

UNIVERSIDADE DO SAGRADO CORAÇÃO
Centro de Ciências da Saúde

Taline Fernanda Smanioto

**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE VEGETAIS
MINIMAMENTE PROCESSADOS
COMERCIALIZADOS NA REGIÃO DE BAURU (SP)**

**BAURU
2007**

UNIVERSIDADE DO SAGRADO CORAÇÃO
Centro de Ciências da Saúde

Taline Fernanda Smanioto

**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE VEGETAIS
MINIMAMENTE PROCESSADOS COMERCIALIZADOS NA
REGIÃO DE BAURU (SP).**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Centro de Ciências da Saúde da Universidade do Sagrado Coração como parte integrante dos requisitos para obtenção do Título de Bacharel em Ciências Biológicas, sob a orientação da Prof^a. Dr^a Eliane Maria Ravasi Stéfano Simionato.

Bauru
2007

FICHA CATALOGRÁFICA

S6359a	<p data-bbox="523 1422 890 1451">Smanioto, Taline Fernanda.</p> <p data-bbox="539 1489 1307 1624">Avaliação microbiológica de vegetais minimamente processados comercializados na região de Bauru (SP). / Taline Fernanda Smanioto. -- 2007. 34 f.</p> <p data-bbox="502 1657 1307 1792">Orientadora: Prof^ª. Dra Eliane Maria Ravasi Stefano Simionato Trabalho de Conclusão de Curso (Ciências Biológicas) - Universidade do Sagrado Coração - Bauru - SP.</p> <p data-bbox="539 1836 1307 1937">1. Vegetais 2. Processos mínimos 3. Coliformes 4. Salmonella I. Simionato, Eliane Maria Ravasi Stefano II. Título.</p>
--------	--

Taline Fernanda Smanioto

**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE VEGETAIS MINIMAMENTE
PROCESSADOS COMERCIALIZADOS NA REGIÃO DE BAURU (SP).**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Centro de Ciências da Saúde da Universidade do Sagrado Coração como parte integrante dos requisitos para obtenção do Título de Bacharel em Ciências Biológicas, sob a orientação da Prof^a. Dr^a Eliane Maria Ravasi Stéfano Simionato.

Prof^a. Dr^a. Eliana Maria Ravasi Estéfano Simionato – Orientadora

Curso de Farmácia
Centro de Ciências da Saúde

Prof. Dr. – Paulo Henrique Weckweth

Curso de Ciências Biológicas
Centro de Ciências da Saúde

Local: Universidade do Sagrado Coração

Data: 28 de Novembro de 2007.

Dedico este trabalho:

As pessoas que são o alicerce da minha vida e sempre me apoiaram para que este grande momento fosse possível: o término da minha graduação. Agradeço todos os dias por fazerem parte da minha vida: Minha mãe, Rosa, meu namorado, Luiz Fernando e minha sobrinha, Isabele.

AGRADECIMENTOS

À DEUS, por guiar todos os meus caminhos com muita saúde permitindo que eu chegasse à reta final da graduação.

À minha irmã Francine pela ajuda de todos os dias...

À Prof^a. Dr^a. Eliane Simionato, pela atenção, dedicação, sabedoria, ajuda, disponibilidade em ajudar sempre, serei eternamente grata.

Ao Laboratório de Análises de Alimentos (Fundação Véritas), as funcionárias deste: Ediana e Rosa que estiveram sempre prontas a ajudar.

À Prof^a. Dr^a. Maricê C. Heubel, por toda dedicação, orientação e ajuda.

À amiga Natália Jordão Pirolo por todos os momentos vividos juntas desde o início da faculdade e término do bacharel.

Ao amigo Hugo Zuquiere por me socorrer sempre que precisei.

Aos colegas e amigos por estarem presentes em todos os momentos.

“Se não houver frutos,
valeu a beleza das flores...
Se não houver flores,
valeu a sombra das folhas...
Se não houver folhas,
valeu a intenção da semente.”
(Henfil)

RESUMO

Devido à alta demanda por alimentos minimamente processados, e a existência de padrões microbiológicos estabelecidos pela ANVISA através da RDC 12 de 02 de Janeiro de 2001, que exige um controle de qualidade intensificado dos alimentos processados para uma melhor saúde coletiva, surgiu à necessidade de verificar se os vegetais minimamente processados comercializados em Bauru e região atendem a RDC 12 de 02 de Janeiro de 2001. Foram pesquisados os coliformes totais, coliformes fecais e *Salmonella*. Diante dos resultados obtidos, concluiu-se que grande parte dos estabelecimentos verificados está de acordo com a lei vigente, ou seja, ausência de coliformes fecais. Apenas um estabelecimento não estava de acordo com a lei apresentando uma alta contaminação, colocando em risco a saúde de vários consumidores que confiam no estabelecimento. Tal contaminação deve-se ao contato com fezes humanas ou de animais durante o processo. Os outros estabelecimentos apesar de estarem de acordo com a ANVISA, apresentaram um grande número de contaminação por coliformes totais, mostrando com clareza a falta de higiene durante a manipulação dos produtos. Todos os estabelecimentos envolvidos apresentaram em, pelo menos, uma amostra contaminada por coliformes totais.

Palavras Chaves: Vegetais, processos mínimos, coliformes, *Salmonella*.

ABSTRACT

Due to the high demand for minimally processed foods, and the existence of microbiological standards established by ANVISA by the DRC 12 of January 2, 2001, which requires an enhanced quality control of processed food for better collective health, arose the need to verify if the vegetables minimally processed and marketed in Bauru region meet the DRC 12 of January 2, 2001. They were searched the total coliform, fecal coliform and Salmonella. Given the results obtained, it is concluded that most of the shops are checked in accordance with the law, i.e. absence of fecal coliforms. Only one shop analyzed was not in accordance with the law with a high contamination rate, bringing a risk to health of many consumers who rely on the shop. This contamination is due to the contact with human or animals feces during the food process. The others shops were in accordance with ANVISA despite a large number of total coliform contamination found in the food samples. There is a clear lack of hygiene in handling those products. All shops involved had in at least a sample contaminated with total coliform.

