

Principais Bactérias de Interesse Médico Encontrados em Molhos e Condimentos de Lanchonetes Tipo *Fast Food*

Main Medical Interest Bacteria Found in Sauces and Condiments from Fast Food Restaurants

Gildemar José Bezerra Crispim^a; Vinicius Marques Oliveira^a

^aFaculdade Anhanguera de Brasília, DF, Brasil

Resumo

Com o grande consumo de alimentos em lanchonetes *fast food* pelo brasileiro, observa-se a associação de várias doenças a esse consumo, como intoxicações alimentares e alergias. Parte das intoxicações é causada por molhos à base de maionese que são consumidos nos estabelecimentos comerciais, favorecendo a proliferação e crescimento de bactérias. Para estudar a situação, foram analisadas cinco lanchonetes, de onde foram coletadas quatro amostras, em meio de transporte Stuart, em diferentes dias e semeadas, em meios complexos, como Ágar Sangue e Chocolate e meios seletivos, como Ágar *Salmonella Shigella* e Manitol Salgado e, incubados em estufa. Com o crescimento das colônias foram feitas análises para identificação das bactérias, como a observação das características macroscópicas, de Gram, de antibióticos e testes bioquímicos como de Catalase, Oxidase e Bile esculina. Obteve-se incidência de algumas cepas bacterianas principais como *Salmonella sp*, *Shigella sp*, *Staphylococcus sp* e *Escherichia coli* que são causadoras de importantes patologias.

Palavras-chave: Lanchonetes. *Fast Food*. Intoxicação. Maionese.

Abstract

With great food consumption of fast food by Brazilian observed diseases that are routinely related to consumption such as poisoning. The base of mayonnaise sauces consumed in establishments as they are easily contaminated and provide a habitat conducive to bacterial growth causes most poisonings. So were analyzed 5 cafeterias where they were collected 4 samples in each transportation Stuart on different days and sown in complex media such as Blood and Chocolate Agar and selective media such as Shigella and Salmonella Agar Salt Mannitol and incubated in an incubator. With the growth of colonies analyzes were performed to identify the bacteria, as the analysis of macroscopic characteristics, Gram, antibiotics and biochemical tests as catalase, oxidase and Bile esculin. Obtained incidence of some major bacterial strains such as Salmonella sp, Shigella sp, Staphylococcus sp and Escherichia coli that are causing major pathologies.

Keywords: Diner. *Fast Food*. Intoxication. Mayonnaise.

1 Introdução

Em 2008, Estudos mostram que cresce o consumo de alimentos em lanchonetes tipo *fast food* no Brasil e que tornou-se assim um costume frequentar esse tipo de estabelecimento. Pesquisa da *Fast Food* no Brasil, conduzida pela *Shopper Experience* (2012), com mais de cinco mil consumidores brasileiros entre 18 e 55 anos, aponta que: “-74% dos brasileiros preferem ir a lanchonetes tipo *fast food* ao invés dos restaurantes tradicionais; 56% indicam que o sabor dos alimentos é o fator que mais atrai os consumidores; 28% dos brasileiros fazem refeições mais de uma vez por semana, 20% uma vez a cada quinzena, 13% ao menos uma vez por mês e 2% nunca consomem nestes locais” (SHOPPER EXPERIENCE, 2012).

Com essa mudança de hábitos do brasileiro notou-se a incidência de algumas patologias relacionadas a intoxicação alimentar onde estima-se que tal causa seja responsável por muitos episódios de doenças por ano e parte delas ligadas a molhos e condimentos oferecidos por esses estabelecimentos. Um dos principais e mais consumidos molhos é a maionese que é provavelmente o molho mais utilizado no mundo segundo

(SEIXAS, 2008), sendo uma emulsão de cor amarelada a base óleos vegetais (soja, canola ou girassol), ovos, suco de limão ou vinagre, sal, açúcar e água, podendo também ter acréscimos de ervas ou pimentas. Sendo um produto sensível deve-se ter ciência do processo correto de produção que deve acontecer de forma específica tendo insumos de boa qualidade utilizados em ordens pré determinadas.

A produção de maionese pode ocorrer de duas formas: Industrial, que é mais recomendada e regulamentada pela ANVISA de acordo com sua BPF (Boas Práticas de Fabricação), onde é produzida em câmaras frias estéreis, utilizando óleos, vinagres e açúcar e sal de boa qualidade acondicionados em tanques de acordo com suas especificações e ovos pasteurizados para reduzir a contaminação e utilização de automação específica como misturadores e emulsificadores, e a produção caseira que geralmente acontece em algumas lanchonetes, onde são utilizados ovos crus, óleos vegetais, sal e limão ou vinagre, produzidos em liquidificadores comuns na própria cozinha do estabelecimento, armazenada em frascos de utilização mútua e refrigerada em geladeira comum.

A produção de forma caseira gera muitas oportunidades

de contaminação por microrganismos no produto final, iniciando pela escolha de insumos como o ovo cru que é o um dos principais alimentos envolvido em surto de doenças alimentares (BRASIL, 2009), pela produção em ambiente sem refrigeração necessária, utilização de utensílios comuns como liquidificador que pode facilmente ser contaminado por outros alimentos e armazenamento em frascos que são utilizados mutuamente onde ocorre a contaminação pelos consumidores e pela degradação da maionese devido a falta de refrigeração durante as utilizações.

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), em 2001, a maionese esteve envolvida em 19,4% dos casos de intoxicação alimentar (FIGUEIREDO, 2003).

