

Isolamento de *Staphylococcus aureus* do gelo, água, bancadas e vendedores de pescado da feira do Mucuripe, Fortaleza, Ceará¹

Isolation of *Staphylococcus aureus* from ice, water, show counters and shrimp vendors at the Mucuripe fish market, Fortaleza, Ceará State

Waleska Ferreira de Albuquerque², Regine Helena Silva dos Fernandes Vieira³ e
Gustavo Hitzschky dos Fernandes Vieira⁴

Resumo - Os vendedores de alimentos representam um importante papel quanto à segurança alimentar, e, também, na transmissão de doenças, uma vez que é através deles que são introduzidos patógenos durante a produção, processamento, distribuição e preparação dos alimentos. A presente pesquisa teve como objetivo isolar e identificar cepas de *S. aureus* nas amostras de gelo e da água com cloreto de sódio, ambas utilizadas na conservação do camarão, bancadas de exposição, bem como nas mãos, cavidade nasal e oral dos vendedores de camarão de duas barracas (A e B) da Feira Livre de pescado do Mucuripe, Fortaleza, Ceará. Na barraca A *S. aureus* estava presente em 20% das amostras de gelo e na barraca B em 40%. Somente a barraca B apresentou contaminação da bactéria em seis amostras (60%) da água com cloreto de sódio usada na conservação dos camarões. Das 20 amostras das bancadas, 50% da barraca B e 10% da barraca A apresentaram contaminação com *S. aureus*. A bactéria foi identificada em 100% dos vendedores, independente do sítio estudado. Estes resultados sugerem que deveria haver mais informação para os manuseadores de pescado sobre higiene pessoal e sobretudo nos cuidados com o gelo usado na refrigeração dos pescados.

Termos para indexação: pescado, vendedores de pescado, *Staphylococcus aureus*, bancadas de comercialização.

Abstract - Food vendors represent a relevant role on nutritious safety and disease transmission, in order that pathogens are introduced through handlers during manufacturing, processing, distribution and food preparation. The current study aimed to isolate and identify *Staphylococcus aureus* strains present on ice and water samples with sodium chloride, both used on shrimp conservation, show counters as well as on hands, nasal and oral cavities of shrimp vendors of two counters (A and B) of a fish market at Mucuripe, Fortaleza, Ceará State. On counter A, *S. aureus* was present in 90% of ice samples and in 40% of samples collected from counter B which was the only one to present bacterium contamination among six samples (60%) of water. From the 20 samples of the show counters, 50% of counter B and 10% of counter A presented contamination with *S. aureus*. This bacterium was also identified in 100% of the vendors independent from the investigated site. These results suggest that the shrimp vendors should have had more information about body care and safe handling of the ice used on fish refrigeration.

Index terms: fish vendors, *Staphylococcus aureus*, show counters.

¹ Recebido para publicação em 23/02/2005; aprovado em 29/04/2006.

Parte de dissertação de mestrado do primeiro autor apresentada ao Dep. de Tecnologia de Alimentos, CCA/UFC, CE

² Farmacêutica, M. Sc., Dep. de Tecnologia de Alimentos, CCA/UFC, e-mail: waleskaalbuquerque@terra.com.br, Caixa Postal 12.168, CEP: 60.455-970, Campus do Pici, Fortaleza, CE.

³ Bach. e Licenc. Ciências Biológicas., D. Sc., Dep. de Eng. de Pesca e Instituto de Ciências do Mar/UFC, e-mail:regine@labomar.yfc.br

⁴ Bach. Farmácia-Bioquímica, D. Sc., Dep. de Biologia, UVA, CE

Introdução

O pescado é um alimento de excelente valor nutritivo devido as suas proteínas de alto valor biológico, vitaminas e ácidos graxos insaturados. Entretanto é bastante perecível, necessitando de condições sanitárias adequadas desde sua captura até a manipulação e comercialização a fim de que seja oferecido ao consumidor um produto seguro e de boa qualidade microbiológica (Franco & Landgraf, 1996; Germano et al., 1993).

A qualidade no pescado fresco pode ser influenciada diretamente pelos hábitos não higiênicos dos manipuladores, pelas superfícies contaminadas (bancadas, mesas) ou ainda pelos utensílios não sanificados (facas), o que faz esse alimento uma fonte potencial de contaminação para o homem. Diversos fatores determinam uma condição de risco ao pescado, que vão desde a contaminação do ambiente onde é capturado, até a sua chegada ao consumidor (Vieira, 1989).