Keywords: Vegetables, process minimal, coliforms, Salmonella.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Alimentos Minimamente processados.....	13
Figura 2 – Determinação do NMP de coliformes totais e fecais.....	22
Figura 3 – Determinação do NMP de <i>Salmonella</i>	25
Figura 4 – Alimentos minimamente processados e equipamentos utilizados.....	30
Figura 5 – Local do processamento.....	30
Figura 6 – Processadora com jaleco e touca inadequada.....	31

LISTA DE TABELAS

Tabela 01 – Resultados microbiológicos obtidos para os legumes analisados.....	27
Tabela 02 – Distribuição das amostras e incidência de coliformes totais.....	29

LISTA DE ABREVEATURAS

APPCC	Análises de Perigos e Pontos Críticos de Controle
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BS	Ágar Bismuto Sulfito
BPF	Boas Práticas de Fabricação
EC	<i>E. coli</i>
EMB	Ágar Eosina Azul de Metileno
FDA	Food and Drug Administration
HE	Ágar Entérico de Hectoen
LAA – FV	Laboratório de Análises de Alimentos – Fundação Véritas
LIA	Ágar Lisina Ferro
LST	Caldo Lauril Sulfato
NMP	Número Mais Provável
VB	Verde Brilhante
TSI	Ágar Tríplice Açúcar Ferro
UFC	Unidade Formadora de Colônia
WHO	World Health Organization
XLD	Ágar Xylose Lisina Desoxilato

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	13
1.1 As <i>Salmonellas</i>	16
1.2 Coliformes totais e fecais	18
1.2.1 <i>Escherichia coli</i>	18
2. OBJETIVO	20
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	21
3.1 Materiais	21
3.2 Métodos	21
3.2.1 Contagem de coliformes totais e fecais	21
3.2.2 Pesquisa de <i>Salmonella sp.</i>	24
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
5. CONCLUSÃO.....	32
6. REFERÊNCIAS	33

1. INTRODUÇÃO

A procura por alimentos cada vez mais saudáveis está em alta. A vida corrida da população em geral faz com que os consumidores procurem maior facilidade e qualidade na área alimentícia. Por isso, vem crescendo no mercado a procura de alimentos minimamente processados que são definidos como hortaliças e frutas selecionadas, lavadas, cortadas, enxaguadas, sanitizadas, acondicionadas em embalagens adequadas e mantidas sob baixas temperaturas (Figura 1). Estes alimentos além de práticos passam à população uma imagem de segurança, durabilidade e qualidade sem que as características nutricionais dos produtos sejam alteradas.



Figura 1 - Alimentos Minimamente processados.

Todos os vegetais minimamente processados precisam ser selecionados rigorosamente, ou seja, verduras frescas, verdes e sem manchas, cascas lisas e com cores homogêneas por todo o produto. Os fermentos durante o processo de coleta podem causar mudanças no mecanismo biológico dos vegetais. Os produtos devem ser resfriados antes de processados a uma temperatura de 10 °C e a 80% de umidade, além de serem mantidos a 90% de umidade relativa. Devem ser imersos em solução de Hipoclorito de Sódio ou outro sanitizante adequado e após devem ser secos por centrifugação para retirar a umidade existente. A embalagem pode ser feita em bandejas de poliestireno e cobertas com filme plástico ou em sacos plásticos laminados, transparentes, com emprego de atmosfera modificada.

Os vegetais utilizados no presente trabalho foram os seguintes:

Acelga – Com safra entre Junho à Outubro, é pouco consumida no Brasil, rica em vitamina A, C, Niacina e de sais minerais como o cálcio, fósforo e ferro. Possui fibras que ajudam nos movimentos intestinais. Muito usado em dietas alimentares por possuir a cada 100 gramas apenas 27 calorias. A colheita é feita 60 - 70 dias após o plantio (VITAMINAS E CIA., 2007).

Repolho – com safra entre Setembro à Abril, é composto por várias folhas sobrepostas em formato arredondado. Rico em fibras e quando crua é uma boa fonte de vitamina A e C. Contem também boas quantidades de cálcio e fósforo. Possui a cada 100 gramas cerca de 18 calorias. O ciclo varia de 90 a 150 dias da semeadura à colheita. Para que ocorra o processo, é necessária a retirada das folhas externas, assim como insetos e outros animais neles encontrados (VITAMINAS E CIA., 2007).

Couve - Com início da safra em Agosto e término em Fevereiro, a couve é uma fonte de cálcio, fósforo e ferro, vitamina A e C. Possui 40 Kcal/100g. Sua colheita tem o tempo de 40 a 50 dias após o plantio. A couve tem intensa atividade respiratória assim que retirada suas folhas da planta mãe. A estabilidade inicia-se 4 horas após o corte, sendo esse um excelente tempo para começar o processo (VITAMINAS E CIA., 2007).

Chicória - Conhecida também como escarola, é rica em vitamina A, além de vitamina do complexo B, C e D e de minerais como fósforo, ferro e cálcio. Encontrada facilmente no período de Agosto a Janeiro, possui 20 Kcal/100g. A colheita tem o período de 60 a 90 dias após o

plantio. A chicória não deve ser congelada crua, por isso, para aumentar o tempo de “vida” do produto, deve-se cozinhar primeiro e depois congela-las (VITAMINAS E CIA., 2007).

Salsa - Safra entre Maio e Fevereiro, possui alto valor nutritivo, pois contem altas quantidades de vitaminas e sais minerais. Possui 43 Kcal/100g. Seu período de colheita é de 50 a 70 dias o plantio, fazendo-se nova colheita a cada 30 dias (CATÁLOGO RURAL, 2007).

Cebolinha - Apresenta alto teor de cálcio e fósforo, além de vitamina A e C. Com safra de novembro a abril, é encontrado o ano todo. Possui 31 Kcal/100g. O período de colheita é de 55 e 60 dias após o plantio (CATÁLOGO RURAL, 2007).

Almeirão - Contêm minerais como Cálcio, Fósforo e Ferro e vitaminas A, do Complexo B (B2 e Niacina), e ainda, em menor quantidade, vitamina C. De baixo valor calórico possui apenas 20 Kcal/100g. Sua durabilidade é pouca, pois tendem a amarelar. Na geladeira duram cerca de 3 dias e com a parte de baixo na água duram cerca de 1 dia. Seu período de safra é de agosto a janeiro. A colheita é feita em até 90 dias após a semeadura/ plantio (CATÁLOGO RURAL, 2007).