Alguns microrganismos são rotineiramente ligados a intoxicação após o consumo da maionese, como o grupo das *Salmonellas sp* que são consideradas na atualidade como as mais importantes causas de doenças transmitidas por alimentos e são ligadas geralmente a ovos devido a habitarem o trato gastrointestinal de aves e contaminarem seus ovos. Estudos feitos no município de Chapecó – Santa Catarina mostram que em 2007 enterobactérias do gênero *Salmonella* foram os agentes mais frequentes (53,2% dos surtos) e em 2006 foi o período em que mais ocorreu notificação por *Salmonella* (30,3%) e maionese foi o alimento mais frequentemente envolvido; (Marchi et al 2007). As *Salmonellas* são bacilos Gram negativos da família *Enterobacteriaceae*, não formadores de esporos, anaeróbios facultativos, catalase positivo oxidase negativos, redutores de nitrito e nitrito e geralmente móveis com flagelos peritriquios.

Dentre as mais diversas enfermidades contagiosas ao ser humano e a outros animais, estão as enterobactérias, como a *Salmonella spp* e a *Shigella spp* que possuem afinidade pelo sistema digestório e causam problemas intestinais (CORREA et al., 2010).

Também são relacionados a essas patologias os microrganismos das espécies *Shigella sp*, *Klebsiella sp* e *Staphylococcus sp*. As *Shigella sp* são bactérias gram-negativas, imóveis, anaeróbicas facultativas, pertencentes também à família *Enterobacteriaceae* e ao contrário de outros patógenos que habitam o intestino são altamente invasivas produzindo as invasinas que são proteínas específicas para a invasão dos enterócitos (células intestinais) e as Exotoxinas ShT1 e Shiga (ou Shiga-Toxina). O grupo *Klebsiella* também da família *Enterobacteriaceae* são imóveis e capsuladas também Gram negativas causadora de infecções diversas, como pneumonia e infecções do trato urinário, entre outras.

Já o grupo dos *Staphylococcus* são Gram positivos, capsulados imóveis, da família *Staphylococcaceae* muito ligados a intoxicação alimentar por molhos de lanchonete geralmente causadas por falta de higiene na produção e pois vivem bem em alimentos a base de ovos.

O objetivo desse artigo foi analisar os molhos, condimentos utilizados em lanchonetes tipo *fast food* para a investigação da incidência de microrganismos patogênicos relacionando

assim os processos da intoxicação alimentar. Além de identificar a incidência das cepas de *Salmonella sp*, *Shigella sp*, *Klebsiella sp* e *Staphylococcus sp* encontrados nos condimentos fornecidos por lanchonetes tipo *fast food* das regiões de Taguatinga e Ceilândia.

2 Material e Métodos

2.1 A alimentação dos brasileiros

Observa-se a preocupação com a qualidade de alimentos e a segurança alimentar em âmbito global. O conceito de Segurança Alimentar surgiu junto da crise alimentar global, tendo desde então evoluído. O aumento da preocupação do consumidor pela segurança alimentar surgiu após um conhecimento acrescido de situações de crise e de escândalos alimentares (SANTIAGO, 2011).

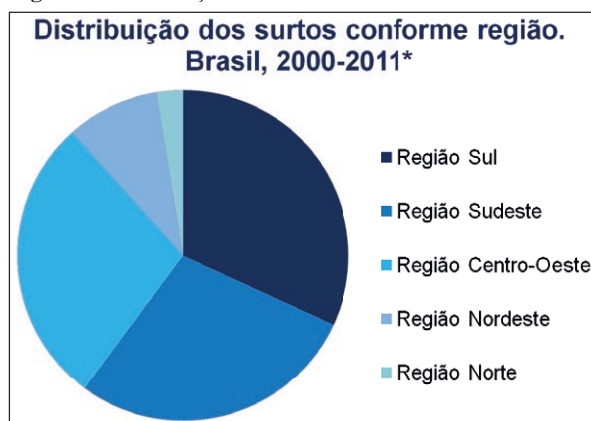
A tendência de aumento da alimentação fora de casa em regiões urbanas é observada mundialmente. No Brasil, essa relação aumentou de 24% para 31% em seis anos, entre 2002/03 e 2008/09 (IBGE, 2010).

A expansão das redes de *fast-food* (alimentação rápida) no Brasil iniciou-se pelas capitais e grandes cidades. Com o tempo, o grande número de pontos de vendas próximos uns dos outros e a ampliação do número de firmas atuantes provocaram um acirramento da concorrência. Para continuar no mesmo ritmo de expansão, as grandes firmas tiveram que buscar novos mercados em todo território brasileiro (MOITA et al., 2012).

O Brasil é um país singular no que tange a DTA – “Doenças Transmitidas por Alimentos”, pois possuímos produtos alimentícios de primeiro mundo, porém temos também alimentos sem a mínima condição de higiene. Os produtos alimentícios se apresentam muitas vezes com bactérias de todos os tipos. Constituem fator para prevenção das doenças de origem alimentar o controle higiênico e sanitário dos alimentos, sendo um relevante fator de desenvolvimento social (ARIZA, 2010).

2.2 Doenças transmitidas por alimentos – DTA

Figura 1: Distribuição dos surtos das DTA



Fonte: Dados do autor.

