

Análise microbiológica de morangos frescos comercializados em Goiânia, Goiás

Microbiological analysis of fresh strawberries comercialized in Goiânia, Goiás

Verbenie Khrissy Machado
Nascimento Araújo¹
Elissa Dirane Estephan¹
Alessandra Marques Cardoso²

Resumo

Objetivo: O consumo de alimentos contaminados por microrganismos patogênicos pode levar a quadros de doenças transmitidas por alimentos. O presente estudo objetivou realizar uma análise microbiológica de morangos frescos (*Fragaria vesca*) comercializados em Goiânia, Goiás, pesquisando a presença de *Escherichia coli* e *Salmonella* spp., em consonância com a RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. **Métodos:** Foram analisadas 51 amostras de morangos frescos *in natura* no Laboratório Clínico da PUC Goiás, sendo 25 amostras oriundas de supermercados e 26 de comércio livre/rua, entre agosto/2019 e dezembro/2019, em diversos bairros das regiões Norte, Noroeste, Sul e Central do município de Goiânia, Goiás. Foram feitas culturas bacterianas nos ágaros *Eosin Methylene Blue* e *Salmonella-Shigella*, e identificados os isolados por provas bioquímicas clássicas. Como controle de qualidade, a cada bateria de experimentos, duas cepas bacterianas conhecidas, uma *Salmonella* spp. (Programa Nacional de Controle de Qualidade/PNCQ) e uma *E. coli* ATCC 25923, foram utilizadas. **Resultados:** Das 51 amostras analisadas, 5,9% (3/51) apresentaram positividade para o crescimento de *E. coli*, sendo estas amostras adquiridas no comércio livre/rua. Foi observada ausência de *Salmonella* spp. **Conclusão:** A grande maioria (94,1%) das amostras analisadas nesta pesquisa negativaram em relação à presença de *E. coli* e 100% negativaram para a presença de *Salmonella* spp., demonstrando que independente de adquiridos em comércio livre/rua ou em supermercados, os morangos encontravam-se microbiologicamente seguros para o consumo, de acordo com a legislação brasileira vigente.

Palavras-chave

Microbiologia de Alimentos; Coliformes; *Escherichia coli*; *Fragaria vesca*

INTRODUÇÃO

As doenças transmitidas por alimentos (DTAs), consideradas de grande importância mundial, ocorrem em decorrência da ingestão de alimentos ou água contaminados por bactérias e/ou suas toxinas, vírus e/ou outros parasitas. As avaliações microbiológicas devem ser realizadas nos alimentos para verificar a presença ou ausência de microrganismos indicadores de contaminação fecal durante o processo de cultivo, manuseio, armazenamento e transporte, até chegar ao consumidor. Estas análises determinam se o alimento atende à legislação vigente, a qual estabelece os parâmetros microbiológicos necessários para que o alimento seja considerado seguro para o consumo humano.⁽¹⁻⁵⁾

Coliformes fecais, segundo a RDC nº 375 de 17 de março de 2005, são bactérias Gram-negativas em forma de bacilos, oxidase negativa, caracterizadas pela atividade da enzima β -galactosidase. Podem crescer em meios contendo agentes tensoativos e fermentar a lactose nas temperaturas de 44°C a 45°C, com produção de ácido, gás e aldeído. Além de estarem presentes em fezes humanas e de animais homeotérmicos, ocorrem em solos, plantas ou outras matrizes ambientais que não tenham sido contaminados por material fecal.⁽⁶⁾

Pertencente à família *Enterobacteriaceae*, a *Escherichia coli* apresenta grande diversidade patogênica, podendo ser dividida entre categorias que causam infecções intestinais e extraintestinais de EXPEC (*Extraintestinal pathogenic*

¹ Acadêmica do curso de Biomedicina da Escola de Ciências Médicas, Farmacêuticas e Biomédicas, Pontifícia Universidade Católica de Goiás.

² Doutora e Mestre em Medicina Tropical e Saúde Pública com área de concentração em Microbiologia (UFG). Professora Adjunta da Escola de Ciências Médicas, Farmacêuticas e Biomédicas, PUC Goiás. Biomédica da Secretaria de Estado da Saúde de Goiás.

Instituição: Pontifícia Universidade Católica de Goiás. Goiânia, GO, Brasil.