Beterraba - Além do açúcar, esse legume é muito rico em vitaminas A, do Complexo B e vitamina C (que só é aproveitada pelo organismo quando a beterraba é consumida crua) e, em sais minerais, como Sódio, Potássio, zinco, e Magnésio. Seu período de safra é de agosto a fevereiro e seu valor calórico é de 42 Kcal/100g. A colheita acontece de 60 a 70 dias após o plantio e o ponto ideal para que aconteça é quando as raízes atingiram 6 a 8 cm de diâmetro. Quando cortada, a beterraba perde sua cor devido a um extravasamento do suco celular e assim, desidratação do produto (CATÁLOGO RURAL, 2007).

Cenoura – é uma grande fonte de vitamina A e do complexo B. Possuem muitos sais minerais, como Fósforo, Cloro, Potássio, Cálcio e Sódio. Cada 100 gramas possuem 42 Kcal. Sua safra é de Julho à Janeiro. A cenoura é colhida aos 90 dias depois do semeio. In Natura, a Cenoura pode ser conservada na geladeira por até 15 dias. Quando processada, esse tempo cai, devendo então ser congelada para manter sua durabilidade (CATÁLOGO RURAL, 2007).

Vagem - contém sais minerais como Cálcio, Fósforo e Ferro, vitamina A e vitaminas do Complexo B em menor quantidade. Um grande benefício da vagem é que ela é estimulante para o funcionamento do intestino. O produto deve ser colhido com as sementes ainda pequenas; quando ocorrem protuberâncias a vagem já passou do tempo (EMBRAPA, 2007).

Além da escolha adequada do produto, se não houver higiene, tanto dos manipuladores como do local e do maquinário envolvido neste processo esses alimentos podem representar perigo para os consumidores. Pode ocorrer a contaminação por produtos químicos, físicos e biológicos, sendo que a existência de microrganismos comprometem a qualidade dos alimentos, pois podem provocar modificações nas características organolépticas como cor, espessura, textura, sabor, odor, etc., e também podem causar doenças alimentares.

Segundo LEONELLI e NANTES, 2006, quando não feito o processamento de alimentos adequado, este sofre aceleração em seu metabolismo, podendo modificar a cor, odor e sabor, por isso são importantes medidas preventivas de conservação, como: embalagens apropriadas para cada tipo de alimento, temperatura adequada (refrigeração), luz adequada, entre outras.

Uma solução para esse problema seria a implantação do programa de Boas Práticas de Fabricação – BPF (Portaria SVS/MS nº. 326, de 30 de julho de 1997), que é um regulamento técnico sobre as condições higiênicas sanitárias e de Boas Práticas de Fabricação para Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Alimentos.

A RDC 12 de 02 de Janeiro de 2001 estabelece que os alimentos minimamente processados tenham controle microbiológico através das pesquisas de *Salmonella* e coliformes fecais. Nesta resolução da ANVISA não há padrão para coliforme total (ANVISA, 2006).

1.1 As *Salmonellas*

As salmonelas são da família *Enterobacteriaceae* definida como bactérias tipo bastonetes e Gram negativos. São anaeróbios facultativos e o gênero é composto de uma única espécie, *Salmonella choleraesuis*, dividida em sete subespécies (ELLERMEIER e SLAUCH, 2005).

A salmonela, atualmente, é o agente que mais causa doenças de origem alimentar no Brasil e pelo mundo, estimado entre dois a quatro milhões de casos por ano (FDA/CFSAN, 2005).

Essa bactéria atinge toda área de consumo e produção de alimentos, muito encontrada em animais (insetos e fezes de animais) e no meio ambiente (solo/água), encontradas no solo, na água, em insetos e fezes de animais. A transmissão de salmoneloses aos humanos dá-se por meio do consumo de alimentos contaminados, como ovos, leite, carne de bovinos, suínos e aves.

S. enterica entérica é a mais comum encontrada nas doenças humanas, pois tem como habitat os animais de sangue quente e correspondem a 99% em humanos. As subespécies *S. enterica arizonae*, *S. enterica salamae*, e *S. enterica diarizonae*, são mais encontradas no intestino de animais de sangue frio e raramente de humanos ou animais de sangue quente. Entretanto, as subespécies *S. enterica houtenae* e *S. enterica bongori* são raramente patogênicas para humanos (ELLERMEIER E SLAUCH, 2005).

Nas análises de alimentos procuram-se as cepas de *Salmonella enterica enterica* pois sua característica bioquímica é a forma mais comum para a detecção.

As salmonelas têm como habitat o trato intestinal de animais e humanos. Algumas espécies são encontradas em hospedeiros específicos como, por exemplo, a *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi A* e *C* e *Salmonella sendai* em humanos, *Salmonella abortusequi* em equinos, *Salmonella gallinarum* em aves, *Salmonella abortusovis* em ovinos *Salmonella dublin* em bovinos e *Salmonella typhisuis* e *Salmonella choleraesuis* em suínos (ELLERMEIER E SLAUCH, 2005). Essas cepas podem ser encontradas em humanos e levar a morte.

A maioria das salmoneloses causa infecções gastrointestinais leves nos humanos, não havendo necessidades de tratamento. Entretanto, em crianças, idosos e pessoas imunodeprimidas, podem ser mais intensas.

Para se ter uma idéia, pessoas com HIV têm 20 vezes mais chances de sofrer contaminações por salmonela do que uma pessoa com o sistema imunológico normal.

Em casos mais severos alguns sintomas são: febre tifóide e paratifóide que podem se estender e provocar lesões ao atingir alguns órgãos (responsável por 10% das mortes por salmonela), dor de cabeça, diarreia, cólicas abdominais, náusea e vomito, em idosos e crianças podem ocorrer desidratação severa, e também a septicemia causada pela espécie Dublin pode apresentar uma taxa de mortalidade de 15% (FDA/CFSAN, 2005 apud SILVA, 2006).

