

ESTAFILOCOCOS COAGULASE POSITIVA EM CARNE MOÍDA DE ESTABELECIMENTOS COMERCIAIS DO MUNICÍPIO DE PELOTAS, RS.

**CAROLINE PEREIRA DAS NEVES¹; TATIANE KUKA VALENTE GANDRA²;
KELLY LAMEIRO RODRIGUES³; JOZI FAGUNDES DE MELLO⁴; ELIEZER
AVILA GANDRA⁵**

¹*Laboratório de Ciências dos Alimentos e Biologia Molecular (LACABIM), Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos (PPGNA), Universidade Federal de Pelotas (UFPel) – neves_caroline@ymail.com*

²*LACABIM, Faculdade de Nutrição, UFPel – tkvgandra@yahoo.com.br*

³*Faculdade de Nutrição, UFPEL – lameiro_78@hotmail.com*

⁴*Faculdade de Nutrição, UFPEL – jozimello@gmail.com*

⁵*LACABIM, PPGNA, Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos (CCQFA), UFPel – gandraea@hotmail.com*

1. INTRODUÇÃO

Carne e produtos à base de carne são alimentos considerados fontes de proteína de alta qualidade, devido possuir todos os aminoácidos essências em quantidades necessárias para o atendimento das necessidades diárias destes nutrientes, além de fornecer ferro, zinco e algumas vitaminas do complexo B (SALTER, 2018). Entretanto, é importante destacar que a riqueza de nutrientes associada a alta atividade de água e a pH próximo a neutralidade tornam os alimentos de origem animal produtos altamente perecíveis, isso porque essas características intrínsecas facilitam a sobrevivência e multiplicação de diversos micro-organismos, inclusive patogênicos, além de propiciar a rápida deterioração do alimento. Outro fator que está relacionado a segurança da carne é o elevado risco de contaminação em toda a sua cadeia produtiva, desde o abate e evisceração até a manipulação no processamento, estocagem e comercialização (FORSYTHE, 2013; GERMANO, 2019).

No Brasil a carne bovina *in natura*, processados e miúdos foram responsáveis por 4,4% dos casos de Doenças Transmitidas por Alimentos que tiveram seus agentes etiológicos identificados entre os anos de 2012 e 2021 (BRASIL, 2022a). Dentre os microrganismos que podem estar presentes em carnes, *Staphylococcus aureus* tem como característica a formação de enterotoxinas no alimento e a ingestão dessas enterotoxinas pode causar intoxicação alimentar estafilocócica (FORSYTHE, 2013; FDA, 2022).

Considerando que a carne *in natura* é um alimento altamente perecível, com risco de contaminação por micro-organismos em diversas etapas da cadeia de produção e sua alta frequência relacionada a surtos de DTA, o objetivo desse estudo foi quantificar estafilococos coagulase positiva em amostras de carnes bovinas moídas comercializadas em estabelecimentos comerciais do município de Pelotas, RS.

2. METODOLOGIA

Foi feita uma pesquisa no site Google para identificar o número de açougueiros no município de Pelotas, RS, e a partir deste número foram selecionados de forma aleatória 36 estabelecimentos (representando 25% do quantitativo encontrado) para a coleta de duas amostras de carne bovina moída em cada local em períodos distintos do ano de 2022, simulando uma situação de compra real. No primeiro período foram coletadas 36 amostras de carne moída classificadas

qualitativamente como “carne de segunda”, enquanto que no segundo período foram coletas 34 amostras do mesmo tipo, isso porque na segunda coleta dois estabelecimentos comerciais haviam fechado, totalizando 70 amostras.

Em cada coleta as amostras foram devidamente identificadas e transportadas em caixa isotérmica com gelo imediatamente após a coleta até o Laboratório de Microbiologia de Alimentos da Faculdade de Nutrição da Universidade Federal de Pelotas (UFPel) para a quantificação de estafilococos coagulase positiva. As análises microbiológicas foram realizadas de acordo com a metodologia recomendada pelo *Bacteriological Analytical Manual* (FDA, 2001) e para avaliação dos resultados das análises foram levados em consideração os padrões microbiológicos para o grupo de alimentos “carne bovina, suína e outras” e a categoria específica “carne moída, produtos cárneos crus moldados, temperados ou não, refrigerados ou congelados (hambúrgueres, almondegas, quibes)” da Instrução Normativa nº161, de 1º de julho de 2022 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde do Brasil (BRASIL, 2022b).

