, v. 87, p. 111-123, 1993.
- LUND, D. G.; ZAICOVSKI, C. D.; PRIETO, L. M.; CONCEIÇÃO, R. C. S.; ALEIXO, J. A. G.; ROMBALDI, C. V. Qualidade microbiana e aspecto visual de mandioca minimamente processada. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 29, n. 2, p. 213-216, 2007.
- NOLLA, A. C.; CANTOS, G. A. Relationship between intestinal parasites in food handlers and epidemiological factors in the city of Florianópolis, Santa Catarina, Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 21, n. 2, p. 641-645, 2005.
- NOVAK, F. R.; ALMEIDA, J. A. G. Teste alternativo para detecção de coliformes em leite humano ordenhado. **Jornal de Pediatria**, v. 78, n. 3, p. 193-196, 2002.
- RADDI, M. S. G.; LEITE, C. Q. F.; MENDONÇA, C. P.; *Staphylococcus aureus*: portadores entre manipuladores de alimentos. **Revista de Saúde Pública**, v. 22, n. 1, p. 36-40, 1988.
- REIS, R. B.; MAMIZUKA, E. M.; FRANCO, B. D. G. M. Standardization of an enzyme immunoassay for detection of *Salmonella* in foods. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 22, n. 2, p. 105-110, 2002.
- SCARCELLI, E.; PIATTI, R. M. Patógenos emergentes relacionados à contaminação de alimentos de origem animal. **Biológico**, v. 64, n. 2, p. 123-127, 2002.
- SILVA, Z. N.; CUNHA, A. S.; LINS, M. C.; CARNEIRO, L. A. M.; ALMEIDA, A. C. F.; QUEIROZ, M. L. P. Isolamento e identificação sorológica de *Escherichia coli* enteropatogênica em leite pasteurizado. **Revista de Saúde Pública**, v. 35, n. 4, p. 375-379, 2001.
- STAMFORD, T. L. M.; SILVA, C. G. M.; MOTA, R. A.; NETO, A. C. Enterotoxigenicidade de *Staphylococcus* spp. isolados de leite in natura. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 1, p. 41-45, 2006.
- ZANDONADI, R. P.; BOTELHO, R. B. A.; SÁVIO, K. E. O.; AKUTSU, R. C.; ARAÚJO, W. M. C. Atitudes de risco do consumidor em restaurantes de auto-serviço. **Revista de Nutrição**, v. 20, n. 1, p. 19-26, 2007.

Received on December 28, 2007.

Accepted on July 11, 2008.

License information: This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.