1.2 Coliformes totais e fecais

Os coliformes totais são microrganismos tipo bastonetes anaeróbicos e/ou aeróbicos facultativos, não formam esporos, são Gram negativos, produzindo ácido e gás (Novak, 2001). Pertencem a vários gêneros e espécies da família Enterobacteriaceae: que inclui 44 gêneros e 176 espécies. (Brenner; Farmer III, 2005). Esse grupo compreende apenas as enterobactérias caracterizadas por fermentar a lactose produzindo ácido e gás, em temperatura de 35-37°C em 24/48hs, da qual contribui no aumento de patogenicidade em humanos. Essa capacidade de fermentação é utilizada nos métodos para análise e contagem dos coliformes totais em meios de cultivo. A presença de coliformes totais indica falha na sanitização ou falta de higiene. Já a presença de coliformes fecais indica a contaminação fecal (Cardoso, 2000).

Os coliformes fecais ou termotolerantes são um subgrupo dos coliformes totais, diferenciam-se dos demais por produzir ácido e gás ao fermentar a lactose em 24 horas a 44,5-45,5°C. Mas também pode incluir microrganismos de origem não fecal, como por exemplo cepas de *Klebsiella pneumoniae*. Tem seu habitat no trato intestinal de animais homeotermos (*E. Coli*) (SILVA e colaboradores, 2006).

1.2.1 *Escherichia coli*

A *Escherichia coli* é encontrada no trato intestinal de animais de sangue quente e pode contaminar os alimentos através de fontes fecais ou não fecais. Esta inserida no grupo dos coliformes totais e também nos termotolerantes, sendo diferenciada dos demais pela maneira de crescimento em meio de cultivo Agar e pela maneira apresentada nos testes de indol, vermelho de metila, citrato e Voges Proskauer. Os altos índices de coliformes totais, termotolerantes e *E. coli* presentes em alimentos não são somente de origem fecal, mas podem estar relacionados a outros fatores. Essas bactérias podem ser encontradas em reservatórios ambientais, além de que podem se tornar resistentes a certos tipos de habitat, principalmente, se não está acostumado aos padrões de higiene e limpeza. Há, também, o fato de que podem resistir e crescerem em alimentos

refrigerados. A ausência desses membros não significa que os produtos sejam confiáveis, isto é, estejam livres de bactérias patogênicas. (MELO FRANCO e LANDGRAF, 1999).

Segundo a FAO/WHO (2005) as principais aplicações desses microrganismos como indicadores, na verdade são: a) Enterobactérias e coliformes - indicadores das condições de higiene dos processos de fabricação, porque são facilmente inativados pelos sanitizantes e capazes de colonizar vários nichos das plantas de processamento, quando a sanitização é falha; b) Coliformes - indicadores de falha de processo ou de contaminação pós processo em alimentos pasteurizados, porque são facilmente destruídos pelo calor e não devem sobreviver ao tratamento térmico; c) *E. coli* – indicador de contaminação fecal em alimentos “in natura”.

2. OBJETIVO

O objetivo do presente estudo foi avaliar a qualidade microbiológica dos vegetais minimamente processados comercializados na região de Bauru e verificar se os mesmos se encontram em acordo com a RDC 12 de 02 de Janeiro de 2001, da ANVISA.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Materiais

Foram analisadas 15 amostras de vegetais minimamente processados, adquiridas em 04 estabelecimentos comerciais da região de Bauru.

Os vegetais foram adquiridos em quitandas onde estavam expostos a venda em bandejas de poliestireno cobertas por filme plástico.

3.2 Métodos

As metodologias empregadas nas análises microbiológicas foram segundo SILVA e colaboradores, 1997.

3.2.1 Contagem de coliformes totais e fecais

Para a pesquisa de Coliformes empregou-se a técnica de Número Mais Provável – NMP/g

Meio de cultura empregado: Caldo lauril sulfato (LST) com Durham, Caldo verde brilhante (VB) com Durham, Caldo E.coli (EC) com Durham, Agar eosina azul de metileno (EMB), Agar padrão para contagem, caldo citrato de Simons, Caldo VM – VP e caldo triptona.

Diluições utilizadas: 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} . Caso outra diluição seja empregada deve-se tomar o cuidado de empregar a Tabela de NMP adequada (ANEXO I)

Inoculação:

Teste presuntivo: inocular uma série de três tubos de LST para cada uma das diluições. Incubar a 35 °C/24 – 48 horas. Observar a turvação e a produção de gás.

Teste confirmativo: de cada tubo positivo, inocular uma alçada em tubos de VB e em tubos de EC.

VB: incubar a 35 °C/24 – 48 horas, o NMP de coliformes totais é dado pelo número de tubos positivo de VB, de acordo com a tabela adequada às diluições empregadas.

EC: incubar a 45,5 °C/ 24 horas. O NMP de coliformes fecais é dado pelo número de tubos positivo de EC, de acordo com a tabela adequada às diluições empregadas. De cada tubo positivo estriar uma alçada em ágar Levine. As colônias típicas de *E.coli* se mostram nucleadas, com centro preto, com ou sem brilho metálico. Devem-se prosseguir as provas bioquímicas como na Figura 2.