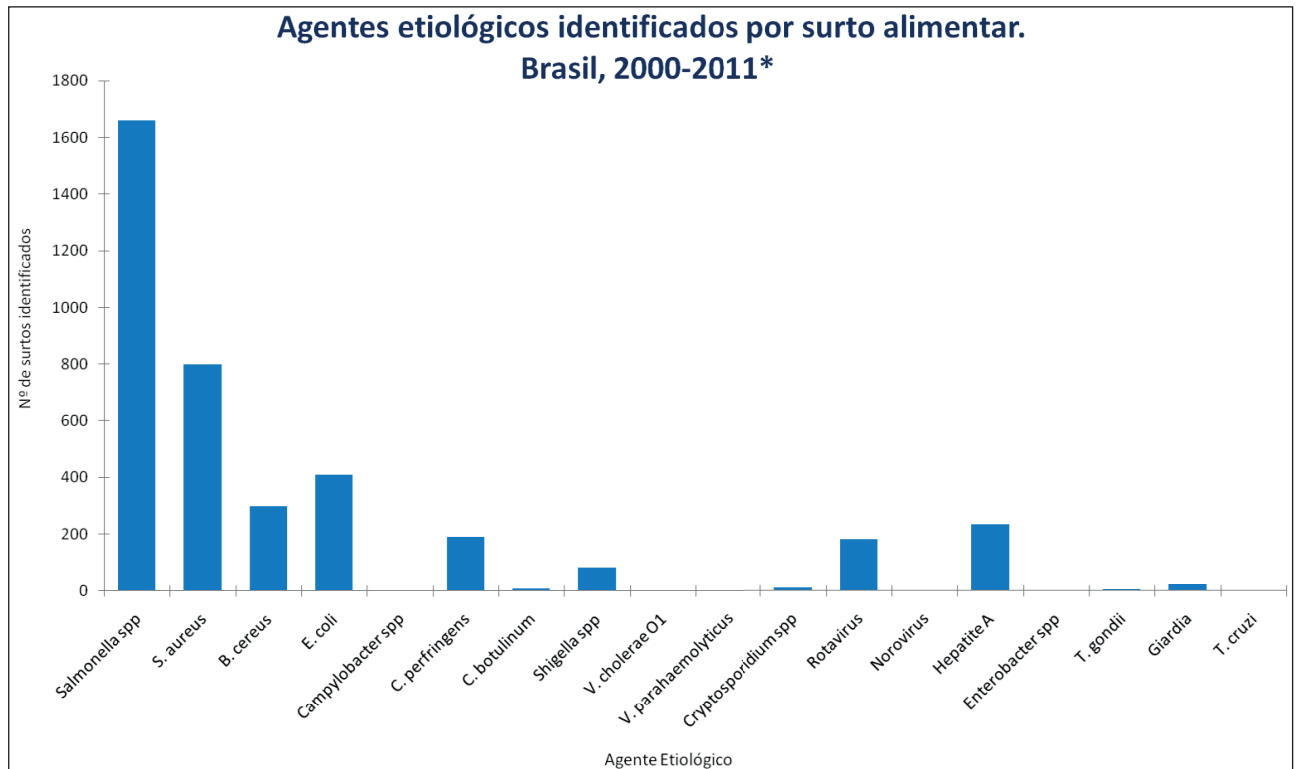
Os alimentos servidos nos restaurantes têm como fator negativo a insegurança, devido possibilidades de contaminação, podendo causar doenças veiculadas por alimentos. A qualidade de uma refeição é influenciada por inúmeros fatores, entre eles a qualidade da matéria-prima, a higienização dos utensílios utilizados e higiene dos manipuladores envolvidos no processo, bem como o monitoramento de parâmetros, como tempo e temperatura. A temperatura é um fator importante para a população microbiológica presente nos alimentos, por isso a distribuição

deve ocorrer com controle de tempo e temperatura para minimizar a multiplicação microbiana e proteger de novas contaminações (ALVES; UENO, 2010).

Hoje podem ser listadas mais de 250 DTA, sendo que a grande maioria são infecções causadas por bactérias e suas toxinas, vírus e parasitas (SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE, 2011).

Dados do DATASUS (2011) mostram que de 2000 até 2011 a *Salmonella sp* foi identificado em 1660 casos de surto alimentares no Brasil (Figura 2).

Figura 2: Agentes etiológicos identificados por surto de DTA



Fonte: DATASUS, 2011.

2.3 Principais patógenos

As infecções que são originadas pela presença dos micro-organismos do gênero *Salmonellas spp.*, consistem basicamente na orientação quanto a correta higienização pessoal, correta manipulação dos alimentos e eliminação dos dejetos (SILVA *et al.*, 2011).

Esta bactéria é responsável por causar toxinfecções alimentares em seres humanos relacionadas ao consumo de carne de frango e ovos e derivados contaminados o que explica o grande interesse pelo estudo desta doença (PICKLER, 2011).

Na vigilância sanitária de alimentos o *S. aureus* é considerado como um dos mais frequentes causadores de surtos de toxinfecção, devido ao importante papel desempenhado pelos manipuladores, durante as diferentes etapas de processamento dos alimentos e as temperaturas inadequadas de conservação pós-cozimento. Os alimentos

envolvidos, com elevado teor de umidade e alta porcentagem de proteínas, como as carnes e os produtos derivados de bovinos, suínos e de aves, além de ovos. Todavia, o leite e seus derivados como queijos cremosos e produtos de confeitaria são frequentemente incriminados em surtos de intoxicação estafilocócica (ARIZA, 2010).

A maionese é provavelmente o molho mais utilizado no mundo. Segundo Seixas (2008), nos produtos alimentícios constituídos basicamente de vegetais cozidos posteriormente adicionados de maionese, a contaminação e ou presença de microrganismos patogênicos e saprofílicos pode ocorrer em diferentes fases, desde a sua produção no campo até o consumo final. Assim, os ingredientes devem ser submetidos a uma higienização cuidadosa, principalmente aqueles que serão posteriormente adicionados crus aos cozidos e devem ser mantidos sob refrigeração, levando-se em conta que os ingredientes cozidos são picados após o cozimento e, portanto,

sujeitos a contaminações oriundas dos manipuladores e utensílios.

A adição de maionese pode exercer ação inibidora do desenvolvimento da maioria dos microrganismos, pois esta é uma emulsão composta de óleo, vinagre e ovos. Porém este último comporta-se como bom meio de cultura devido às suas propriedades nutritivas. Portanto, além da microbiota presente nos vegetais e ovos, que compõem este alimento, a falta de higiene dos manipuladores durante o seu preparo e manuseio, bem como as condições de armazenamento do produto, fazem com que os microrganismos possam vir a ocasionar deteriorações no alimento ou intoxicações alimentares nos consumidores (SEIXAS, 2008).