Recebido em 25/06/2020
Aprovado em 05/11/2021
DOI: 10.21877/2448-3877.202102023

E. coli). Das categorias que causam infecções intestinais encontram-se: *E. coli* enteropatogênica (EPEC), *E. coli* entero-hemorrágica (EHEC), *E. coli* enteroagregativa (EAEC), *E. coli* enterotoxigênica (ETEC), *E. coli* enteroinvasora (EIEC).⁽⁷⁾

A EPEC é subdividida em duas categorias, sendo que ambas têm em comum a capacidade de produzir uma lesão característica no epitélio intestinal. A lesão mais conhecida e estudada é a A/E (Attaching/Effacing). A EHEC, que é um subgrupo das STEC (*E. coli* produtora de toxina Shiga), causa desde casos assintomáticos, diarreia branda, até casos graves de colite hemorrágica. A EAEC costuma afetar mais adultos e crianças, se manifesta por diarreia secretora mucoide e aquosa, com o período de incubação curto, pouca febre e pouco ou nenhum vômito. A ETEC compreende a colonização da mucosa intestinal e a produção de enterotoxinas. A EIEC é um importante causador de diarreia em humanos. Clinicamente, a doença é acompanhada de febre, mal-estar, cólicas abdominais e diarreia aquosa seguida de disenteria, consistindo em poucas fezes, muco e sangue.⁽⁷⁾

Também pertencente à família *Enterobacteriaceae*, a *Salmonella* spp. é um bacilo Gram-negativo não formador de esporos. Quando presente em diferentes ambientes, água potável e alimentos, isso se deve à contaminação por fezes de indivíduos doentes ou portadores, sendo gastroenterite e febre tifoide as infecções mais importantes causadas por esse gênero.⁽⁷⁾

As duas espécies que causam doenças em humanos são *Salmonella enterica* e *Salmonella bengai*. A *S. enterica* é importante para a saúde pública e apresenta seis subespécies: *S. enterica* subsp. *enterica*, *S. enterica* subsp. *salamae*, *S. enterica* subsp. *arizonae*, *S. enterica* subsp. *diarizonae*, *S. enterica* subsp. *houtenae*, *S. enterica* subsp. *indica*. A sintomatologia divide-se em três grupos causadores de doenças, a saber: febre tifoide por *S. typhi* com sintomas muito graves, febre entérica por *S. paratyphi* com sintomas mais leves que a febre tifoide e as infecções entéricas ou salmoneloses com sintomas mais brandos.⁽⁸⁾

O morango, embora conhecido como fruto, é um receptáculo da flor original, onde as suas sementes são na realidade os seus frutos, sendo a *Fragaria* a mais comum. Devido às suas características físicas, o morango é bastante sensível e vulnerável às intempéries da natureza. Durante seu manuseio, do plantio à colheita, seu acondicionamento, transporte e distribuição em diferentes pontos de venda, até chegar aos consumidores, o morango pode ser exposto a vários tipos de contaminação, seja por vírus, bactérias, fungos e/ou parasitas. Assim, o consumo de morangos frescos pode representar uma fonte de microrganismos patogênicos, e quando esse alimento não é adequadamente higienizado pode ocasionar DTAs.^(4,9-12)

Considerando a necessidade da higiene sanitária e visando definir critérios e padrões microbiológicos para alimentos, a Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de

2001, estabeleceu padrões por meio de análises capazes de determinar se os alimentos encontram-se adequados ao consumo humano. Neste contexto, este estudo objetivou realizar análise microbiológica de morangos frescos (*Fragaria vesca*) comercializados em Goiânia, Goiás, pesquisando a presença de *Escherichia coli* e *Salmonella* spp., de acordo com a RDC nº 12.⁽⁵⁾

MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisadas 51 amostras de morangos (*Fragaria vesca*) frescos *in natura*, sendo 25 amostras oriundas de supermercados e 26 de comércio livre/rua.

A obtenção das amostras ocorreu entre os meses de agosto/2019 e dezembro/2019, em diversos bairros das regiões norte, noroeste, sul e central do município de Goiânia, Goiás. Os morangos foram transportados em sua própria embalagem (bandejas com plástico-filme), à temperatura ambiente, em tempo máximo de uma hora, para o Setor de Microbiologia do Laboratório Clínico da PUC Goiás (LAC/PUC-Goiás).

Para o processamento das amostras, 30 gramas de morangos foram assepticamente pesados e acondicionados em sacos plásticos estéreis com zíper, acrescidos de 50mL de água peptonada a 0,1%. Devidamente identificados, os sacos plásticos foram submetidos à agitação e maceração manual das amostras.