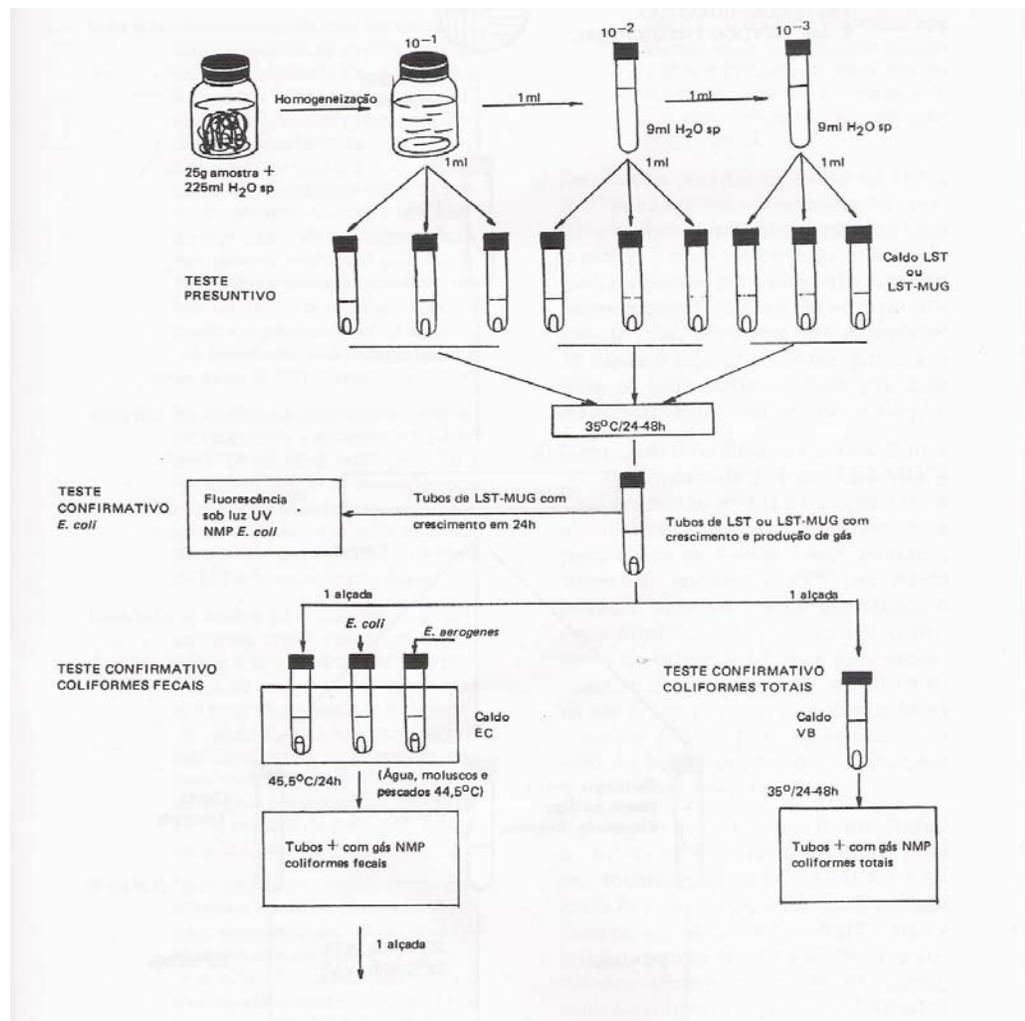


Figura 2 – Determinação do NMP de coliformes totais e fecais.

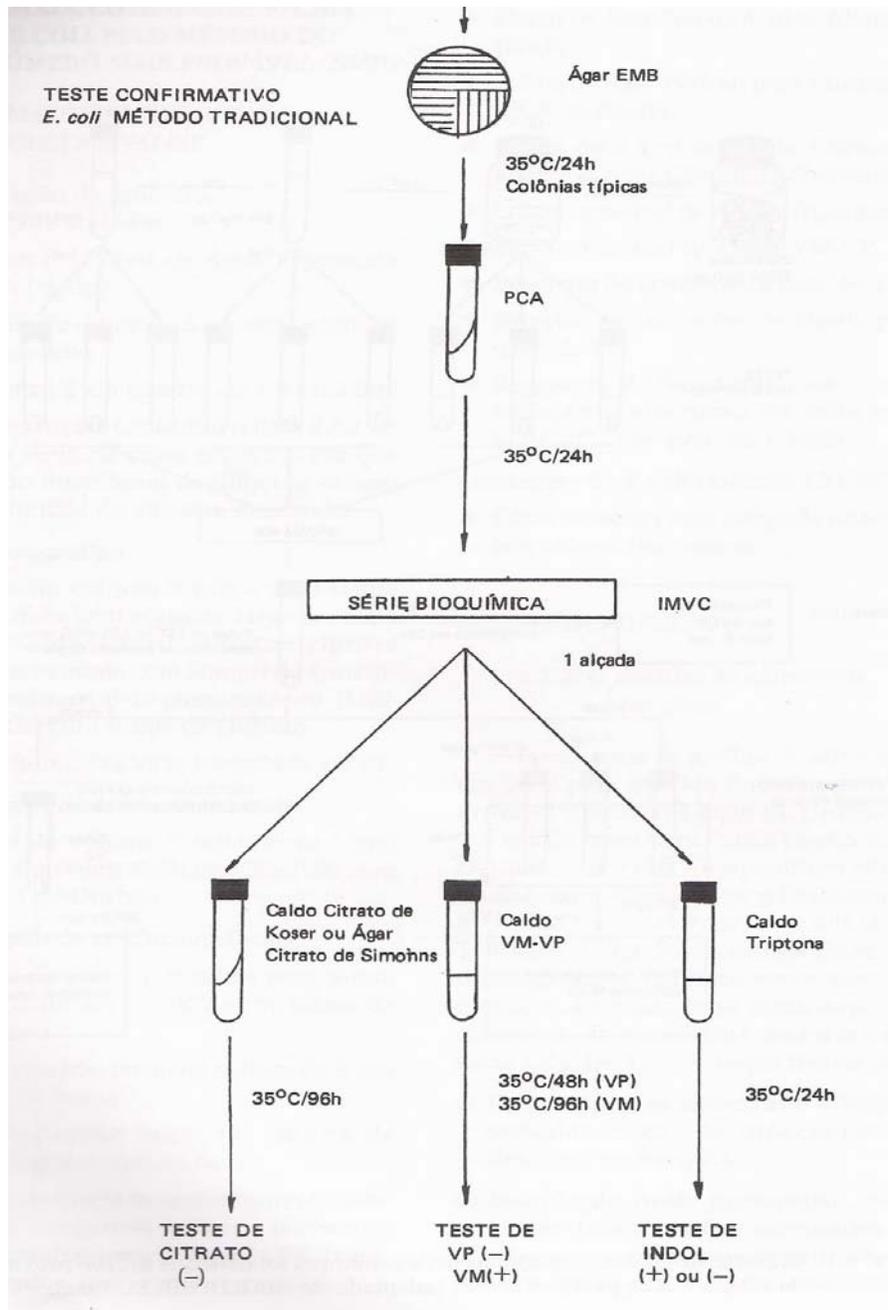


Figura 2 – Determinação do NMP de coliformes totais e fecais (continuação).

3.2.2 Pesquisa de *Salmonella sp.*

Diluição e pré-enriquecimento: a diluição para análise de *Salmonella* é específica, e deve ser feita com 25 gramas da amostra e 225 ml de caldo lactosado.

Extrato de carne3g
 Peptona.....5g
 Lactose.....5g
 Água destilada.....1000mL

A amostra assim diluída é incubada a 35 °C/ 18-20 horas para pré-enriquecimento.