A maionese é definida como um creme feito à base de óleo, ovos e condimentos, sendo preparada a frio e apresentando-se em forma de emulsão. Acredita-se que o molho tenha surgido em 1976 na França e logo conquistaria o mundo inteiro, sendo utilizado em diversas receitas. No Brasil, o mercado é expressivo com 83,6%, ou seja, 36,8 milhões de lares e chegando a movimentar em torno de R\$ 600 milhões de reais anuais (NETO *et al.*, 2011).

Dentre as mais diversas enfermidades contagiosas ao ser humano e a outros animais, estão as enterobactérias, como a *Salmonella spp.* e a *Shigella spp.* que possuem afinidade pelo sistema digestório e causam problemas intestinais (CORREA *et al.*, 2010).

As bactérias do gênero *Shigella* são a causa de doenças diarreicas no homem resultantes de uma inflamação aguda do trato intestinal. Os agentes etiológicos da shigelose estão restritos à espécie humana e, raramente, ocorrem em outras espécies animais, exceto primatas não humanos (ARIZA, 2010).

As *Shigella spp.* alcançam os alimentos através da contaminação com matéria fecal humana, seja através da água, seja através das mãos dos manipuladores. A presença do agente em vários tipos de alimentos está diretamente relacionada com o papel desempenhado pelo próprio homem como disseminador da bactéria, principalmente quando as condições de higiene pessoal são limitadas (ARIZA, 2010).

As bactérias do gênero *Staphylococcus aureus* são habitantes usuais, da pele, das membranas mucosas, no trato respiratório superior e do intestino do homem, destacando-se dentre elas o *S. aureus* o de maior patogenicidade responsável por considerável proporção de infecções humanas.

O *S. aureus* é a mais resistente de todas as bactérias patogênicas. Multiplica-se entre 7° C e 48° C, sendo 37° C a temperatura ótima para o desenvolvimento. O início dos sintomas é geralmente rápido e de natureza aguda, sendo o período de incubação é de 2 a 4 horas. Os sintomas que mais ocorrem são diarreia, colcas abdominais, náuseas, vômito e ânsia de vômitos (ARIZA 2010).

2.4 Metodologia

A coleta aconteceu no período de um mês em dias e horas alternados onde foi feita com Swab coletando amostra do molho da lanchonete e reservando em meio de transporte o

Meio Stuart (Figura 3) para o percurso até o laboratório de análise, e posterior processamento e semeadura.

Figura 3: Meio Stuart

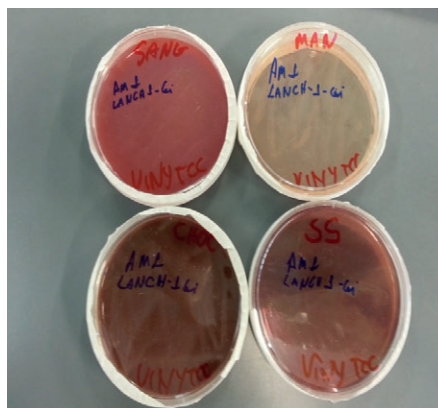


O processamento da amostra foi realizado com a semeadura por estriamento e tem como procedimento padrão citado no Manual Prático de Microbiologia Básica (ALCANTARA *et al.*, 2000) em etapas:

- Esterilizar a Alça de Platina para transferência. Resfriar a alça.
- Tocar a colônia selecionada com a alça e depois levar o inóculo até a superfície do meio de cultura sólido e dar um leve toque na mesma, próximo a parede da Placa de Petri.
- Colocar a alça sobre o local onde foi deixado o inóculo. A partir desse ponto inicia-se o processo de estriamento em “Z” ou vai e vem”.

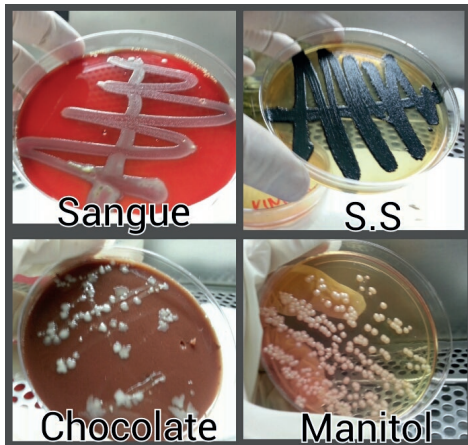
As amostras foram semeadas em meios de culturas diferentes (Figura 4), meios complexos como Ágar Sangue e Chocolate que são usados pois tem uma base rica e oferecem ótimas condições de crescimento da maioria dos microrganismos tanto Gram Positivos quanto Negativos e meios seletivos como Ágar *Salmonella Shigella* (SS) que seleciona as bactérias Gram Negativas principalmente as que dão nome ao ágar a *Salmonella sp.* e a *Shigella sp.* e Manitol Salgado que seleciona as bactérias Gram positivas, e assim foi feito o cultivo em estufa.

Figura 4: Meios de Cultura



Após crescimento foram analisados os aspectos físicos das colônias como tamanho, cor, aspectos específicos como colônias gelatinosas, aveludadas, brilhosa e características para diferenciação como a formação ou não de hemólise e o seu tipo se positivo, (Figura 5) então, iniciaram-se os testes bioquímicos e imunológicos.