Após o processamento descrito, 200µL das amostras foram semeadas em placas contendo os ágaros *Eosin Methylene Blue* (EMB) e *Salmonella-Shigella* (SS), em duplicata. As placas foram incubadas em estufa à temperatura de 36,5°C pelo período de 24 horas antes da realização das leituras em busca de unidades formadoras de colônias (UFC). Adicionalmente, como método alternativo para recuperação de *Salmonella* spp., 500µL das amostras foram inoculados em 5,0mL de água peptonada e incubadas à temperatura de 36,5°C por 48 horas. Após o período de incubação, 200µL foram semeados em placas de ágar SS e incubadas à temperatura de 36,5°C por 24 horas, antes da realização das leituras em busca de unidades formadoras de colônias.

As colônias suspeitas de *E. coli* foram submetidas a provas bioquímicas manuais clássicas para identificação e confirmação: Tríplice açúcar e ferro (TAF), Motilidade, Indol e Ornitina (MIO), Citrato, Ureia, Lisina, Fenilalanina, Caldo Voges-Proskauer e Caldo Malonato.

Foram empregadas como controle de qualidade, a cada bateria de experimentos, duas cepas bacterianas conhecidas, uma *Salmonella* spp. oriunda do Programa Nacional de Controle de Qualidade – PNCQ e uma *Escherichia coli* ATCC 25923, gentilmente cedidas pelo LAC/PUC-Goiás.

Em relação aos aspectos ético-legais, como o presente estudo não utilizou amostras humanas e/ou animais, a submissão prévia a um comitê de ética em pesquisa foi dispensada.

RESULTADOS

O mapa das regiões do município de Goiânia, Goiás, apresentado na Figura 1 mostra as regiões onde foram adquiridas as amostras de morango: norte, noroeste, sul e central, ou seja, locais de fácil acesso e onde o fruto tem maior comercialização.

Conforme apresentado na Tabela 1, das 51 amostras analisadas, 5,9% (3/51) apresentaram positividade para o crescimento de *E. coli*, sendo estas amostras adquiridas no comércio livre/rua, portanto, não foi observada positividade nas amostras oriundas de supermercado.

Nas três amostras de comércio livre/rua em que a presença de *E. coli* foi detectada, observou-se a seguinte estimativa de unidades formadoras de colônias por grama (UFC/g): amostra A = 1.325 UFC/g, amostra B = 1.125 UFC/g e amostra C = 925 UFC/g. Foi verificada ausência de *Salmonella* spp. nas amostras analisadas.

DISCUSSÃO

Esta pesquisa detectou presença de *E. coli* em 5,9% das amostras analisadas. Entretanto, no estudo de Dziejzinska *et al.*⁽¹⁰⁾ houve maior positividade desse microrganismo quando empregada a técnica de biologia molecular reação em cadeia da polimerase (PCR) nas análises, revelando

44,2% de positividade, enquanto as culturas mostraram positividade em 9,0% das amostras.

A Portaria da ANVISA nº25/76, de 09/11/1997, regulamenta a utilização do ozônio na forma gasosa ou líquida como conservante de alimentos no Brasil, pois além de apresentar ação antimicrobiana, dispõe de propriedades conservantes de alimentos, como o morango.⁽¹³⁾ No presente estudo não houve detecção de *Salmonella* spp. nas amostras analisadas, corroborando com o estudo de Alves *et al.* (2019),⁽¹⁴⁾ que também não detectou *Salmonella* spp. em amostras de morango submetidas à análise microbiológica. Entretanto, é importante ressaltar que no trabalho de Alves *et al.* não foi possível afirmar que o uso do ozônio foi o responsável pela inativação da *Salmonella* spp., pois tanto morangos submetidos à ozonização quanto aqueles que não foram submetidos apresentaram ausência de *Salmonella* spp.

Segundo a RDC nº12 da ANVISA, de 2001,⁽⁵⁾ o padrão microbiológico aceitável em morangos frescos devem ser: ausência para *Salmonella* spp. e, no máximo, 2×10^3 colônias de *E. coli* por grama de morango. Nesta pesquisa foi revelada ausência de *Salmonella* spp. e presença de *E. coli* em três amostras adquiridas em comércio livre/rua com contagem de colônias inferior a 2×10^3 colônias por grama de morango. Portanto, nossos achados atendem à legislação vigente, indicando que os morangos estão microbiologicamente adequados para o consumo.

Tabela 1 - Detecção de *Escherichia coli* em morangos comercializados em Goiânia, Goiás.