Enriquecimento: transferir 1 ml do pré-enriquecimento para tubos contendo Caldo tetrionato e Caldo selenito Cistina. Ambos devem ser incubados a 35 °C/ 24 horas.

Isolamento: Deve ser feito á partir de cada tubo, por estrias, em placas de Agar Bismuto sulfito (BS), Agar Xilose Lisina Desoxicolato (XLD) e Agar Entérico de Hectoen (HE). Todas devem ser incubadas a 35 °C/ 24 horas.

Colônias típicas:

BS: colônias marrom ou preta, com ou sem brilho.

XLD: colônias transparentes, cor de rosa escuro, com ou sem o centro preto.

HE: colônias transparentes, verde-azuladas, com ou sem centro preto, algumas toda pretas.

Confirmação preliminar: com uma agulha de inoculação, remover uma porção de massa das células, do centro de uma colônia típica e inocular em tubos inclinados de Agar Lisina Ferro (LIA) e Agar Tríplice Açúcar Ferro (TSI). A inoculação é por picada e estrias na superfície inclinada. Incubara a 35 °C/24 horas. Reações típicas:

TSI: base amarela, ápice vermelho ou sem alteração, com ou sem produção de gás e H₂S.

LIA: não há alteração na coloração do meio, com ou sem produção de H₂S.

Série bioquímica: deve-se prosseguir a pesquisa dos tubos suspeitos pela série bioquímica em laboratórios capacitados como observado na figura 3.

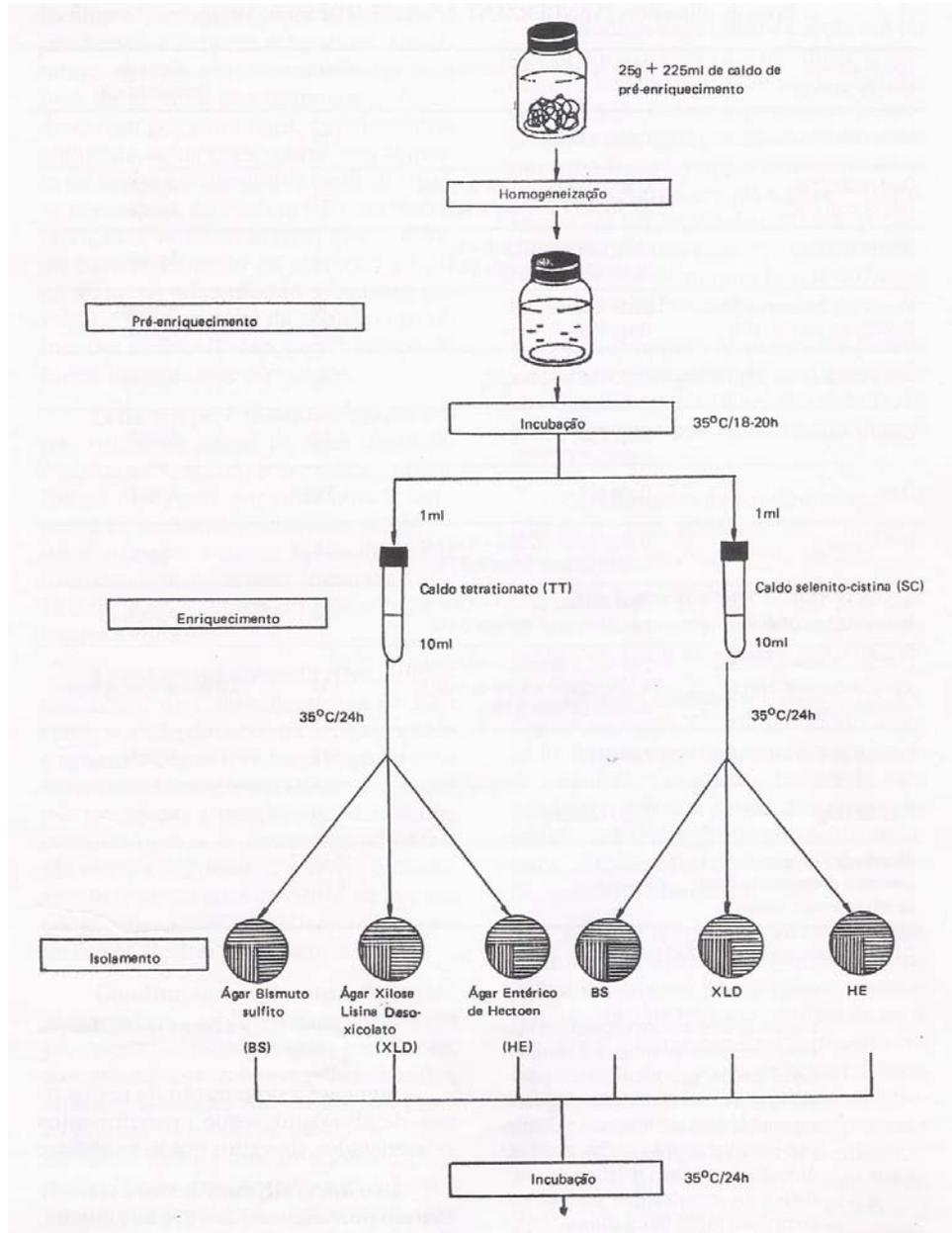


Figura 3 – Determinação do NMP de *Salmonella*.