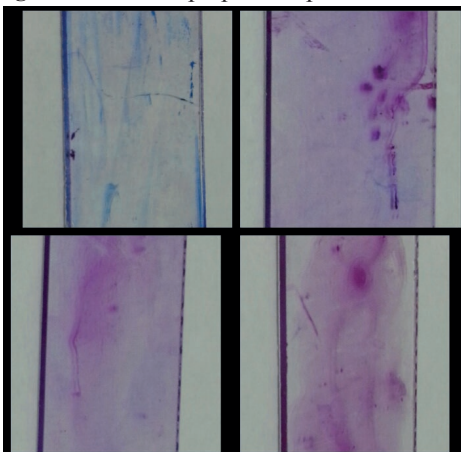
Figura 5: Colônias Bacterianas



Inicialmente foram feitos esfregaços e a coloração de Gram de acordo com o procedimento padrão citado em etapas no livro Microbiologia Básica (BARBOSA, 2010) (Figura 6):

- Neste processo é feito o esfregaço e sua fixação para receber o tratamento.
- Inicia-se com a coloração com solução de Cristal Violeta (que cora todas as bactérias).
- Solução de Lugol (que atua como fixador do corante).
- Lavagem com Álcool Cetona (que descolora as bactérias que não conseguem se fixar ao corante).
- Coloração com Fucsina que cora as bactérias lavadas e descoloradas pelo Álcool Cetona.

Figura 6: Lâminas preparadas para análise de Gram



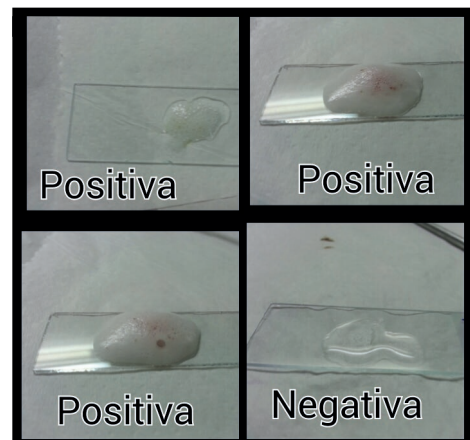
No final da coloração as bactérias apresentam-se roxas ou vermelhas. As primeiras que apresentam a cor roxa ou

azulada porque retiveram o complexo Violeta-Lugol e não descoloriram pelo álcool são as Gram positivas. As segundas devem sua cor vermelha ou roseada ao corante Fucsina já que não conservaram o complexo Violeta-Lugol sendo então Gram negativas.

Análise em microscopia ótica onde nota-se a presença de formas estruturais bacterianas características, seu agrupamento e sua coloração, como cocos, diplococos, bacilos, Gram positivos quando azulados, e Gram negativos quando rosas ou avermelhados.

Posteriormente a coloração de Gram foi feita a prova de Catalase que é determinada no Manual de Microbiologia Clínica e Controle de Infecções da ANVISA (2010) como: “Enzima que decompõe o peróxido de hidrogênio (H₂O₂) em água e oxigênio e tem como método a inoculação de colônia em lâmina estéril e inserção de uma gota de peróxido de hidrogênio (3%) sobre a colônia e deve ser interpretado como positivo quando ocorrer a presença imediata de bolhas (ANVISA 2010)” (Figura 7).

Figura 7: Prova de Catalase



2.4.1 Prova de Bile Esculina

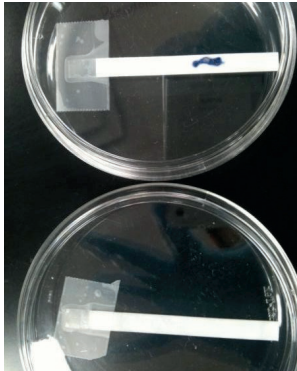
Trata-se de ágar enriquecido com esculina assim nutri bactérias capazes de hidrolisarem esculina presente na bilis, formando esculetina e dextrose. A esculetina reage com os sais de ferro presente no meio, tornando assim o meio enegrecido ou escurecido (Figura 8).

Figura 8: Prova de Bile Esculina



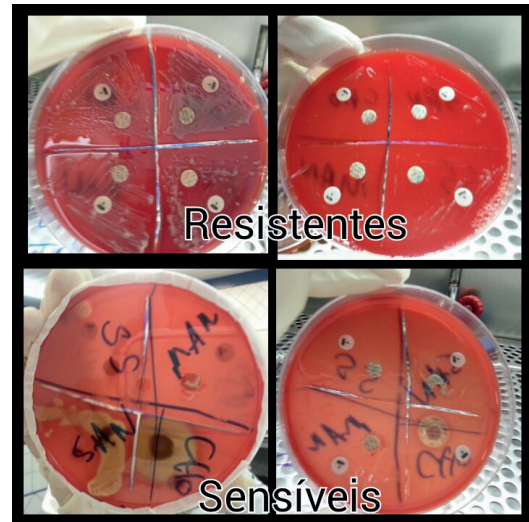
O teste de oxidase tem como princípio distinguir as bactérias que possuem a enzima oxidase (e o sistema de transporte de elétrons Citocromo Oxidase), chamadas de fermentadoras das que não possuem a enzima, as não fermentadoras. É feito em fita com substratos artificiais simulando os aceptores eletrônicos naturais. Assim em contato com oxigênio as bactérias e substratos ficam coloridos de azul, roxo ou preto (dependendo do kit) quando positivos ou incolor quando negativos (Figura 9).

Figura 9: Provas de Oxidase



ou sensibilidade, quando sensível tamanho do alo de inibição, de acordo com cada bactéria (Figura 10).

Figura 10: Análise de resistência de antibióticos



3 Resultados e Discussão

A Optoquina e a novabiocina são antibióticos especializados em alguns tipos de bactérias assim ao serem utilizadas em antibiogramas tem-se resultados de resistência

As amostras foram analisadas separadamente por lanchonete, onde foram analisadas 5 amostras de cada lanchonete e os resultados encontrados constituíram um quadro com os testes, resultados e descrições.

