



DETECÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DE ENTEROBACTÉRIAS NAS SALADAS DE FRUTAS EM COMÉRCIOS DE VÁRZEA GRANDE - MT

Anna Bethany da Silva Carvalho ¹

Yasmin Vitória Barros Schmieleski ¹

Walquirya Borges Simi ²

¹ Graduanda do curso de Biomedicina do Centro Universitário de Várzea Grande – UNIVAG; ² Especialista em microbiologia pela Universidade Federal de Mato Grosso – UFMT.

RESUMO

A crescente conscientização sobre hábitos alimentares saudáveis tem impulsionado a demanda por opções nutritivas e frescas, como as saladas de frutas. Este estudo teve como objetivo detectar e identificar enterobactérias presentes em saladas de frutas comercializadas em três principais supermercados da cidade de Várzea Grande, MT. A pesquisa seguiu os padrões da ANVISA e do Manual de Métodos de Análise de Alimentos, coletando amostras de três locais, analisadas no primeiro e no último dia de validade. As análises microbiológicas incluíram a semeadura em Ágar Salmonella/Shigella (SS) e Ágar MacConkey, seguida de testes bioquímicos para identificação das enterobactérias. Os resultados indicaram uma presença significativa de enterobactérias nas amostras analisadas. No primeiro dia, 50% das placas apresentaram crescimento de enterobactérias, com predominância de *Klebsiella* spp. No último dia de validade, o crescimento também foi em 50% das placas, entretanto, houve maior crescimento e ainda assim houve predominância ainda maior de *Klebsiella* spp. A detecção de enterobactérias em saladas de frutas prontas para consumo sublinha a importância de práticas rigorosas de higiene e controle de qualidade na produção e comercialização desses produtos. As condições de armazenamento e a validade são fatores críticos para a segurança microbiológica das saladas de frutas. Conclui-se que os dados obtidos são fundamentais para desenvolver estratégias eficazes de controle e prevenção de contaminação microbiológica em saladas de frutas, contribuindo para a melhoria da segurança alimentar e a proteção da saúde pública.

PALAVRAS CHAVE: Enterobactérias, Salada de frutas, Segurança alimentar, Microbiologia de alimentos.

ABSTRACT

Growing awareness about healthy eating habits has driven the demand for nutritious and fresh options, such as fruit salads. This study aimed to detect and identify enterobacteria present in fruit salads sold in three main supermarkets in the city of Várzea Grande, MT. The research followed ANVISA standards and the Food Analysis Methods Manual, collecting samples from three locations, analyzed on the first and last day of validity. Microbiological analyzes included sowing on Salmonella/Shigella (SS) Agar and MacConkey Agar, followed by biochemical tests to identify enterobacteria. The results indicated a significant presence of enterobacteria in the analyzed samples. On the first day, 50% of the plaques showed growth of enterobacteria, with a predominance of *Klebsiella* spp. On the last day of validity, growth was also in 50% of the plaques, however, there was greater growth and even so there was an even greater predominance of *Klebsiella* spp. The detection of enterobacteria in ready-to-eat fruit salads highlights the importance of strict hygiene and quality control practices in the production and marketing of these products. Storage conditions and shelf life are critical factors for the microbiological safety of fruit salads. It is concluded that the data obtained are fundamental for developing effective strategies for controlling and preventing microbiological contamination in fruit salads, contributing to improving safety food and the protection of public health.

KEYWORDS: Enterobacteria, Fruit salad, Food safety, Food microbiology.

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, a conscientização sobre hábitos alimentares saudáveis tem impulsionado a demanda por opções nutritivas e frescas, como as saladas de frutas. (OLIVEIRA 2015). Além disso, com a crescente importância de preocupações com a segurança alimentar, torna-se ainda mais urgente, avaliações rigorosas da qualidade microbiológica (SANTOS *et al.* 2010). Nesse sentido, muitos fatores podem influenciar a presença de enterobactérias nas saladas de frutas, como condições de cultivo, manuseio e armazenamento (BRASIL, 2019). A análise desta relação é importante para melhorar as estratégias de prevenção e controle de doenças transmitidas por alimentos, visando a segurança alimentar e a saúde pública.

