

CONTAGEM DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS EM ALIMENTOS COMO TEMA GERADOR NO ENSINO DE MICROBIOLOGIA DE ALIMENTOS

Paula Daniela Pujol Garcia¹

Alice da Cruz²

Carjone Rosa Goncalves³

Paula Fernanda Pinto Da Costa⁴

Resumo:

Staphylococcus aureus são bactérias Gram positivas, pertencentes à família Micrococcaceae, quando vistos em microscópio aparecem na forma de cacho de uva. São anaeróbicas facultativas, com maior crescimento sob condições aeróbicas, quando então, produzem catalase. A presença desta bactéria em manipuladores portadores pode facilmente ser transmitida aos alimentos quando as boas práticas de manipulação não são adequadamente realizadas, podendo ocasionar problemas aos consumidores finais. Outras fontes de contaminação também podem ser originadas de equipamentos, superfícies e utensílios. Objetivou-se com este trabalho descrever as dinâmicas adotadas em aula prática visando fornecer ferramentas aos alunos de nutrição para conhecer as características do *Staphylococcus aureus*, sua detecção e importância para a área de alimentos e saúde e também avaliar a presença de *Staphylococcus aureus* em quatro tipos de alimentos prontos para o consumo. A turma foi dividida em quatro grupos, sendo cada um responsável pela análise de um alimento pronto. Foram escolhidos alimentos que apresentavam as características onde a bactéria é detectada com maior frequência, ou seja, produtos recheados, preparados de véspera, com alta atividade de água, muitos ingredientes, fracionados ou muito manipulados, sendo eles: queijo muçarela, pizza congelada de calabresa e torta recheada com doce de leite, chocolate e coberta com chantili. Ainda foi incluído um alimento com características opostas as condições ótimas de crescimento do micro-organismo, ou seja, baixa atividade de água, nenhuma manipulação humana direta, embalagem individual, estável a temperatura ambiente, neste caso foi escolhido o produto biscoito tipo cream cracker integral. A detecção de *Staphylococcus aureus* foi realizada de acordo com o método de contagem direta em placas, de acordo com o método da APHA (American Association Public Health Association). Foi utilizado o meio de cultura ágar Baird-Parker, suplementado com gema de ovo e telurito de potássio. Através da contagem de *Staphylococcus aureus* foram encontrados na pizza $1,8 \times 10^4$ (UFC/g), no queijo $5,3 \times 10^3$ (UFC/g), bolo recheado $1,5 \times 10^3$ (UFC/g) e no biscoito do tipo cream cracker integral $4,0 \times 10^2$. Baseado nas dinâmicas construídas em aulas práticas foi evidenciado que a finalidade da demonstração prática foi apropriada e proveitosa, pois através da comparação entre os produtos e a avaliação da interação com os parâmetros intrínsecos e

extrínsecos de cada produto foi possível demonstrar as condições propícias ao desenvolvimento da bactéria, explicando, por exemplo, que produtos com várias etapas exigidas para manipulação, com alta atividade de água, ou ainda, com uma grande variedade de recheios ou coberturas, como neste caso a pizza congelada e a torta doce recheada, são mais propensos ao desenvolvimento da bactéria, além de aliar esta discussão com a importância das boas práticas de manipulação de alimentos e enfatizar a importância do profissional no processamento dos alimentos.

Palavras-chave: Microbiologia, alimentos, aula prática, DTAS.

Modalidade de Participação: Iniciação Científica

CONTAGEM DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS EM ALIMENTOS COMO TEMA GERADOR NO ENSINO DE MICROBIOLOGIA DE ALIMENTOS

¹ Aluno de graduação. paulapujolg@gmail.com. Autor principal

² Aluno de graduação. alicedacruz96@gmail.com. Co-autor

³ Técnico Administrativo em Educação. carjonegoncalves@unipampa.edu.br. Co-autor

⁴ Docente. paulacosta@unipampa.edu.br. Orientador



CONTAGEM DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* EM ALIMENTOS COMO TEMA GERADOR NO ENSINO DE MICROBIOLOGIA DE ALIMENTOS

1. INTRODUÇÃO

Staphylococcus aureus são bactérias Gram positivas, pertencentes à família *Micrococcaceae*, quando vistos em microscópio aparecem na forma de cacho de uva. São anaeróbicas facultativas, com maior crescimento sob condições aeróbicas, quando então, produzem catalase (SILVA et al., 2010).

Segundo Jay (2005), as espécies de estafilococos são hospedeiro- adaptadas, e metade delas habitam humanos e outros animais. São encontrados próximo a aberturas do corpo e superfícies da pele (narinas, axila e na área das virilhas). Sendo que, as fontes mais importantes de contaminação para os alimentos são as fossas nasais, mãos e braços de manipuladores de alimentos com furúnculos e carbúnculos.

