

ANEXO 1

**QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE PRODUTOS DE ORIGEM ANIMAL
COMERCIALIZADOS EM FEIRAS LIVRES DA CIDADE DE SORRISO,
MATO GROSSO**

Marilu Lanzarin ¹ - Campus Sorriso

Daniel Oster Ritter ² - Campus Sorriso

Gricielle Aparecida Sutil ³ - Campus Sorriso

Projeto Submetido: Ensino
 Pesquisa
 Extensão

Mato Grosso

Julho/2015

¹ Pesquisador/Coordenador do Projeto.

^{2,3} Pesquisador/Membros da Equipe do Projeto.



Marilu

RESUMO

Os produtos de origem animal são excelente fonte de nutrientes tornando-se um meio de cultura ideal para o crescimento de microrganismos. Estes microrganismos podem comprometer a qualidade e segurança da matriz alimentícia e podem contaminar o homem através da ingestão destes alimentos contaminados. Estes produtos são comercializados em feiras livres que correspondem a espaços públicos onde circulam alimentos aos quais são atribuídas qualidades únicas, principalmente pelo fato de estarem correlacionados com o processo artesanal de fabricação. Em sua maioria, as feiras apresentam graves problemas que compromete a qualidade dos produtos e coloca em risco a saúde do consumidor. Sendo assim este trabalho tem por objetivo determinar a qualidade microbiológica dos produtos de origem animal comercializados em feiras livres na cidade de Sorriso, Mato Grosso por meio da coleta de amostras dos produtos alvos da pesquisa em cinco pontos de comércio informal em diferentes épocas para a avaliação da presença ou ausência de *Salmonella* spp., número mais provável de coliformes totais e termotolerantes e contagem de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas e psicrotróficas a fim de determinar a segurança e inocuidade dos produtos de origem animal comercializados.

Palavras-chave: Comércio Informal. Contaminação. Segurança Alimentar.

1 INTRODUÇÃO

São definidos como alimentos de origem animal os que provêm do animal propriamente dito, direta ou indiretamente, como carnes, leite, pescado, ovos e mel, sendo seus produtos derivados fabricados a partir da matriz alimentícia em questão. Os produtos de origem animal são fontes importantíssimas de proteínas para os seres humanos, não só pela quantidade fornecida por grama de alimento, mas principalmente devido às quantidades de proteínas que contém em sua molécula de aminoácidos essenciais, além de ser fonte de vitaminas e minerais (BRASIL, 1952). Dessa forma constituem excelentes meios de cultura para microrganismos desejáveis, deteriorantes e patogênicos. Estes podem levar ao desenvolvimento de doenças, sejam pelas próprias células viáveis ou por suas toxinas, afetando a saúde humana (CUNHA NETO, SILVA e STAMFORD, 2002).

As feiras livres são canais de comercialização de produtos da agropecuária familiar que raramente recebem apoio de políticas públicas específicas ou são objetos de programas de desenvolvimento rural. Quando presentes, os programas estão

**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE MATO GROSSO
CAMPUS SORRISO**

marcados por um forte caráter produtivista, deixando em segundo plano a análise das categorias sociológicas envolvidas na atividade bem como a qualidade dos produtos comercializados (RIBEIRO et al., 2003).

Além de locais de compra e venda de produtos da agropecuária familiar local, as feiras correspondem a espaços públicos onde circulam alimentos aos quais são atribuídas qualidades únicas, principalmente pelo fato de estarem correlacionados com o processo artesanal de fabricação como o queijo minas fresca! (RIBEIRO et al., 2005).

Em sua maioria, as feiras apresentam graves problemas como: falta de higiene, má estrutura das barracas, comercialização de produtos não permitidos, falta de segurança e desorganização. Além destes, tem-se ainda a exposição de produtos de origem animal altamente perecível (queijos, leite, carne etc.) em barracas sem refrigeração, sem proteção e na presença de poeira e insetos que pode alterar a qualidade do produto. Tais problemas colocam em risco a sobrevivência da feira, uma vez que contrariam a legislação sanitária, de forma que compromete a qualidade dos produtos e coloca em risco a saúde do consumidor (CORREIA e RONCADA, 1997).

O controle de qualidade de alimentos é exigência legal e um fator essencial para a promoção da saúde pública, reduzindo os índices de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA's) e garantindo maior aceitabilidade e competitividade dos produtos. Entretanto, o comércio informal têm dificuldades de atender à legislação e garantir a inocuidade de seus produtos.