As saladas de frutas, possuem um alto teor de nutrientes, fibras, umidade, o pH neutro para ácido, a forma de manuseio e o tempo de armazenamento faz com que sejam o ambiente perfeito para o crescimento microbiano, o que pode comprometer a segurança alimentar (SILVA *et al.* 2018, FRANCO, 2005). Bactérias patogênicas, fungos filamentosos e leveduriformes podem contaminar esses alimentos durante o manuseio, processamento e armazenamento, representando um desafio significativo para o manejo microbiano (GIANNONI *et al.* 2021).

A necessidade de uma análise abrangente e sistemática de microrganismos em saladas de frutas é enfatizada pelos potenciais riscos para a saúde pública e riscos associados ao consumo de alimentos contaminados. A triagem de enterobactérias em saladas de frutas é importante devido ao risco potencial de transmissão de patógenos como *Escherichia coli* e *Salmonella* spp, que podem causar doenças de origem alimentar (GIANNONI *et al.* 2021). Compreender os mecanismos responsáveis pela contaminação e proliferação destes microrganismos é importante para desenvolver estratégias eficazes de controle e prevenção.

Desta forma o presente estudo teve como objetivo detectar e identificar enterobactérias encontradas em saladas de frutas comercializadas em três principais supermercados da cidade de Várzea Grande.

2. MATERIAL E MÉTODOS

A metodologia para o presente estudo seguiu os padrões da Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA (Brasil, 2001) bem como o Manual de Métodos de Análise de Alimentos (da Silva, N. *et al.*, 2007), este segue o método oficial do Compendium of

Methods for the Microbiological Examination of foods da American Publics Association (APHA, 2001) e Internacional Organization for Standardization (ISO), para amostragem, colheita, acondicionamento, transporte e análises microbiológicas.

O estudo foi realizado em três comércios localizados em Várzea Grande, para manter a privacidade de cada local, os nomes não foram divulgados então, foram usadas letras maiúsculas para nomear as amostras (A, B e C). Dos três mercados foi adquirida uma amostra de salada de frutas, totalizando três amostras, com frutas diferentes, estas foram semeadas em duplicatas tanto em Ágar Salmonella/Shigella (SS) quanto em Ágar MacConkey, analisadas em dois momentos, uma análise no primeiro dia da fabricação e uma segunda análise dois dias depois, sendo o último dia de validade da amostra.

2.1 Coleta e transporte de amostra

Após aquisição de uma salada de frutas de cada local, visando manter a integridade da amostra, foram transportadas para o laboratório de análises microbiológicas do UNIVAG sob refrigeração, não ultrapassando 24 horas, como referido no ISO 7218 (2007) e no Compendium (Midura & Bryant, 2001).

2.2 Preparação e análise das amostras

Foram pesados 25 gramas de cada amostra e realizado o processo de homogeneização com 225 ml de água peptonada 0,1%, tendo assim a diluição 10^{-1} . Com base desta foi realizada diluições até 10^{-2} , em seguida foi inoculada uma duplicata da diluição 10^{-2} em duas placas de ágar SS e duas placas de ágar MacConkey totalizando doze placas, que após isso foram incubadas a 37°C por 24 horas, conforme a metodologia citada em APHA (2015). Para realizar a segunda análise após essa etapa as mesmas amostras foram armazenadas novamente em acondicionamento de acordo com a ISO 7218 (2007) e com o Compendium (Midura & Bryant, 2001), após dois dias as amostras foram novamente processadas segundo o método apresentado neste tópico.

2.3 Análises bioquímicas

Devido ao fato de o ágar MacConkey ser um meio seletivo para o crescimento de bactérias gram-negativas as colônias crescidas foram analisadas e confirmadas como gram-

negativas, confirmadamente pelo crescimento de colônias rosa pink (lactose positiva), em seguida foi realizado o teste de catalase visto que as enterobactérias têm catalase positiva.