Para a quantificação de estafilococos coagulase positiva as amostras foram submetidas a diluições seriadas, logo após foi inoculado 1 mL de cada diluição em 3 placas de *Agar Baird Parker* (ABP) adicionado de emulsão gema de ovo e telurito de potássio, pela técnica do espalhamento em superfície. As placas foram incubadas invertidas a 37°C por 48 horas e, após esse período, as colônias presuntivas típicas e atípicas foram contadas. Considerou-se colônias típicas aquelas circulares, lisas, convexas, de 2-3 mm de diâmetro, negras com textura úmida, bordas esbranquiçadas e rodeadas por uma zona opaca e frequentemente com um halo transparente. Para as colônias atípicas, foram consideradas, aquelas negras ou acinzentadas com um ou dois halos e também aquelas sem halos. Três colônias de cada tipo foram selecionadas, inoculadas em Caldo Infusão Cérebro Coração (BHI) e incubadas a 37°C por 24 horas. Posteriormente, foi transferido 0,5 ml do cultivo em BHI para um tubo contendo Coagulase Plasma EDTA 0,5 ml (teste coagulase), e este foi incubado a 37°C por 6 horas. Foram considerados positivo para estafilococos coagulase positiva aqueles tubos que continham o coágulo firme e completo que permaneceu no lugar quando o tudo foi inclinado ou invertido.

Para análise estatística os resultados microbiológicos foram convertidos em log. Após, foi realizada uma Análise de Variância (ANOVA) seguida do Teste de Diferença Mínima Significativa de Fisher ($p<0,05$) para identificar diferenças significativas entre cada estabelecimento comercial e entre de cada coleta.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na tabela 1 é possível visualizar os resultados das análises de enumeração de estafilococos coagulase positiva das 70 amostras de carne bovina moída dos estabelecimentos comerciais da cidade de Pelotas - RS.

Tabela 1 – Estafilococos coagulase positiva em 70 amostras de carne moída vendidas em açougues da cidade de Pelotas - RS, Brasil, 2022.

Coleta	(n)	Estafilococos coagulase positiva
Coleta 1 ^a	36	<0,01 UFC/g
Coleta 2 ^b	31	<0,01 UFC/g
	1	4,00x10 ² UFC/g
	1	2,70x 10 ⁴ UFC/g
	1	3,30x10 ⁵ UFC/g



Legenda: Coletas seguidas de letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as linhas.

Duas amostras de carne bovina moída (2,86%) de dois estabelecimentos comerciais diferentes tiveram na segunda coleta contagens de estafilococos coagulase positiva acima de 10^4 UFC/g (valor máximo permitido pela Instrução Normativa nº161) e foram consideradas de qualidade inaceitável de acordo legislação brasileira (BRASIL, 2022b). Esses dois estabelecimentos comerciais tiveram as contagens significativamente mais altas ($p < 0,05$) que a grande maioria dos outros estabelecimentos para esse micro-organismo, indicando possíveis falhas na manipulação da carne moída. A contaminação pode ter ocorrido a partir do próprio manipulador, considerando que os seres humanos são reservatórios da espécie *Staphylococcus aureus*, estando presente nas vias nasais, garganta, pele e cabelo dos indivíduos e, consequente, manipuladores são a fonte mais frequente de contaminação dos alimentos ou de superfícies de equipamentos, como moedores de carne com higienização inadequada. Além disso, estafilococos podem ser encontrados no ar, poeira, esgoto e água, sendo comum sua presença no ambiente. Apesar da bactéria ser vulnerável a destruição por calor, as enterotoxinas produzidas por estes micro-organismos são altamente termoestáveis e resistentes a cocção, sendo necessário evitar a contaminação do alimento por esses micro-organismos e evitar a permanência de alimentos em temperaturas de risco que permitam a sua multiplicação e por sua vez a produção de enterotoxinas (entre 7 e 48°C) (FORSYTHE, 2013; SILVA et al., 2017; TALLENT et al., 2019).