Quadro 1: Análise de resultados obtidos na lanchonete 1

Amostra 1		
Testes	Resultados	Descrição
Ágar Sangue	Cultura Positiva	Colônias Brancas amareladas
Ágar Chocolate	Cultura Positiva	
Ágar Manitol	Cultura Positiva	Colônias amareladas
Ágar S.S	Cultura Positiva	Colônias claras incolores e colônias rosadas
Tipo de Hemólise	Alfa e beta	Análise da formação de hemólise em ágar sangue podendo ser alfa quando hemólise parcial, beta quando total e gama quando não existe hemólise.
Coloração de Gram	Bacilos Gram Negativos e Cocos Gram Positivos	*Análise morfotintorial realizada através da bacterioscopia com presença de células em formas de Bastonetes com fixação do corante secundário (fucsina) pelo método de Gram. **Também presença de Cocos agrupados em arranjo de cachos e com fixação do corante primário (Violeta de Metila)
Prova de Bile Esculina	Positiva (+)	Análise das bactérias capazes de hidrolisarem esculina presente na bÍlis, tornando assim o meio enegrecido.
Prova de Catalase	Positiva (+)	Análise das bactérias catalase positivas e negativas, positivas quando forma-se bolhas ou espuma.
Prova de Oxidase	Negativa (-)	
Resistencia a Novabiocina	Cepa Resistente (+) Cepa Sensível (-)	Análise de crescimento ou não de colônias em volta do disco de antibiótico.
Resistencia a Optoquina	Resistente (+)	Análise de crescimento ou não de colônias em volta do disco de antibiótico.
Cepas encontradas: <i>Staphylococcus sp</i>, <i>Shigella sp</i> e <i>Escherichia coli</i>		

Quadro 2: Análise de resultados obtidos na lanchonete 2

Amostra 2		
Testes	Resultados	Descrição
Ágar Sangue	Cultura Positiva	Colônias brancas
Ágar Chocolate	Cultura Positiva	Colônias claras
Ágar Manitol	Cultura Positiva	Colônias claras puntiforme
Ágar S.S	Cultura Positiva	Colônias pretas.
Tipo de Hemólise	Beta e gama	Análise da formação de hemólise em ágar sangue podendo ser alfa quando hemólise parcial, beta quando total e gama quando não existe hemólise.
Coloração de Gram	Cocus Gram Positivos e Bacilos Gram Negativos	*Análise morfotintorial realizada através da bacterioscopia com presença de células em formas de Cocus com fixação do corante secundário (fucsina) pelo método de Gram. **Também presença de Cocos agrupados em arranjo de cachos e com fixação do corante primário (Violeta de Metila)
Prova de Bile Esculina	Positiva (+)	Análise das bactérias capazes de hidrolisarem esculina presente na bÍlis, tornando assim o meio enegrecido.
Prova de Catalase	Positiva (+) e Negativa (-)	Análise das bactérias catalase positivas e negativas, positivas quando forma-se bolhas ou espuma.
Prova de Oxidase	Negativa (-)	
Resistencia a Novobiocina	Resistente (+)	Análise de crescimento ou não de colônias em volta do disco de antibiótico.
Resistencia a Optoquina	Resistente (+)	Análise de crescimento ou não de colônias em volta do disco de antibiótico.
Cepas encontradas: <i>Enterococcus faecalis</i>, <i>Salmonella sp</i>		

Quadro 3: Análise de resultados obtidos na lanchonete 3

Amostra 3		
Testes	Resultados	Descrição
Ágar Sangue	Cultura Positiva	Colônia Branca amareladas
Ágar Chocolate	Cultura Positiva	Colônias claras pequenas e delicadas
Ágar Manitol	Cultura Positiva	Colônias claras
Ágar S.S	Cultura Positiva	Colônias claras
Tipo de Hemólise	Beta	Análise da formação de hemólise em ágar sangue podendo ser alfa quando hemólise parcial, beta quando total e gama quando não existe hemólise.
Coloração de Gram	Cocos Gram Positivo	Presença de Cocos agrupados em arranjo de cachos e com fixação do corante primário (Violeta de Metila)
Prova de Bile Esculina	Positiva (+) Negativa (-)	Análise das bactérias capazes de hidrolisarem esculina presente na bÍlis, tornando assim o meio enegrecido.
Prova de Catalase	Negativa (-)	Análise das bactérias catalase positivas e negativas, positivas quando forma-se bolhas ou espuma.
Prova de Oxidase	Negativa (-)	
Resistencia a Novabiocina	Sensível	Análise de crescimento ou não de colônias em volta do disco de antibiótico.
Resistencia a Optoquina		Análise de crescimento ou não de colônias em volta do disco de antibiótico.
Cepas encontradas: <i>Enterococcus faecalis</i>, <i>Streptococcus sp</i> e <i>Staphylococcus sp</i>		

Quadro 4: Análise de resultados obtidos na lanchonete 4

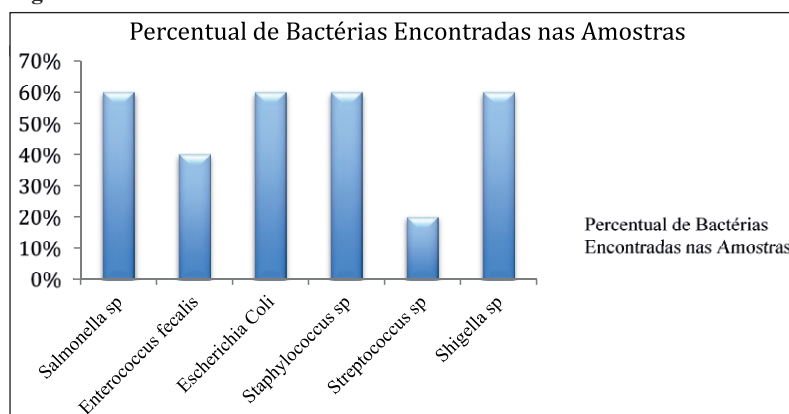
Continua ...