Após estes testes com o auxílio do Kit para Identificação de Enterobactérias Newprov foi realizado os testes bioquímicos, de lisina, motilidade, indol, desaminação L-triptofano (LTD), produção de gás e H₂S, fermentação de glicose, ornitina, rhamnose (RAM) e citrato.

Os resultados foram interpretados com o auxílio da tabela de identificação de enterobactérias de importância médica disponibilizado pela ANVISA em <https://www.gov.br/anvisa/ptbr/centraisdeconteudo/publicacoes/servicosdesaude/publicacoes/modulo-6-deteccao-e-identificacao-de-bacterias-de-importancia-medica/view>. Acessada em seis de Junho de 2024.

3. RESULTADOS

A análise das saladas de frutas coletadas apresentou crescimento de dois gêneros diferentes de enterobactérias sendo *Enterobacter* spp. e *Klebsiella* spp. Para a diferenciação desses gêneros os testes bioquímicos foram usados e os seguintes resultados encontrados:

Para o gênero *Klebsiella* spp. foram de lisina e citrato positivo, motilidade negativa, indol negativo, fermenta glicose liberando CO₂, ornitina negativa, desaminação L-triptofano (LTD) positivo, rhamnose (RAM) positiva e não houve produção de H₂S, e para o gênero *Enterobacter* spp. foram, motilidade e ornitina positiva, lisina negativa, indol negativo, faz fermentação de glicose liberando CO₂, desaminação L-triptofano (LTD) positivo, rhamnose (RAM) e citrato positivos, e não faz produção de H₂S, conforme apresentadas na tabela 1.

Tabela 1 – Identificação bioquímica de enterobactérias

Testes	<i>Enterobacter</i> spp	<i>Klebsiella</i> spp.
Lisina	-	+
Citrato	+	+
Motilidade	+	-
Indol	-	-
Glicose	+	+
CO ₂	+	+
Ornitina	+	-
L-triptofano (LTD)	+	+
Rhaminose (RAM)	+	+
H ₂ S	-	-

No inóculo do primeiro dia da amostra A, foi analisado o crescimento de 17 colônias em duas placas de Ágar MacConkey, foram realizados os testes bioquímicos identificou-se a enterobactéria do gênero *Enterobacter* spp. nas duas placas. Já no segundo dia houve o crescimento de 18 colônias, identificadas como *Enterobacter* spp. e 13 colônias de *Klebsiella* spp. esse crescimento foi observado nas placas de Ágar MacConkey. Como apresentadas na tabela 2.

Já no inoculo da amostra B no primeiro dia cresceram 32 colônias em duas placas de Ágar MacConkey essas foram identificadas como *Klebsiella* spp. Enquanto no segundo dia foi observado o crescimento de 50 colônias de *Klebsiella* spp. nas duas placas de Ágar MacConkey, como observadas na tabela 2.

No primeiro dia de inoculação da amostra C houve crescimento de 20 colônias de *Klebsiella* spp. nos dois Agar MacConkey, enquanto no segundo dia cresceram 23 colônias desta mesma enterobactéria nas duas placas de Agar MacConkey, apresentadas na tabela 2.

Notou-se que não houve crescimento no Ágar SS em nenhum dos dois dias, dispensando a contaminação por *Salmonella* spp. e *Shigella* spp.