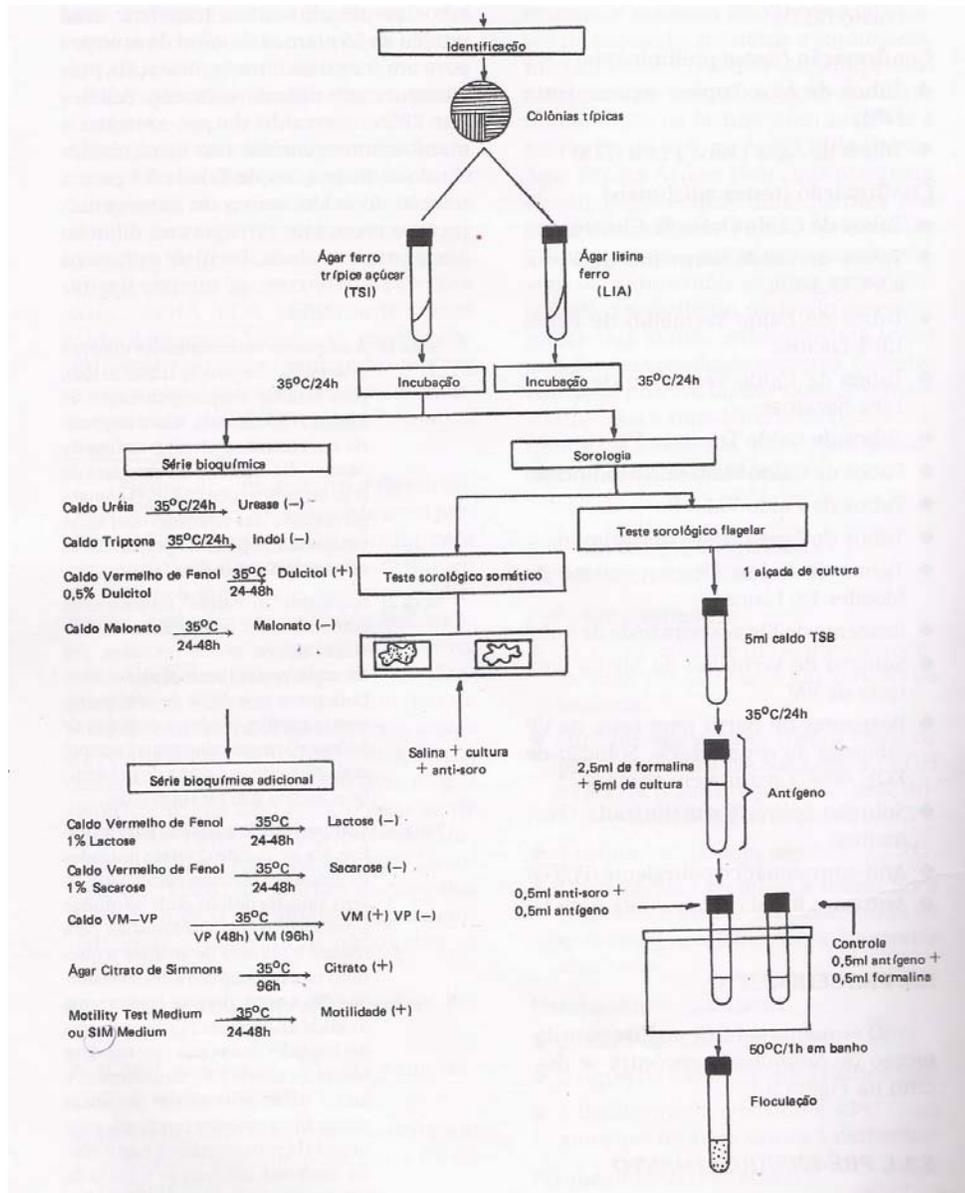


Figura 3 – Determinação do NMP de *Salmonella* (continuação).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Entre as amostras analisadas 14 delas (93,3%) se mostraram em acordo com o padrão microbiológico estabelecido pela Portaria nº. 12, de 02 de janeiro de 2001, que estabelece o máximo de 100 UFC/g de coliformes fecais e ausência de *Salmonella* em 25g.

Na amostra de couve, que corresponde a 6,7% do total, foi constatada a presença de coliformes fecais acima do permitido. Portanto o manipulador que esteve presente durante a manipulação deixou de realizar a sanitização adequada durante o processo. Nesta mesma amostra foi verificada a presença de *E. coli*.

Algumas amostras apresentaram índices de coliformes totais altos. Isso significa que as cenouras em tiras, fios de beterraba, chicória, vagem e o quiabo obtidos em diferentes estabelecimentos nas cidades de Igaracú do Tietê, Barra Bonita e Lençóis Paulista não estão seguindo as Boas Práticas de Fabricação sendo que, a mesma é considerada um programa importante para se atingir a qualidade final do produto.

A Tabela 01 apresenta os resultados microbiológicos obtidos para as amostras de legumes analisadas.

Tabela 01 – Resultados microbiológicos obtidos para os legumes analisados.

Amostras	Datas	Colif. Total (NMP/g)	Colif. Fecal (NMP/g)	<i>Salmonella</i>
1- Fio de cenoura - Igaracú do Tiete	Col: 18/06/07 Val: - Análise: 19/06	28	< 3	Ausência 25g
2- Fio de beterraba - Igaracú do Tiete	Col: 18/06/07 Val: - Análise: 19/06	1.100	< 3	Ausência 25g
3- Couve - Igaracú do Tiete	Col: 18/06/07 Val: - Análise: 19/06	240	240 <i>E. coli</i>	Ausência 25g
4- Chicória - Igaracú do Tiete	Col: 18/06/07 Val: - Análise: 19/06	1.100	< 3	Ausência 25g

5- Almeirão - Igaracú do Tiete	Col: 18/06/07 Val: - Análise: 19/06	1.100	< 3	Ausência 25g
6- Chicória - Lençóis Paulista	Col: 26/06/07 Val: 3 dias Análise: 26/06	1.100	< 3	Ausência 25g
7- Vagem - Lençóis Paulista	Col: 26/06/07 Val: 3 dias Análise: 26/06	1.100	< 3	Ausência 25g
8- Quiabo - Lençóis Paulista	Col: 26/06/07 Val: 3 dias Análise: 26/06	1.100	< 3	Ausência 25g
9- Salsa e Cebolinha - Lençóis Paulista	Col: 26/06/07 Val: 3 dias Análise: 26/06	93	< 3	Ausência 25g
10- Cenoura - Lençóis Paulista	Col: 26/06/07 Val: 3 dias Análise: 26/06	210	< 3	Ausência 25g
11- Couve - Barra Bonita	Col: 03/07/07 Val: 3 dias Análise: 03/07	3	< 3	Ausência 25g
12- Cenoura em tiras - Barra Bonita	Col: 03/07/07 Val: 3 dias Análise: 03/07	>1.100	< 3	Ausência 25g
13- Cenoura ralada - Barra Bonita	Col: 03/07/07 Val: 3 dias Análise: 03/07	23	< 3	Ausência 25g
14- Repolho - Barra Bonita	Col: 03/07/07 Val: 3 dias Análise: 03/07	9	< 3	Ausência 25g
15- Acelga - Barra Bonita	Col: 03/07/07 Val: 3 dias Análise: 03/07	240	< 3	Ausência 25g

Col: data da coleta

Val: data de validade

NMP/g: Número Mais Provável por grama

A Tabela 02 apresenta estes resultados agrupados pelas cidades de onde foram coletadas as amostras.