Dessa forma o objetivo deste projeto é avaliar a qualidade microbiológica dos produtos de origem animal comercializados em feiras livres da cidade de Sorriso, Mato Grosso, a fim de determinar a segurança e inocuidade destes produtos.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar a qualidade microbiológica dos produtos de origem animal comercializados em feiras livres na cidade de Sorriso, Mato Grosso.

2.2 Objetivos Específicos

- Pesquisar a ausência ou presença de *Salmonella* spp.;
- Determinar o número mais provável de coliformes totais e termotolerantes;
- Quantificar o número de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas;

**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE MATO GROSSO
CAMPUS SORRISO**

- Quantificar o número de bactérias heterotróficas aeróbias psicrotólicas;
- Comparar os níveis de contaminação microbiológica aos padrões exigidos pela legislação brasileira;
- Determinar a segurança e inocuidade dos produtos de origem animal comercializados em feiras livres na cidade de Sorriso.

3 REVISÃO DE LITERATURA ou REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

As Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA's) são causadas por diversos agentes, os quais penetram no organismo através da ingestão de água ou alimento contaminado. Os agentes causadores podem ser químicos, como pesticidas e metais tóxicos ou biológicos, como microrganismos patogênicos. Alimentos contaminados por agentes biológicos são a maior causa das enfermidades, sendo os episódios mais comuns resultado do consumo de produtos de origem animal, crus ou mal cozidos, ou alimentos contaminados com microrganismos patogênicos (AMSON et al., 2006).

A população mundial tem se preocupado cada vez mais com o consumo do alimento seguro, embora ainda ocorram milhares de casos de DTAs. Muitos casos de enfermidades transmitidas por alimentos não são notificados, pois seus sintomas são geralmente parecidos com gripes ou discretas diarreias e vômitos (AMSON et al., 2006). Dentre os sinais e sintomas mais comuns tem-se dor de estômago, náusea, vômito, diarreia e febre por período prolongado (FORSYTHE, 2000). Infelizmente, a tendência ao consumo dos chamados "alimentos saudáveis" já induziu muitas pessoas a consumir produtos de origem animal cru, sem saber dos riscos que estavam correndo (WHO, 2000).

As feiras livres correspondem a espaços públicos onde circulam alimentos aos quais são atribuídas qualidades únicas, principalmente pelo fato de estarem correlacionados com o processo artesanal de fabricação (RIBEIRO et al., 2005), no entanto, em sua maioria, as feiras apresentam graves problemas como: falta de higiene, má estrutura das barracas, comercialização de produtos não permitidos, falta de segurança e desorganização. Além destes, tem-se ainda a exposição de produtos altamente perecíveis (queijos, leite, carnes etc.) em barracas sem refrigeração, sem proteção e na presença de poeira e insetos que pode alterar a qualidade do produto. Tais problemas colocam em risco a sobrevivência da feira, uma vez que contrariam a

**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE MATO GROSSO
CAMPUS SORRISO**

legislação sanitária, de forma que compromete a qualidade dos produtos e coloca em risco a saúde do consumidor (CORREIA e RONCADA, 1997).

O controle de qualidade de alimentos é exigência legal e um fator essencial para a promoção da saúde pública, reduzindo os índices de DTA e garantindo maior aceitabilidade e competitividade dos produtos. Entretanto, o comércio informal têm dificuldades de atender à legislação e garantir a inocuidade de seus produtos. Diversos trabalhos realizados com produtos de origem animal em diferentes regiões do país têm enfatizado o elevado percentual de amostras fora dos padrões microbiológicos estabelecidos pela legislação em vigor (OLIVEIRA e NUNES, 2003; CAPISTRANO et al., 2004; ABRAHÃO et al., 2005; PINHEIRO e SÁ, 2007; LUNDGREN et al., 2009). Mesmo que obtido de animais sadios, a qualidade dos produtos de origem animal depende não só da microbiota natural e sim de contaminantes patogênicos e deteriorantes, como também da higiene no processo produtivo e beneficiador (WHO,2000).

Sendo assim, é fundamental o controle higiênico-sanitário, desde a obtenção do alimento até o comércio, pois a sua produção em condições inadequadas de higiene torna-o veículo de transmissão de doenças à população consumidora.