Tabela 2 – Identificação de enterobactérias por amostra do primeiro e segundo dia

Amostras	Dia	n*	Identificação
A	1º	17	<i>Enterobacter</i> spp
	2º	18	<i>Enterobacter</i> spp
		13	<i>Klebsiella</i> spp
B	1º	32	<i>Klebsiella</i> spp
	2º	50	<i>Klebsiella</i> spp
C	1º	20	<i>Klebsiella</i> spp
	2º	23	<i>Klebsiella</i> spp

*n = número de colônias

4. DISCUSSÃO

Em análise semelhante Nogueira *et al.* (2023), obteve um resultado de 10% de crescimento de *Klebsiella* spp, como Koneman *et al.* (2001) e Forsyth *et al.* (2013) relatam, que essa bactéria pertence à família *Enterobacteriaceae* do grupo dos coliformes totais, são gram-negativas, em forma de bacilos e pode estar presente em todos os ambientes como ar, água, solo em materiais e locais contaminados com fezes, Pinheiro *et al.* (2005) conta que por se tratar de um microrganismo oportunista e não fazer bem para a saúde sua presença

em alimentos é algo inadmissível assim como Silva *et al.* (2014) afirma que a presença de *Klebsiella* spp pode reduzir a vida do produto podendo causar riscos ao consumidor.

No Rio de Janeiro Junqueira *et al.* (2008) não encontrou apenas essa enterobactéria, mas também relatou a presença de *Enterobacter* spp. Lee *et al.* (2010) apresenta a *Enterobacter* spp como também pertencente a da família das *Enterobacteriaceae*, ela se caracteriza como oportunista e tem sido uma das causas de infecções por várias partes do corpo humano bem como o sistema nervoso, Davin-Regli *et al.* (2015) chama a atenção o nível de patogenicidade dessa bactéria pois ela libera várias citotoxinas, afetando principalmente pessoas imunossuprimidas.

No presente estudo não houve crescimento de *Salmonella* spp em nenhuma das amostras analisadas, como nos estudos de Lins *et al.* (2014) realizado no Ceará. Veiga *et al.* (2008) na Paraíba, em seu estudo nas saladas de fruta vendidas na Universidade Federal local observou um crescimento elevado de coliformes totais bem como na análise de Giannoni *et al.* (2021) em amostras de um supermercado em Marília – SP que pode observar a ausência de contaminação de *Salmonella* spp, mas a presença de coliformes totais nas 12 amostras, fazendo com que 50% das mesmas se encontrassem impróprias para o consumo. Jawetz (2000) e Silva (2001) afirmam que a presença de coliformes totais não é a ideal para a identificação de contaminação fecal, mas a sua presença indica a qualidade higiênico-sanitária de produtos.

Esse estudo levanta a problemática de como os alimentos consumidos estão sendo preparados e armazenados. Forsythe S. J., (2013) em seu livro Microbiologia da segurança dos alimentos, mostra que as duas enterobactérias encontradas no presente estudo são principais responsáveis por tóxicoinfecções alimentar podendo levar a uma anorexia e má absorção, atingindo o sistema imune do corpo ativando outros problemas gastrointestinais como distúrbios nutricionais de longo prazo. A detecção desses patógenos em produtos prontos para consumo enfatiza a importância de práticas rigorosas de higiene e controle de qualidade na produção e comercialização de saladas de frutas.

Os resultados evidenciam um aumento no crescimento de enterobactérias ao longo do tempo de armazenamento, indicando que a validade e as condições de armazenamento são fatores críticos na segurança microbiológica das saladas de frutas. A presença predominante de *Klebsiella* spp. destaca a necessidade de melhorias nos processos de

manuseio e armazenamento para prevenir a contaminação bacteriana e proteger a saúde dos consumidores, citando sempre a importância das Boas Práticas de Fabricação já apresentadas pela RDC 216/2004, que visa a melhor forma de evitar possíveis contaminações.

Souza (2006) em sua análise destaca a importância para que haja um treinamento dos colaboradores sobre as boas práticas de higiene, e os perigos das contaminações por patógenos encontrados, como Germano P. M. L. enfatiza em seu livro Higiene e vigilância sanitária de alimentos de 2011.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com esse estudo conclui-se que a importância de uma alimentação saudável, vai além dos hábitos alimentares, a detecção desses patógenos em produtos prontos para consumo enfatiza a importância de condições adequadas da venda, para prevenir a contaminação bacteriana e proteger a saúde dos consumidores.