De acordo com Raddi, Leite e Mendonça (1988) em um estudo avaliando a presença desta bactéria em manipuladores, observaram que de um total de 48 manipuladores, aproximadamente 44,1% eram portadores. A presença desta bactéria em manipuladores portadores pode facilmente ser transmitida aos alimentos quando as boas práticas de manipulação não são adequadamente realizadas, podendo ocasionar problemas aos consumidores finais. Outras fontes de contaminação também podem ser originadas de equipamentos, superfícies e utensílios.

Esta bactéria pode causar infecções e no caso de alimentos pode causar intoxicação, caso as condições sejam propícias ao seu desenvolvimento. A intoxicação alimentar estafilocócica é uma das doenças transmitidas por alimentos mais frequentes no Brasil (AMSON, HARACEMIV e MASSON, 2006). É causada pela ingestão de alimentos que contenham uma ou mais enterotoxinas, as quais são produzidas somente por algumas espécies e linhagens de estafilococos. Embora a produção de enterotoxinas esteja geralmente associada a *S. aureus* coagulase e termonuclease (TNase) positivos, algumas espécies de estafilococos que não produzem nenhuma dessas enzimas também podem produzir enterotoxinas (JAY, 2005).

Os sintomas de intoxicação estafilocócica aparecem geralmente dentro de quatro horas após a ingestão dos alimentos contaminados. Os sintomas relatados são náuseas, câibras abdominais (as quais são, geralmente, bastante agudas), diarreia, dor de cabeça, sudorese, prostração e, algumas vezes, uma queda na temperatura corporal, geralmente tem duração de 24 a 48 horas, e a taxa de mortalidade é bastante baixa ou nula (JAY, 2005).

Os alimentos mais frequentemente incriminados em surtos de intoxicação alimentar são aqueles que envolvem uma variedade de condimentos e que exigem um maior tempo de preparo manipulação, como por exemplo: produtos de confeitaria recheados, cremes, bolos com coberturas cremosas, presuntos, leite e derivados e saladas (GOULART, LACERDA e DIAS, 2016; FORSYTHE, 2002).

Desta forma, é de grande importância que os profissionais ligados às áreas da saúde e também da tecnologia de alimentos, como por exemplo, os bacharéis em Nutrição, engenheiros de alimentos, cientistas de alimentos, dentre outros profissionais relacionados estejam preparados para prevenir surtos, garantir a

segurança dos alimentos, entender as condições que propiciam o crescimento dos micro-organismos, bem como, a forma de evitá-los.

O componente curricular Microbiologia de Alimentos é um dos componentes obrigatórios do curso de Nutrição, onde focaliza na biologia geral dos micro-organismos que são encontrados nos alimentos, explorando os elementos fundamentais que afetam sua presença, sua atividade e seu controle (JAY, 2005) e também correlaciona com elementos da tecnologia de alimentos e da área da saúde, através de aulas teóricas e práticas que utilizam vários recursos que auxiliam o aluno na construção do conhecimento.

Como a aprendizagem exige a compreensão e a apreensão do conteúdo pelo estudante, é essencial a construção de um conjunto relacional, de uma rede, de um sistema, em que o novo conhecimento aprendido pelo aluno amplie ou modifique o sistema inicial, a cada contato (ANASTASIOU, 2009).

Sendo assim, são utilizadas várias ferramentas em aulas teóricas e práticas objetivando os alunos a associarem o conhecimento teórico com as situações cotidianas. Neste sentido, considerando a importância da bactéria *Staphylococcus aureus* para a área de alimentos, devido a sua prevalência em surtos é primordial que o futuro profissional esteja preparado e esclarecido.

Objetivou-se com este trabalho descrever as dinâmicas adotadas em aula prática visando fornecer ferramentas aos alunos de nutrição para conhecer as características do *Staphylococcus aureus*, sua detecção e importância para a área de alimentos e saúde e também avaliar a presença de *Staphylococcus aureus* em quatro tipos de alimentos prontos para o consumo.

2. METODOLOGIA

A aula prática foi realizada no Laboratório de Microbiologia sob orientação da professora regente do componente curricular.

A turma foi dividida em quatro grupos, sendo cada um responsável pela análise de um alimento pronto. Foram escolhidos alimentos que apresentavam as características onde a bactéria é detectada com maior frequência, ou seja, produtos recheados, preparados de véspera, com alta atividade de água, muitos ingredientes, fracionados ou muito manipulados, sendo eles: queijo muçarela, pizza congelada de calabresa e torta recheada com doce de leite, chocolate e coberta com chantili.

Ainda foi incluído um alimento com características opostas as condições ótimas de crescimento do micro-organismo, ou seja, baixa atividade de água, nenhuma manipulação humana direta, embalagem individual, estável a temperatura ambiente, neste caso foi escolhido o produto biscoito tipo cream cracker integral.