4 METODOLOGIA ou MATERIAL E MÉTODOS

4.1) Coleta das Amostras

No período de setembro de 2015 a junho de 2016 serão coletadas e analisadas amostras de produtos de origem animal comercializados em cinco feiras livres da cidade de Sorriso, Mato Grosso. As amostras serão adquiridas diretamente nos comerciantes, depositadas em recipientes plásticos estéreis e acondicionadas em caixas isotérmicas com gelo, mantidas resfriadas a 4°C e em seguida transportadas num prazo inferior a três horas para o laboratório de Biologia e Microbiologia de Alimentos do Instituto Federal de Mato Grosso Campus Sorriso para execução das análises microbiológicas.

4.2) Preparo das Amostras

No interior da câmara asséptica, após a sanitização da bancada com álcool a 70% e lavagem e desinfecção das mãos, o saco contendo a amostra será aberto com assepsia. Com auxílio de instrumentos esterilizados serão retiradas as unidades



**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE MATO GROSSO
CAMPUS SORRISO**

analíticas para cada tipo de ensaio e pesadas em balança analítica. Para o ensaio de presença e ausência de *Salmonella* spp., será retirada 25 gramas da amostra e adicionado 225mL de Água Peptonada Tamponada em saco estéril para homogeneização durante 60 segundos. Para os ensaios gerais de quantificação que compreendem a contagem de coliformes totais e termotolerantes, quantificação de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas e quantificação de bactérias heterotróficas bacterias psicotróficas serão retiradas 25 gramas da amostra e adicionado 225 mL de Solução Salina Peptonada a 0,1% (SSP), em saco estéril para homogeneização, durante 60 segundos, obtendo-se a diluição inicial 10^{-1} . A partir da primeira diluição serão realizadas as diluições decimais seriadas, transferindo assepticamente 1 mL da primeira diluição para 9mL do diluente SSP, até obter as diluições 10^{-2} , 10^{-3} e demais diluições selecionadas.

4.3) Análises Microbiológicas

As análises microbiológicas para quantificação de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas e psicotróficas, número mais provável de coliformes totais e termotolerantes e pesquisa de *Salmonella* spp. serão realizadas segundo as metodologias propostas pela Instrução Normativa nº 62 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (2003) e Silva et al. (2010).

As bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas e psicotróficas serão quantificadas pelo método de plaqueamento em profundidade e superfície, respectivamente, utilizando o meio ágar padrão para contagem (APC), sendo os resultados expressos em logaritmo decimal das unidades formadoras de colônia por grama (log UFC/g).

Para quantificação do Número Mais Provável de Coliformes inocular volumes de 1 mL de cada uma das diluições efetuadas em séries de 3 tubos contendo caldo lauril sulfato de sódio em concentração simples, com tubos de durhan invertidos no interior e incubar. A suspeita de coliformes totais é indicada pela formação de gás nos tubos de durhan (mínimo 1/10 do volume total) ou efervescência quando agitado gentilmente. Anotar o número de tubos positivos em cada série de diluição. Para prova confirmativa de Coliforme Total repicar cada tubo positivo de caldo lauril sulfato de sódio obtido na prova presuntiva, para tubo contendo caldo verde brilhante bile 2% lactose e incubar os tubos, sendo que a presença de coliformes totais é confirmada pela formação de gás

**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE MATO GROSSO
CAMPUS SORRISO**

(mínimo 1/10 do volume total do tubo de Durham) ou efervescência quando agitado gentilmente. Anotar o número de tubos positivos em cada série de diluição. Para prova confirmativa de Coliforme termotolerante repicar cada tubo positivo de caldo lauril sulfato de sódio obtido na prova presuntiva, para tubo contendo caldo EC e incubar, sendo que a presença de coliformes termotolerantes é confirmada pela formação de gás (mínimo 1/10 do volume total do tubo de durhan) ou efervescência quando agitado gentilmente. Anotar o resultado obtido para cada tubo, bem como a diluição utilizada. A partir da combinação de números correspondentes aos tubos que apresentaram resultado positivo em cada um dos testes confirmativos (coliformes totais e coliformes termotolerantes), verificar o Número Mais Provável de acordo com a tabela de NMP, sendo o valor obtido expresso em NMP/100 mL.