Local de aquisição dos morangos	Nº de amostras analisadas	Nº absoluto de amostras positivas para <i>E. coli</i>	Percentual de amostras positivas para <i>E. coli</i>
Supermercado	25	0	0,0%
Comércio livre/rua	26	03	11,5%
Total	51	03	5,9%

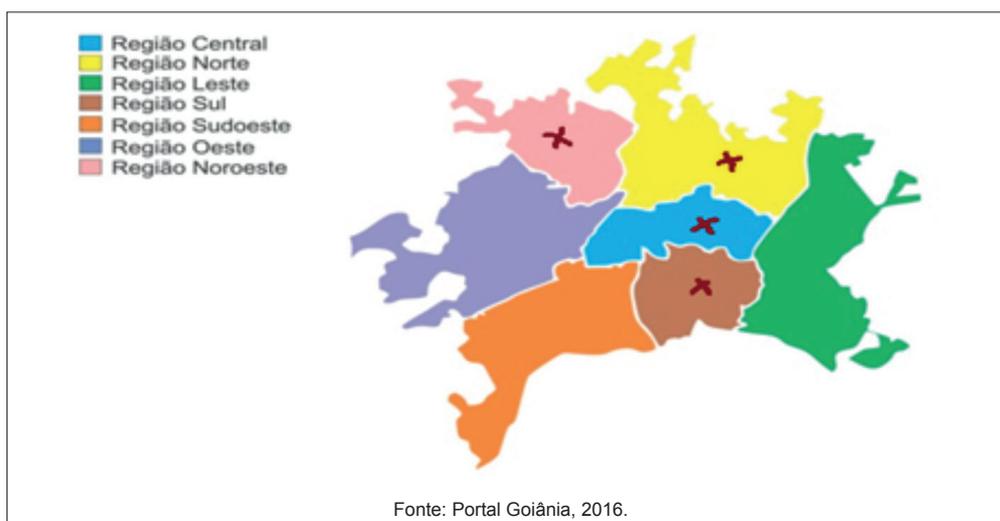


Figura 1. Mapa das regiões do município de Goiânia, Goiás. As regiões demarcadas demonstram onde as amostras foram obtidas para análise.

A principal estratégia⁽¹⁵⁾ é que para se controlar a qualidade de um produto, as medidas mais eficazes são a adoção de medidas preventivas e detecção e rápida correção de falhas no processamento. A ênfase na qualidade microbiológica atenta-se à quantidade e ao tipo dos microrganismos envolvidos. Neste processo, a higiene é fator importante, uma vez que ambiente, manipuladores e superfícies também podem ser fontes de contaminação. Além disso, fatores intrínsecos ao alimento, como pH e atividade da água, bem como fatores extrínsecos ao alimento, como temperatura, umidade relativa e presença de gases, vão determinar se a qualidade pode ser considerada ótima ou limitante, fatores estes que interferem na multiplicação de microrganismos patogênicos e causadores de DTAs.⁽¹⁾

No quesito qualidade dos alimentos, especificamente no caso dos morangos, é necessário dispensar atenção ao processo da sua produção, o que implica os cuidados no cultivo, observando que a terra, a água de irrigação, o adubo e os defensivos agrícolas podem impactar na contaminação microbiana. O fato das amostras analisadas nessa pesquisa, em sua grande maioria (94,1%), negativarem em relação à presença de *E. coli* e 100% negativarem para a presença de *Salmonella* spp. demonstrou que, independente de adquiridos em comércio livre/rua ou em supermercados, os morangos encontravam-se microbiologicamente seguros para o consumo.

CONCLUSÃO

Em conclusão, a presente pesquisa revelou que 100,0% das amostras analisadas atenderam os parâmetros microbiológicos estabelecidos pela legislação brasileira vigente, tendo sido detectado baixo percentual (5,9%) de contaminação das amostras de morangos por *E. coli* e ausência de *Salmonella* spp., dados importantes para a segurança alimentar dos consumidores de morango da cidade de Goiânia, Goiás.