A detecção de *Staphylococcus aureus* foi realizada de acordo com o método de contagem direta em placas, de acordo com o método da APHA (*American Association Public Health Association*) descrito em Silva et al., (2010). Foi utilizado o meio de cultura ágar Baird–Parker, suplementado com gema de ovo e telurito de potássio.

Foram realizadas três diluições, utilizando água peptonada 0,1% como diluente, realizando as diluições de 10 a 1000 vezes a concentração da amostra inicial. As placas foram incubadas a 35°C durante 48 horas e após foi realizada a contagem, onde foi demonstrado aos alunos o procedimento de contagem, a forma de cálculo e expressão dos resultados em notação científica e as características típicas das colônias, colônias pretas ou cinzas escuras com 2-3 mm de diâmetro, lisas, convexas, com bordas perfeitas, massa de células esbranquiçadas nas bordas,

rodeadas por uma zona opaca ou halo transparente. Por motivo de ausência de plasma de coelho não foi realizado o teste coagulase, sendo este apenas explicado.

Após a obtenção dos resultados, o assunto foi trabalhado em aula através de um exercício de pesquisa distribuído aos grupos, onde os mesmos deveriam pesquisar o seu produto e relacionar a presença da bactéria com os alimentos, expressar os resultados, interpretá-los e compará-los com a legislação vigente. Respondendo as questões: (a) Qual a importância da análise de *Staphylococcus* coagulase positiva em alimentos?; (b) Por que a análise é dita como determinação de *Staphylococcus* coagulase positiva e não de *Staphylococcus aureus*? (c) Descreva como são as colônias de *Staphylococcus* quando se utiliza o meio Baird Parker?; (d) Faça uma tabela com os seus resultados e os dos demais grupos e discuta; (e) Pesquise na legislação vigente o limite para o alimento analisado e discuta se o resultado está dentro do que é preconizado.

3. RESULTADOS e DISCUSSÃO

Na tabela 1 estão apresentados os resultados da contagem de *Staphylococcus aureus* nos alimentos avaliados. Observa-se que dentre os alimentos analisados, a pizza foi o alimento que apresentou maior contagem, de *Staphylococcus aureus*, seguido do queijo, bolo recheado, sendo a menor contagem observada no biscoito integral.

Os três primeiros produtos têm como característica em comum um maior número de fases para sua preparação, deste modo, ficam mais expostos às condições propícias a contaminação e crescimento da bactéria.

Comparando os resultados com a legislação vigente observa-se que apenas o biscoito integral atendeu ao limite preconizado, sendo que a pizza apresentou contagens quase dez vezes acima do limite estabelecido pela RDC 12/2001 da ANVISA. No entanto, ressalta-se que os resultados são oriundos de experimentos realizados em aula prática e por motivos de ausência de plasma de coelho, o teste para avaliação da enzima coagulase não foi realizado, portanto, não é possível afirmar que todas as colônias são positivas, visto que a legislação vigente estipula limites para *Staphylococcus* coagulase positivos e não simplesmente de *Staphylococcus aureus*.

Tabela 1 - Contagem de *Staphylococcus aureus* em diferentes produtos alimentícios como ferramenta didática para o ensino do assunto em aulas práticas de microbiologia de alimentos

Alimento	Contagem de <i>S. aureus</i> (UFC/g)	Limite da legislação
Pizza	$1,8 \times 10^4$	5×10^3
Queijo	$5,3 \times 10^3$	1×10^3
Bolo recheado	$1,5 \times 10^3$	$1,0 \times 10^3$
Biscoito do tipo cream cracker integral	$4,0 \times 10^2$	5×10^2

A respeito dos resultados observados nos diversos produtos avaliados, atribui-se os menores valores observados no biscoito à sua baixa atividade de água. Segundo Jay (2005) a atividade de água é um dos principais fatores limitantes ao desenvolvimento de microrganismos. O biscoito cream cracker é um alimento que apresenta atividade de água abaixo 0,60, desta forma, não oferece condições propícias ao crescimento deste micro-organismo.

Com relação ao bolo recheado, Goularte (2016) analisando 32 surtos notificados nos diferentes municípios mineiros, relataram que 29 destes estavam relacionados ao consumo de bolo, sendo estes apresentaram contagem de *Staphylococcus* spp. igual ou superior a 10^5 UFC/g, valores superiores a este estudo.

No presente estudo observa-se que a contagem de *Staphylococcus* é superior aos limites da exigidos pela legislação nos diversos alimentos. A contaminação do queijo, por exemplo, pode ocorrer, pois este é um alimento que passa por várias fases de manipulação, como a etapa de fatiamento, onde o alimento exige contato humano e desta forma está propício a uma contaminação cruzada.