Amostra 4		
Testes	Resultados	Descrição
Ágar Sangue	Cultura Positiva	Colônias claras e rosadas
Ágar Chocolate	Cultura Positiva	
Ágar Manitol	Cultura Positiva	Colônias claras e amareladas
Ágar S.S	Cultura Positiva	Colônias claras e colônias pretas

Amostra 4		
Testes	Resultados	Descrição
Tipo de Hemólise	Alfa e beta	Análise da formação de hemólise em ágar sangue podendo ser alfa quando hemólise parcial, beta quando total e gama quando não existe hemólise.
Coloração de Gram	Cocos Gram Positivo (+) Bacilos Gram Negativo (-)	*Análise morfotintorial realizada através da bacterioscopia com presença de células em formas de Bastonetes com fixação do corante secundário (fucsina) pelo método de Gram. **Também presença de Cocos agrupados em arranjo de cachos e com fixação do corante primário (Violeta de Metila)
Prova de Bile Esculina	Positiva (+)	Análise das bactérias capazes de hidrolisarem esculina presente na bÍlis, tornando assim o meio enegrecido.
Prova de Catalase	Positiva (+)	Análise das bactérias catalase positivas e negativas, positivas quando forma-se bolhas ou espuma.
Prova de Oxidase	Negativa (-)	
Resistencia a Novabiocina	Sensível	
Resistencia a Optoquina		Análise de crescimento ou não de colônias em volta do disco de antibiótico.
Cepas encontradas: <i>Staphylococcus sp</i>, <i>Salmonella sp</i>, <i>Shigella sp</i> e <i>Escherichia coli</i>		

Quadro 5: Análise de resultados obtidos na lanchonete 5

Amostra 5		
Testes	Resultados	Descrição
Ágar Sangue	Cultura Positiva	Colônias claras e brilhantes
Ágar Chocolate	Cultura Positiva	
Ágar Manitol	Cultura Negativa	Ausência de crescimento.
Ágar S.S	Cultura Positiva	Colônias rosadas, colônias pretas e colônias claras.
Tipo de Hemólise	Beta	Análise da formação de hemólise em ágar sangue podendo ser alfa quando hemólise parcial, beta quando total e gama quando não existe hemólise.
Coloração de Gram	Bacilos Gram Negativo	*Análise morfotintorial realizada através da bacterioscopia com presença de células em formas de Bastonetes com fixação do corante secundário (fucsina) pelo método de Gram.
Prova de Bile Esculina	Positiva (+)	Análise das bactérias capazes de hidrolisarem esculina presente na bÍlis, tornando assim o meio enegrecido.
Prova de Catalase	Positiva (+) Negativa (-)	Análise das bactérias catalase positivas e negativas, positivas quando forma-se bolhas ou espuma.
Prova de Oxidase	Negativa	
Resistencia a Novabiocina		Análise de crescimento ou não de colônias em volta do disco de antibiótico.
Resistencia a Optoquina		
Cepas encontradas: <i>Salmonella sp</i>, <i>Shigella sp</i> e <i>Escherichia coli</i>		

Figura 11: Percentual de Bactérias encontradas nas Amostras

Em todos os meios de cultura encontrou-se o crescimento de mais de uma cepa bacteriana, o que provou que os molhos estavam contaminados por mais de uma bactéria que foram submetidas a testes para sua identificação. Foram encontradas bactérias Gram positivas como *Staphylococcus sp.* que habita a pele e a região nasal do homem e pode causar diversas patologias como a Gastroenterite Estafilocócica que tem como característica vômitos, diarreias aquosas e dores intestinais, *Enterococcus sp.* habitantes principalmente do trato gastrointestinal porém também encontrados em secreções vaginais e na região perianal causando patologias como Infecções do Trato Urinário causando dor, desconforto, sangramento em alguns casos e *Streptococcus sp.* que colonizam a região do trato respiratório, intestino e boca causadores de diversas doenças como Infecções da orofaringe, tonsilite, infecções articulares e Pneumonias (BRAGA *et al.*, 2013). E as Gram negativas como *Salmonella sp.* que é um dos principais grupos de bactérias responsáveis por intoxicações alimentares, geralmente no homem colonizam o trato gastro intestinal e causam diversas Gastroenterites, *Shigella sp.* que é uma enterobactérias causadora de diversas doenças do trato gastrointestinal possuindo a Shiga-toxina, e *Escherichia Coli* também é uma enterobactérias habitando assim o trato gastro intestinal causadora de diversas enterites como a Toxinfecção alimentar sendo todas elas patogênicas podendo causar grandes intoxicações. Deve-se ressaltar a incidência principal em 60% das amostras das bactérias *Salmonella sp.*, *Shigella sp.*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus sp.*, incidência de em 40% das amostras da bactéria *Enterococcus Fecalis* e 20% de presença da bactéria *Streptococcus sp.* (Quadro 3).

O grande consumo de alimentos de lanchonetes tipo fast food abre a porta do mercado alimentar a todo tipo de comerciante, o que traz a variação do modo de produção armazenamento e venda dos alimentos, alguns de forma correta e outros por outro lado de forma evidentemente indevida causando contaminações e assim surtos de intoxicações e de DTA. O Brasil é um país que tem uma grande quantidade de surtos de intoxicação alimentar em todo seu território que foi comprovado com essa pesquisa.

4 Conclusão

Diferente dos resultados esperados observou-se a presença de algumas cepas bacterianas como *Enterococcus sp.*, *Streptococcus sp.* e *Escherichia coli* que também são patogênicas e se desenvolveram bem nos meios de cultura selecionados, assim podemos verificar que os molhos foram contaminados também com bactérias presentes na pele, trato nasal, região gastro intestinal o que traz a possibilidade de contaminação dos insumos, na produção, no armazenamento e consumo dos alimentos. Por outro lado não houve a presença das bactérias do tipo *Klebsiella sp.* o que também era esperado.