Os dados obtidos nesta pesquisa fornecem uma base importante para o desenvolvimento de estratégias eficazes de controle e prevenção de contaminação microbiológica em saladas de frutas, contribuindo para a melhoria da segurança alimentar e proteção da saúde pública. A presença significativa de enterobactérias, como *Klebsiella* spp. e *Enterobacter* spp. em amostras analisadas destaca a necessidade de práticas rigorosas de higiene e controle de qualidade na produção e comercialização de saladas de frutas, uma melhoria nas fiscalizações a esses comércios também deve ser realizada pelos devidos órgãos responsáveis.

REFERÊNCIAS

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). Committee on Microbiological Methods for Foods. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. Washington: APHA, 2015.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). Compendium of the methods for the microbiological examination of foods. 4th. Washington, 2001. 676 p.

BRASIL, Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 216, de 15 de setembro de 2004. Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação. Disponível em <http://portal.anvisa.gov.br>. Acesso em 14 out 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos RDC nº 12. Diário Oficial da União; Poder Executivo, janeiro de 2001.

da SILVA, N. Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos. Varela. 2007

DAVIN-REGLI, A., PAGÈS, J-M. Enterobacter aerogenes and Enterobacter Spp.; versatile bacterial pathogens confronting antibiotic treatment. Front Microbiol, 6, 392, 2015

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

FRANCO, B. D. G. de M.; LANDGRAF, M. Microbiologia dos alimentos. São Paulo: Atheneu, 2005.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. S. Higiene e vigilância sanitária de alimentos. 4 ed, Barueri: Manole, 2011.

GIANNONI, J. A., DOS SANTOS, J. K., DE ALCÂNTARA VASCONCELOS, L., DORTA, C., & IMAMURA, K. B. QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE SALADAS DE FRUTAS MINIMAMENTE PROCESSADAS EM SUPERMERCADO DA CIDADE DE MARÍLIA-SP. Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação, 7(7), 372-385, 2021.

JAWETZ, E.; MELNICK, J.A. & ADELBERG, E.A. Microbiologia Médica. 21. Ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. 175p.

JUNQUEIRA, A. R., DA SILVA SAMPAIO, L., FLEMING, L. R., & DOS SANTOS NASCIMENTO, J. Diversidade E perfil de resistência a antibióticos de coliformes isolados de saladas comercializadas em restaurantes self-service. Estudos de Biologia, 30(70/72), 2008.

KONEMAN EW, ALLEN SD, JANDA WM, SCHRECKENBERGER PC, WINN WC. Diagnóstico microbiológico: texto e atlas colorido. 5a ed. Rio de Janeiro: Medsi; 2001

LEE, C.C., LEE, N.Y., YAN, J.J., LEE, H.C., CHEN, P.L., CHANG, C.M., WU, C.J., KO, N.Y., WANG, L.R., CHI, C.H., KO, W.C., Bacteremia due to Extended-Spectrum- β Lactamase-producing *Enterobacter* Spp.: Role of Carbapenem Therapy. *Antimicrob Agents Chemother*, 54, 3551-3556, 2010.

LINS A D F, LIMA A L R, MORAES M S, SAMPAIO A C F, COSTA M L, QUIRINO D J G. Qualidade microbiológica de saladas de frutas comercializadas em três municípios do Cariri Cearense *Rev AGROTEC*. 35(1):203–7, 2014.

MIDURA, T. F., & BRYANT, R. G. Sampling plans, sample collection, shipment, and preparation for analysis. *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*, 13-23, 2001.

NOGUEIRA, M. M. J., DE ALMEIDA, B. S., BEZERRA, F. Y. P., & FONSECA, F. L. A. Avaliação das características microbiológicas das saladas de frutas comercializadas por ambulantes de Juazeiro do Norte, CE. *Braspen Journal*, 32(1), 63-67, 2023.

OLIVEIRA, E. N. A. D.; SANTOS, D. D. C. Tecnologia e processamento de frutos e hortaliças. Natal: IFRN, 2015. 240 p.