Abstract

Objective: The consumption of food contaminated by pathogenic microorganisms can cause Foodborne Diseases. The present study aimed to perform a microbiological analysis of fresh strawberries (*Fragaria vesca*) marketed in Goiânia, Goiás, researching the presence of *Escherichia coli* and *Salmonella* spp., in line with RDC No. 12, of January 2, 2001. **Methods:** They have analyzed 51 samples of fresh strawberries in natura at the Clinical Laboratory of PUC Goiás, 25 samples from supermarkets and 26 from free trade/street, between August/2019 and December/2019, in several neighborhoods in the North, Northwest, South, and Central regions county of Goiânia, Goiás. Bacterial cultures cultivated on Eosin Methylene Blue and Salmonella-Shigella agar, and identification of the isolates by standard biochemical tests. As a quality control, in each battery of experiments, two known bacterial strains, one *Salmonella* spp. (National Quality Control Program/PNCQ) and an *E. coli* ATCC 25923 was used. **Results:** Of the 51 samples analyzed, 5.9% (3/51) were positive for the growth of *E. coli*, these samples were acquired in free/street commerce. Absence of *Salmonella* spp. **Conclusion:** The majority (94.1%) of the samples analyzed in this research were negative concerning the presence of *E. coli*, and 100% were negative for the presence of *Salmonella* spp.,

demonstrating that independent of being acquired in free trade/street or supermarkets, the strawberries analyzed were microbiologically safe for consumption, following the current Brazilian legislation.

Keywords

Foodborne Microbiology; Coliforms; *Escherichia coli*; *Fragaria vesca*

REFERÊNCIAS

1. Franco BDGM., Landgraf M. Microbiologia dos Alimentos. São Paulo: Atheneu; 2005. p.27-171.
2. Santos TBA, Silva N, Junqueira VCA, Pereira JL. Microrganismos indicadores em frutas e hortaliças minimamente processadas. Brazilian J Food Technol. 2010;13(02):141-146.
3. Ministério da Saúde. Doenças Transmitidas por Alimentos. Vigilância Epidemiológica Das Doenças Transm por Aliment. 2015.
4. ANVISA. Doenças Transmitidas por Alimentos. Ministério da Saúde, Governo Federal. 2010.
5. Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária. ANVISA. RDC N°12. 2001.
6. Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA. Resolução Conama N° 357, de 17 de Março de 2005* (Retificada). 2005.
7. Trubalsi LR, Alterthum. Microbiologia. 5ª edição São Paulo, Atheneu. 2008. p.271-307, 329.
8. Shinohara NKS, De Barros VB, Jimenez SMC, Machado ECL, Dutra RAF, Lima-Filho JL. Salmonella spp., importante agente patogênico veiculado em alimentos. Ciência & Saúde Coletiva. 2008;13(5):1675-83.
9. Darrow GM. The Strawberry: History, Breeding, and Physiology [Internet]. 1966. Available from: <https://web.archive.org/web/20101204163252/http://www.nal.usda.gov/pgdic/Strawberry/book/bokfive.htm#>
10. Vasickova P, Hrdy J, Slany M, Babak V, Moravkova M. Foodborne bacterial, viral, and protozoan pathogens in field and market strawberries and environment of strawberry farms. Journal of Food Science. 2018;83(12):3069-75.
11. Yoon Y, Kim K, Nam M, Shim W-B, Ryu J-G, Kim D-H, You O-J, Chung D-H. Microbiological assessment in strawberry production and recommendations to establish a good agricultural practice system. Foodborne Pathog Dis. 2010;7(12):1511-9.
12. U.S. Department of Agriculture, USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Legacy Release [Internet]. abril, 2018. [cited 2019 Jun 5]. Available from: <https://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/2385?fgcd=&manu=&facet=&format=&count=&max=50&offset=&sort=default&order=asc&qlookup=strawberry+raw&ds=&qt=&qp=&qa=&qn=&q=&ing=>
13. Coelho CCS, Freitas-Silva O, Campos RS, Bezerra VS, Cabral LMC. Ozonation as post-harvest technology in conservation of fruits and vegetables: A review. Rev. Bras. Eng. Agric. e Ambient. 2015;19(4):369-75.
14. Alves H, Alencar ER, Ferreira WFS, Silva CR, Ribeiro JL. Aspectos microbiológicos e físico-químicos de morango exposto ao gás ozônio em diferentes concentrações durante o armazenamento. Braz. J. Food Technol. 2019;22:1-12.
15. Almeida RCC, Kuaye AY, Serrano AM, Almeida PF. Avaliação e controle da qualidade microbiológica de mãos de manipuladores de alimentos. Rev. Saúde Pública. 1995;29(4):290-4.

Correspondência

Alessandra Marques Cardoso
Pontifícia Universidade Católica de Goiás
Avenida Universitária, 1440, Setor Universitário.
CEP 74.605-010, Goiânia/GO, Brasil.
E-mail: alemarquespuc@gmail.com