Tabela 02 – Distribuição das amostras e incidência de coliformes totais.

Cidades	Tipo do Estabelecimento	Nº. de amostras com altos níveis de coliformes totais	Nº. total de amostras
Barra Bonita	Quitanda	1	5
Igaraçu do Tietê	Quitanda	4	5
Lençóis Paulista	Quitanda	3	5

Além das análises microbiológicas foi também liberado o acesso aos locais de preparo dos produtos nos estabelecimentos, os quais foram observados pelo aspecto da higiene e processamento, assim pudemos listar possíveis fontes de contaminação:

- Falta de sanitização adequada da pessoa manipuladora, ou seja, lavar as mãos com água e sabão, secar com papel toalha, usar álcool 70% para esterilizar adequadamente; uso inadequado do jaleco; Falta de equipamentos adequado, como máscaras e tocas protetoras.
- Ambiente inadequado para processamento, isto é, sem sanitização apropriada e livre de microrganismos. Exemplo: falta de tampas em armários; refrigeração para maior conservação das amostras; panos, facas, raladores e processadores sem sanitização.
- Falta de controle integrado de pragas.

Nas imagens abaixo pode-se observar o processamento feito em um dos estabelecimentos:



Figura 4 - Alimentos minimamente processados e equipamentos utilizados. Nota-se um copo próximo a uma balança – processo que não está em acordo com a BPF.



Figura 5 – Local do processamento. Apesar do lixo com tampas o local apresenta muitas irregularidades como panos estendidos em lugar impróprio e vários outros utensílios acumulados no local de processamento.



Figura 6 – Processadora com jaleco e touca inadequada

5. CONCLUSÃO

Dentre as amostras analisadas 93,3% se encontraram em acordo com a legislação vigente, RDC 12 de 02 de janeiro de 2001, da ANVISA, mas uma delas (6,7%) apresentou coliformes fecais acima do estabelecido e *E. coli*. Outras 46,6 % apresentaram coliformes totais elevados, que são indicadores de falta de higiene e de Boas Práticas de Fabricação.

6. REFERÊNCIAS

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC n. 12 de 02 de janeiro de 2001 *on line*. **Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos**. Disponível em: <http://e-legis.bvs.br> Acesso em: 20 de ago. de 2006.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Hábitos de higiene são fundamentais no controle da *Salmonella***. Brasília, 17 set. 2004. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/divulga/noticias/2004/170904.htm> . Acesso em 21 mai. 2007.

BRENNER, D.J. & FARMER III, J.J. Family I. Enterobacteriaceae. In: BRENNER, D.J., KRIEG, N.R. & STALEY, J.T. (Eds), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2nd Ed. Volume 2. New York: Springer Science+Business Media Inc., 2005. p.587-607. In SILVEIRA, N.F; JUNQUEIRA,V.C.A. Métodos de Análise Microbiológica em alimentos. Campinas: ITAL, 2006. CD-ROOM.

CARDOSO, A. L. S. P.; TESSARI; E. N. C.; CASTRO A. G. M.; KANASHIRO, A. M. I. **Pesquisa de *Salmonella sp.* coliformes totais, coliformes fecais e mesófilos em carcaças e produtos derivados de frango**. Arquivos do Instituto Biológico, v. 67, n. 1, jan./jun. 2000.

CATÁLOGO RURAL. Salsinha. Disponível em: <http://www.agrov.com/vegetais/hortalicas/salsinha.htm> Acesso em 28. ago.2007.

EMBRAPA. Hortaliças. Disponível em: http://www.cnph.embrapa.br/paginas/dicas_ao_consumidor/feijao_de_vagem.htm# Acesso em 05. ago. 2007.

ELLERMEIER, C.D.; SLAUCH, J.M. The Genus *Salmonella*. In: DWORKIN *et al.* (Eds.), **The Prokaryotes: An evolving electronic resource for the microbiological community**, 3rd Edition, Release 3.20, 12/31/2005, Springer-Verlag, New York. Disponível em: <http://141.150.157.117:8080/prokPUB/index.htm>. Acesso em: 30 ago. 2006.

FDA/CFSAN. **Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins Handbook “Bad Bug Book”**. Food and Drug Administration, Center for Food Safety & Applied Nutrition, December 2, 2005. Disponível em: <http://www.cfsan.fda.gov/~mow/chap1.html>. Acesso em 24 ago. 2006.

LEONELLI, F.C.V.; NANTES, J.F. **A Estruturação da cadeia produtiva de vegetais minimamente processados**. 2006. 69 f. Dissertação Pós-graduação – Departamento de Engenharia de Produção da Universidade de São Carlos, São Carlos, 2006.

MELO FRANCO, B.D.G.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2ª ed., 1999. 317 p.

PINHEIRO, N.M; FIGUEIREDO, A.T. F; FIGUEIREDO, R.W; MAIA, F.A; SOUZA, P.H.M Avaliação da qualidade microbiológica de frutos minimamente processados comercializados em supermercados de Fortaleza. **Rev. Bras. Frutic**, v. 27, n.1, abr., 2005.

SILVEIRA, N.F. JUNQUEIRA, V.C.A. Métodos de Análise Microbiológica em alimentos. Campinas: ITAL, 2006. CD-ROOM.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A **Métodos de Análise Microbiológica em alimentos**. Campinas: ITAL, 2006. CD-ROOM.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, 1997. 182 p.

SILVA, N.; AMSTALDEN, V.C. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. Livraria Varela, São Paulo: 1997. p. 31-39 e 41-52.

VITAMINAS E CIA. Beterraba. Disponível em:

<<http://www.vitaminasecia.hpg.ig.com.br/beterrabaorientacao.htm>> Acesso em 28. ago.2007.

WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Drug-resistant *Salmonella*. **Fact Sheet**. n.39, apr. 2005. Disponível no site: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs139/en/> Acesso em: 24 ago. 2006. In SILVEIRA, N.F.; JUNQUEIRA, V.C.A. Métodos de Análise Microbiológica em alimentos. Campinas: ITAL, 2006. CD-ROOM.