Nota-se que em algumas lanchonetes a contaminação foi maior que outras, isso se deve as praticas adotadas em cada uma delas, como por exemplo nas lanchonetes onde o ambiente

possuía refrigeração dos molhos após o consumo, vestimentas adequadas dos funcionários da cozinha como touca, mascaras, luvas e aventais e era mais organizada e limpa notou-se uma contaminação menor, e por outro lado nas lanchonetes que não refrigeravam os molhos e os funcionários não tinham vestimentas adequadas notou-se uma contaminação bem maior o que mostra expressa a contaminação na produção, armazenamento e venda do alimento.

Referências

- ALCÂNTARA, F.; CUNHA, M.A.; ALMEIDA, M.A. Microbiologia: práticas laboratoriais. Aveiro: Universidade de Aveiro, 2001.
- ALVES, M.G.; UENO, M. Restaurantes self-service: segurança e qualidade sanitária dos alimentos servidos. *Rev. Nutr.*, v.23, n.4, p.573-580, 2010.
- ARIZA, A.T.O. Estufas: para que servem? 2010. Monografia (Especialização em Qualidade de Alimentos) - Universidade Castelo Branco, Campinas. 2010.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde. Módulo 5: *Tecnologia em Serviços de Saúde*: descrição dos meios de cultura empregados nos exames microbiológicos. Brasília: (ANVISA) 2010.
- BARBOSA, H.R.; TORRES, B.B. *Microbiologia básica*. São Paulo: Atheneu, 2010.
- BARRETTO, J.R.; SILVA L.R. *Intoxicações alimentares*. Divisão de doenças micóticas e bacterianas. 2013. Disponível em: http://www.medicina.ufba.br/educacao_medica/graduacao/dep_pediatria/disc_pediatria/disc_prev_social/roteiros/diarreia/intoxicacoes.pdf. Acesso em: 1 maio 2013.
- INSTRUÇÕES DE USO. *Ready-to-use-plated*. Chocolate Agar. Revista BD. Disponível em: <http://www.bd.com/resource.aspx?IDX=8994>. Acesso em: 31 set. 2011.
- BRAGA, A.C.P. *et al.* *Bactérias gram positivas*. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/servicos/controle/rede_rm/cursos/boas_praticas/modulo4/objetivos.htm. Acesso em: 1 maio 2013.
- NOTÍCIAS. *Vigilância intensifica fiscalização em lanchonetes*. Prefeitura de Votuporanga, São Paulo. Disponível em: <http://www.votuporanga.sp.gov.br/www/noticia/?nid=3257>. Acesso em: 27 fev. 2013.
- BRASIL. Ministério da Saúde. *Doenças Transmitidas por Alimentos*. DTA. DATASUS. Dados epidemiológico – DTA período de 2000 a 2011. Brasília: Ministério da Saúde, 2011.
- PESQUISA DE ORÇAMENTOS FAMILIARES. 2008-2009: Despesas, Rendimentos e Condições de Vida. Rio de Janeiro: IBGE, 2010.
- BRASIL. Ministério da Saúde. *Publicações em jornais e revistas*. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/202122082011.pdf>. Acesso em: 25 fev. 2013.
- FIGUEIREDO, R.M. *As Armadilhas de uma Cozinha*. Coleção Higiene dos Alimentos. v.3 São Paulo: Manole, 2003.
- FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. *Microbiologia dos Alimentos*. São Paulo: Atheneus, 2003.
- LACAZ, R.R. *Manual prático de microbiologia básica*. São Paulo: Edusp, 2000.
- MARCHI, M.D. *et al.* Ocorrência de surtos de doenças transmitidas por alimentos no Município de Chapecó, Estado de Santa Catarina, 1995 a 2007. *Epidemiol. Serv. Saúde*, v.20, n.3, p.401-407, 2011.

MOITA, R.M.S.M.; GUERRA, A. Entradas e bandeiras: estratégia de interiorização das cadeias de fast-food. *ERA*, v.52, n.01, p.85-98, 2012,

NASCIMENTO, T.C. *Cocos gram negativos de interesse clínico*. Disponível em: <http://www.ufjf.br/ppgpmi/files/2010/04/SITECocos-Gram-negativos-de-interesse-m%C3%A9dico.pdf>. Acesso em: 30 set. 2013.

PICKLER, L. *Ácidos orgânicos via água e via ração para controlar salmonela entérica sorovares entretidas e minnesota em frangos*. 2011. 67 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 2011.

SANTIAGO, A.R.C. *Introdução da norma IFS Alimentar no processo de fabrico, embalagem, armazenagem e expedição dos fios de ovos*. 2011. 139 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia e Segurança Alimentar) - Faculdade de Ciencia e Tecnologia,

Universidade Nova de Lisboa, Portugal. 2011.

SEIXAS, F.R.F. *Verificação das boas práticas de fabricação (BPF) e análise da qualidade microbiológica de saladas adicionadas de maionese comercializadas na cidade de São José do Rio Preto*. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos) - Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, São José do Rio Preto. 2008.

SANTOS, M. V. *et al*. Os Restaurantes por peso no contexto de alimentação saudável fora de casa. *Rev. Nutr.*, v.24, n.4., 2011.

SILVA, E.V. *et al*. Análise da qualidade microbiológica de maioneses comercializadas em Pombal. *Cad. Verde Agroecol. Desenvol. Sustentavel*, v.1, n.1, 2011.

VAZ, T.M.I. *Identificação de Enterobactérias*. São Paulo: (ANVISA) 2000.