Koelln (2009) avaliando sete queijos do tipo Muçarela comercializados na região oeste do Paraná, reportou que todas as amostras apresentavam níveis dentro dos limites permitidos pelos padrões microbiológicos e sanitários para alimentos regulamentados pela Resolução RDC nº 12 (ANVISA, 2001).

Assis et al. (2015) avaliando a qualidade microbiológica de pizzas congeladas, reportaram que apesar de 67% das análises apresentarem crescimento em meio Baird Parker, todas as colônias eram atípicas.

Do ponto de vista econômico, destaca-se a importância da prevenção de doenças transmitidas por alimentos, principalmente relacionadas aos surtos de *Staphylococcus aureus*, visto que estimativas anteriores apontam que os gastos pelo governo alcançaram em torno de R\$ 1.870.000,00 somente em internações devido às doenças transmitidas por alimentos, como apontado pelo estudo realizado por Gisele Van Amson em 2006, ou seja, considerando as atualizações monetárias estes custos aumentaram.

Através da realização de aulas práticas sobre o tema os alunos vivenciaram experiências que os preparam para a vida profissional e o embasam sobre os tipos de microrganismos que podem estar presente em determinados alimentos, bem como as condições que propiciam o seu crescimento e as formas de prevenção das doenças transmitidas por alimentos.

Os mesmos aprenderam que é necessário que os profissionais ligados à produção e processamento de produtos alimentícios executem adequadamente as boas práticas de manipulação e ações voltadas para o controle de qualidade dos alimentos, desde a escolha da matéria-prima até a obtenção do produto final e assim prevenir riscos produzidos por microrganismos.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Baseado nas dinâmicas construídas em aulas práticas foi evidenciado que a finalidade da demonstração prática foi apropriada e proveitosa, pois através da comparação entre os produtos e a avaliação da interação com os parâmetros intrínsecos e extrínsecos de cada produto foi possível demonstrar as condições propícias ao desenvolvimento da bactéria, explicando, por exemplo, que produtos com várias etapas exigidas para manipulação, com alta atividade de água, ou ainda, com uma grande variedade de recheios ou coberturas, como neste caso a pizza congelada e a torta doce recheada, são mais propensos ao desenvolvimento da bactéria, além de aliar esta discussão com a importância das boas práticas de manipulação de alimentos e enfatizar a importância do profissional no processamento dos alimentos.

5. REFERÊNCIAS

AMSON, G. V.; HARACEMIV, S. M. C.; MASSON, M. L. **Levantamento de dados epidemiológicos relativos à ocorrências/ surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTAs) no Estado do Paraná - Brasil, no período de 1978 a 2000.** Ciênc. e agrotec. Lavras, v.30, n.6, p.1139-1145, 2006.

ANASTASIOU, L. G. C., ALVES L. P. **Processos de ensinagem na universidade: pressupostos para as estratégias de trabalho em aula.** Joenvile: Univille, p. 15-40, 2009.

ASSIS, D. A., MENEGAZZI, G. S., NASCIMENTO, L. A., DUARTE, T. G., VILANOVA L. B., MACHADO, M. R. G. **Avaliação microbiológica de pizzas pré-prontas comercializadas na cidade de Pelotas-RS.** 5 Simpósio de Segurança Alimentar Alimentação e Saúde, 2015.

BRASIL. RDC nº 12 de 02 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF. Poder Executivo, de 10 de janeiro de 2001.

Forsythe, S. J. **Microbiologia da Segurança alimentar.** Porto Alegre: Artmed, 2002. 424 p.

GOULART, A.E.R.; LACERDA, I.C.A.; DIAS, R.S. **Potencial risco de intoxicação alimentar por *Staphylococcus spp.* enterotoxigênicos isolados de bolos com cobertura e recheio.** NBC-Periódico Científico do Núcleo de Biociências, v. 6, n. 11, p. 11-17, 2016.

JAY, J. **Microbiologia de Alimentos.** 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 711p.

KOELLN, F. T. S., MATTANA, A., HERMES, E. **Avaliação microbiológica do queijo tipo mussarela e queijo colonial comercializado na região oeste do Paraná.** Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial, Paraná, v. 3, n. 2, p. 66-74, 2009.

RADDI, M. S. G.; LEITE, C. Q. F.; MENDONÇA, C. P. ***Staphylococcus aureus*: portadores entre manipuladores de alimentos.** Rev. Saúde públ., São Paulo, v. 22, n.1, p.36-40, 1988.

SILVA, N., JUNQUEIRA, V. C. A., SILVEIRA, N. F. A., TANIWAKI, M. H., SANTOS, R. F. S., GOMES, R. A. R. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água.** 4 ed. São Paulo: Varela, 2010. 632 p.