Para pesquisa de *Salmonella* sp. as amostras previamente preparadas, adicionadas de Água Peptonada Tamponada e homogeneizadas serão incubadas sendo que esta etapa consiste no pré-enriquecimento, a qual objetiva a recuperação das células injuriadas. Posteriormente, realizará o enriquecimento seletivo da amostra utilizando-se os caldos Tetrionato e Rappaport. Ao final da incubação será realizado esfregaço em lâmina corado pelo método de Gram para observação das características morfo-tintoriais do microrganismo. As subamostras que apresentarem bastonetes Gram negativos serão semeadas, através da técnica de esgotamento, em placas contendo os meios Ágar "Brilliant-green Phenol-red Lactose Sucrose" (BPLS) e Ágar Hektoen e incubadas, sendo que esta etapa consiste no plaqueamento seletivo e tem por objetivo promover o desenvolvimento preferencial de colônias de *Salmonella*, para posterior confirmação bioquímica. Para cada amostra serão selecionadas cinco colônias típicas de *Salmonella* spp. de cada meio de plaqueamento para repique em tubos contendo BHI, para purificação. Em seguida, serão submetidas às provas bioquímicas para verificação do perfil bioquímico característico das estirpes de *Salmonella* spp. por meio do teste de crescimento em Ágar "Triple Sugar Iron" (TSI) e teste de lisina descarboxilase (LIA).

5 RESULTADOS ESPERADOS

Com o projeto espera-se avaliar a qualidade microbiológica dos produtos de origem animal comercializados nas feiras livres da cidade de Sorriso, Mato Grosso e conseqüentemente estimar a segurança e inocuidade dos produtos.

6 CRONOGRAMA DE EXECUÇÃO DO PROJETO/PLANO DE TRABALHO

6.1 Previsão de início do projeto: 10/08/2015

6.2 Previsão de encerramento do projeto: 10/07/2016

Atividades / Plano de Trabalho	Anos / meses de Desenvolvimento do Projeto												Executores das Atividades		
	MÊS														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12			
Planejamento	X	X													Coordenador e Discentes
Revisão Bibliográfica	X	X	X	X	X	X	X	X	X						
Aquisição de Material		X	X												Coordenador
Coleta de Amostras				X	X		X	X	X	X					Coordenador, Colaboradores e Discentes
Análises Microbiológicas				X	X		X	X	X						Coordenador, Colaboradores e Discentes
Elaboração de Relatório Parcial						X									Coordenador e Discentes
Elaboração de material de divulgação científica													X	X	Coordenador, Colaboradores e Discentes
Elaboração do Relatório Final e Prestação de Contas														X	Coordenador

Manoel

7 REFERENCIAS

ABRAHÃO, R. M. C. M.; NOGUEIRA, P. A.; MALUCELLI, M. I. C. O comércio clandestino de carne e leite no Brasil e o risco da transmissão da tuberculose bovina e de outras doenças ao homem: um problema de saúde pública. *Arch. Veter. Sci.*, v. 10, n. 2, p. 1-17, 2005.

AMSON, G.V.; HARACEMIV, S.M.C.; MASSON, M.L. Levantamento de dados epidemiológicos relativos à ocorrência/surtos de doenças transmitidas por alimentos no estado do Paraná, no período de 1978 a 2000. *Ciência Agrotécnica*, v.30, n.6, p.1139-1145, 2006.

BRASIL - Ministério da Agricultura. R.I.I.S.P.O.A. 1952. *Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal* (Aprovado pelo decreto nº 30690, de 20.03.52, alterado pelo decreto nº 1255, de 25.06.52). Brasília. 66p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA. *Instrução Normativa 62 de 26 de agosto de 2003 que oficializa os métodos analíticos para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água*, Diário Oficial da União. Brasília-DF, p. 14-18, 2003.

CAPISTRANO, D. L. et al. Feiras livres do município de São Paulo sob o ponto de vista legislativo e sanitário. *Revista Higiene Alimentar*, São Paulo, v. 18, n. 116/117, jan/fev. 2004.

CORREIA, M.; RONCADA, M. J. Características microscópicas de queijos prato, mussarela e mineiro comercializados em feiras livres da cidade de São Paulo. *Revista de Saúde Pública*. São Paulo, v. 31, n.3, p.296-601, 1997.

CUNHA NETO, A.; SILVA, C. G. M.; STAMFORD, T. L. M. *Staphylococcus* Enterotoxigênicos em alimentos In Natura e Processados no estado de Pernambuco, Brasil. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. Campinas, v. 22, n. 3, p.263-271, set.-dez. 2002.