Estudo prévio feito por Ruiz et al. (2021) avaliaram a qualidade de carne moída e de instalações de 100 estabelecimentos comerciais na Argentina e 75% dos estabelecimentos apresentaram pelo menos um microrganismo analisado acima do permitido, entretanto a contagem de *Staphylococcus aureus* foi excedida em 40,2% das 100 amostras de carne moída.

Carnes não refrigeradas ou refrigeradas inadequadamente estão entre os alimentos fontes de contaminação *Staphylococcus aureus* em surtos de DTA (FDA, 2022). Sendo assim, o baixo número de amostras inadequadas para o consumo é importante, principalmente considerando que *Staphylococcus aureus* foi o segundo agente etiológico mais frequentemente identificado em surtos de DTA no Brasil entre 2012-2021 (12,9%) (BRASIL, 2022a).

Destaca-se ainda que as contagens de estafilococos coagulase positiva nas carnes bovinas moídas foram significativamente maiores na segunda coleta das amostras ($p < 0,05$), que foi realizada durante os meses de inverno. Como *Staphylococcus aureus* são bactérias que estão presentes nas vias nasais, garganta, pele e cabelo de humanos (SILVA et al., 2017), a maior contaminação na época do inverno pode estar relacionada a maior prevalência de infecções virais que aumenta a probabilidade de tosse e espirro por parte dos manipuladores, podendo o alimento ser contaminado diretamente por gotículas ou indiretamente por mão contaminada do manipular ou contaminação da bancada e equipamentos, sendo necessário reforçar as medidas de higiene dos manipuladores em estabelecimentos comerciais para evitar a contaminação da carne.

4. CONCLUSÕES

Duas amostras tiveram contagens de estafilococos coagulase positiva acima do permitido pela legislação brasileira. Contagens significativamente maiores realizadas nos meses de inverno podem estar associadas a falhas de manipulação

mais frequentes em consequência da maior prevalência de infecções virais, sendo necessário um maior cuidado dos manipuladores durante esses meses.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRASIL. Ministério da Saúde. **Manual Integrado de Vigilância, Prevenção e Controle de Doenças Transmitidas por Alimentos.** Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Surtos de Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar no Brasil: Informe 2022.** Brasília, 2022a. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/d/dtha/publicacoes/surtos-de-doencas-de-transmissao-hidrica-e-alimentar-no-brasil-informe-2022>.

BRASIL. **Instrução Normativa N° 161, De 1º De Julho De 2022. Estabelece os Padrões Microbiológicos para Alimentos.** Diário Oficial da União, Publicado em 01/07/2022, Edição: 126, Seção: 1, Página 235, Ministério da Saúde/Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasil, 2022b.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA). **Bacteriological Analytical Manual.** Gaithersburg: AOAC International, 2001.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA). **What You Need to Know about Foodborne Illnesses.** FDA, 2022. Disponível em: <https://www.fda.gov/food/consumers/what-you-need-know-about-foodborne-illnesses>.

FORSYTHE, S.J. **Microbiologia da segurança dos alimentos.** 2 ed. Porto Alegre: Aritmed, 2013.

GERMANO, P.M.L. **Higiene e vigilância sanitária de alimentos.** 6 ed, São Paulo: Manole, 2019. 864 p.

Ruiz, M.J., Padola, N.L., Leotta, G., Colello, R., Passucci, J., Rodríguez, E., Fellenza, D. F., Krüger, A., Sanza, M., Elichiribehety, E., Etcheverría, A.I. (2022). Calidad microbiológica de la carne picada y detección de patógenos en muestras ambientales de carnicerías de la ciudad de Tandil, provincia de Buenos Aires, Argentina. **Revista argentina de microbiología**, 54(3), 31-40.

Salter, A. The effects of meat consumption on global health. **Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.**, 37 (1), 47-55, 2018. doi: 10.20506/rst.37.1.2739

SILVA, N., JUNQUEIRA, V.C.A., SILVEIRA, N. F DE. A., TANIWAKI, M.H., GOMES, R.A.R., OKAZAKI, M.M. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água.** 5. ed. São Paulo: Blucher, 2017. 560 p.

TALLENT, S., HAIT, J., BENNETT, R.W., LANCETTE, G.A. **BAM Chapter 12: Staphylococcus aureus.** FDA, 2019. Disponível em: <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-chapter-12-staphylococcus-aureus>.