PINHEIRO NMS, FIGUEIREDO EAT, FIGUEIREDO RW, MAIA GA, SOUZA PHM. Avaliação da qualidade microbiológica de frutos minimamente processados comercializados em supermercados de Fortaleza. *Rev Bras Frutic*. 27(1):153-6, 2005.

SANTOS, T. B. A.; SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; PEREIRA, J. L. Microrganismos indicadores em frutas e hortaliças minimamente processadas. *Brazilian Journal of Food Technology*, Campinas, v.13, n.2, p.141-146, 2010.

SILVA, J. A. R.S.; GONÇALVES, J. T. T.; MIRANDA, A. S.; BRITO, M. S.; SANTANA, R. F. Análise microbiológica de saladas de frutas comercializadas na região central de vitória da conquista. *C&D-Revista Eletrônica da FAINOR*, Vitória da Conquista, v. 11, n. 3, p. 633-642, 2018.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A. Manual de métodos de análises microbiológicas de alimentos. 2.ed. São Paulo: Varela, 2001. 31p

SILVA, W, F.; NASCIMENTO, T. B.; OLIVEIRA, L. F; FERNANDES, N. D. S. F.; OLIVEIRA, P. M. C.; Análise de coliformes totais e termotolerantes em vegetais minimamente processados comercializados em um supermercado de Montes Claros, Minas Gerais. *Nutrivisa*, Fortaleza, v.1, n. 3, 2014.

SOUSA, C. P. Segurança alimentar e doenças veiculadas por alimentos: utilização do grupo coliforme como um dos indicadores de qualidade de alimentos. *Revista APS*, 9(1), 83-88, 2006.

VEIGA, D. K. E. et al. Avaliação microbiológica de água, salada de frutas e leite comercializados em lanchonetes do campus I da Universidade Federal da Paraíba. Centro de Ciências da Saúde, Departamento de Nutrição, 2008.

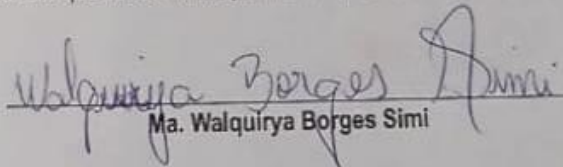
Ata de Defesa

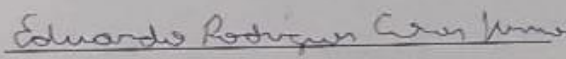
No dia de 03 de julho de 2024, às 19:30 h na sala Auditorio III deu-se início ao Exame de Defesa das alunas Anna Bethany da Silva Carvalho e Yasmin Vitória Barros Scmieleski, alunas regularmente matriculadas no curso de Biomedicina do UNIVAG Centro Universitário que apresentaram seu Trabalho de Conclusão de Curso II intitulado DETECÇÃO DE IDENTIFICAÇÃO DE ENTEROBACTÉRIAS NAS SALADAS DE FRUTAS EM COMÉRCIOS DE VÁRZEA GRANDE - MT. As alunas tiveram como Orientadora a professora Ma. Walquirya Borges Simi e foram Membros da Banca:

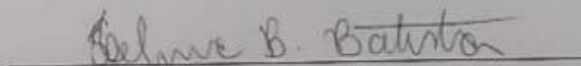
Membro 1 Dr. Eduardo Rodrigues Alves Junior

Membro 2 Dra. Selma Baia Batista

As alunas foram arguidas pela Banca, durante o tempo considerado necessário, tendo obtido pelo trabalho a nota 8,7 (oito e sete). A nota final é definida individualmente pela professora da disciplina considerando sua participação em todo processo de desenvolvimento do trabalho, seja o comparecimento às orientações, seja a produção do trabalho, até a apresentação final. A sessão foi encerrada às.....h, e, nada mais havendo, eu, orientadora,, lavrei a presente ata que vai assinada por mim e pelos membros da Banca Examinadora.


Ma. Walquirya Borges Simi


Dr. Eduardo Rodrigues Alves Junior


Dra. Selma Baia Batista