FORSYTHE, S.J. *Microbiologia da segurança alimentar*. Porto Alegre: Artmed, 2000.

LUNDGREN, P. U.; SILVA, J. A.; MACIEL, J. F.; FERNANDES, T. M. Perfil da qualidade higiênicosanitária da Carne bovina comercializada em feiras livres e Mercados públicos de João Pessoa/PB-Brasil. *Alim. Nutr.*, v. 20, n. 1, p. 113-119, 2009.



INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE MATO GROSSO
CAMPUS SORRISO

OLIVEIRA, M. M. A.; NUNES, I. F. Análise microbiológica e físico-química do leite pasteurizado tipo "C" comercializado em Terezina, PI. *Revista Higiene Alimentar*, São Paulo, v. 17, n. 111, p. 92-94, 2003.

PINHEIRO, R. e SÁ, J. S. *O processo de comercialização dos produtos da agricultura familiar nas feiras livres de São Luís*. Disponível em: <<http://www.cnpat.embrapa.br/sbsp/anais/>>. Acesso em: 10 de outubro de 2007.

RIBEIRO, E. M.; ÂNGULO, J.L.G; NORONHA, A. B; CASTRO, B.S; GALIZONI, F.M.; CALIXTO, J.S., SILVESTRE, L.H. A feira e o trabalho rural no Alto Jequitinhonha: um estudo de caso em Turmalina, Minas Gerais. *Unimontes científica*. Montes Claros, v.5, n.1, 2003.

RIBEIRO, E. M., CASTRO, B. S.; SILVESTRE, L. H., CALIXTO, J. S.; ARAÚJO, D. P.; GALIZONI, F.M.; AYRES, E. B. Programa de apoio às feiras e à Agricultura Familiar no Jequitinhonha mineiro. *Agriculturas*, v. 2, n. 2, 2005.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. *Manual de Métodos de análise microbiológica de alimentos e água*. 4 ed. Editora Varela: São Paulo , 2010.

WHO. *Food borne disease: a focus for health education*. Geneva, 2000.



INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE MATO GROSSO
CAMPUS SORRISO

8 PLANILHA DE CUSTOS

8.1 Contrapartida financeira do Campus Sorriso

8.1.1 Itens de Custeio

ITENS DE CUSTEIO						
Nº.	Descrição do Item	Unidade	Quantidade	Valor Unitário (R\$)	Valor Total (R\$)	
01	Placa descartável estéril lisa 90x15mm	unitário	600	0,40	240,00	
02	Ágar Hektoen	500 g	01	242,00	242,00	
03	Ágar BPLS	500 g	01	185,00	185,00	
04	Ágar TSI	500 g	01	170,00	170,00	
05	Ágar LIA	500 g	01	195,00	195,00	
06	Água Peptonada Tamponada	500 g	01	210,00	235,00	
17	Caldo Tetracionato	500 g	01	157,00	157,00	
18	Caldo Rappaport	500 g	01	176,00	176,00	
19	Sacos para coleta e homogeneização de amostras esterilizado	unitário	50	3,00	150,00	
10	Tubos de durhan	unitário	100	1,00	100,00	
11	Bico de bunsen	unitário	01	150,00	150,00	

 *Maria Lu*

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE MATO GROSSO
CAMPUS SORRISO

8.2 Contrapartida financeira e não financeira de outras fontes (pesquisador, parceiros, etc)

CONTRAPARTIDA FINANCEIRA E NÃO FINANCEIRA DE OUTRAS FONTES					
Nº.	Descrição do Item	Unidade	Quantidade	Valor Unitário (R\$)	Valor Total (R\$)
01	Luva, gorro, máscara descartável				
02	Meios de Cultura: APC e SSP				
03	Amostras				
04	Equipamentos e Materiais para Microbiologia				

Assinaturas:

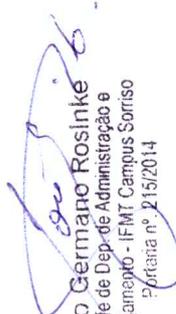


Coordenador do Projeto


 Carlos André de O. Carneiro
 Diretor - IFMT Sorriso
 Portaria nº 1.492, de 25/11/2014

Colaborador do Projeto

Discente


 João Germano Rosinke
 Chefe de Dep. de Administração e
 Planejamento - IFMT Campus Sorriso
 Portaria nº 215/2014