Nos países onde se mantêm registros adequados das doenças veiculadas por alimentos, o pescado contribui com uma significativa proporção dos surtos relatados na literatura, variando de um país para outro dependendo do clima, costumes da dieta e de outras diferenças sociais (Hatha & Lakshmanaperumalsamy, 1997).

Os microrganismos patogênicos presentes nos alimentos crus podem proceder de pessoas infectadas em situações diversas, sendo de grande importância a prevenção de doenças através de hábitos higiênicos adequados. Dentre os alimentos de origem animal aquática, os camarões são os mais susceptíveis a sofrer alterações oxidativas, hidrolíticas e/ou microbiológicas devido a sua elevada atividade de água (A_w), composição química, alto teor de gordura insaturada e pH próximo à neutralidade (Lancette & Bennett, 2001). *S. aureus* é um agente etiológico de infecções adquiridas tanto na comunidade como em ambientes hospitalares. São bactérias responsáveis por um alto índice de morbidade e mortalidade, sendo freqüentemente envolvidas em casos de resistência a antibióticos (Farias et al., 1997), e pela condição de mesofilia, o que pode favorecer sua reprodução em locais onde não há refrigeração adequada.

Os manipuladores de alimento estão associados a 24% de todos os casos de enfermidades veiculadas por alimentos em países desenvolvidos. Dentre as bactérias envolvidas destacam-se *S. aureus*, *C. botulinum*, e *B. cereus* (Arias-Echandi, 2000).

O presente trabalho teve como objetivos pesquisar a presença de *Staphylococcus aureus* no gelo e na água

com cloreto de sódio, ambos utilizados na conservação do camarão; nas bancadas de exposição, bem como identificar cepas de *S. aureus* a partir de amostras colhidas das mãos, cavidade nasal e oral dos vendedores de camarão.

Material e Métodos

As amostras de gelo e água, superfície das bancadas e manipuladores analisadas foram provenientes de duas barracas (A e B) da feira livre de pescado do Mucuripe em Fortaleza-Ce que comercializam camarão sete barbas (*Xiphopenaeus kroyeri*). As amostras foram coletadas semanalmente, no período da manhã nos meses de maio a dezembro de 2003, durante 10 semanas.

Procedimento das Coletas

Foram selecionados dois vendedores de camarão: um da barraca A e outro da barraca B, sendo analisados materiais de suas cavidades nasal, oral, e das mãos. As amostras analisadas foram coletadas uma única vez, em triplicata.

Com um auxílio de uma zaragatoa, umedecida em 10 mL de caldo Brain Heart Infusion (BHI), e através de movimentos leves e rotatórios em cada narina, foi obtido o material da cavidade nasal. O material das mãos foi obtido friccionando-se uma outra zaragatoa nos espaços interdigitais, unhas, palma e dorso. Com uma terceira zaragatoa e com fricções rotatórias sobre a língua foi recolhido o material orofaríngeo (Carvalho & Serafini, 1996).

As 10 amostras do gelo foram recolhidas em erlemeyer estéril e conduzidas em caixas isotérmicas ao laboratório, onde foram derretidas. Em seguida, foram diluídas e plaqueadas.

Para coleta de água com cloreto de sódio, foi introduzida no recipiente (bacia) uma pipeta de Pasteur estéril e retirada alíquotas que foram introduzidas em um tubo de ensaio esterilizado, com tampa. Foram colhidos aproximadamente 5 mL de água. Foram coletadas 10 amostras de água e as análises foram feitas em triplicata.

A coleta das bancadas de exposição, foi feita com a fricção de uma zaragatoa umedecida em caldo BHI sobre 30 cm² da superfície da bancada onde o camarão é exposto. Após os esfregaços, as zaragatoas foram mantidas dentro dos tubos contendo BHI, até a chegada ao laboratório. Foram realizadas 10 coletas e as análises foram feitas em triplicata.

Das amostras de gelo fundidas (10⁰), da água com cloreto de sódio (10⁰), bancadas de exposição(10⁰), mãos,

cavidade nasal e oral (10^0) dos vendedores foram realizadas diluições sucessivas de 10^{-1} a 10^{-3} em Água Peptonada (AP) a 0,1%.

Isolamento e Identificação de *Staphylococcus aureus*

De cada diluição das amostras (gelo, água com cloreto de sódio, bancadas de exposição e vendedores) foram tomadas alíquotas de 0,1 mL e pelo método de espalhamento, usando-se alça de Drigalski, foram distribuídas na superfície do meio Ágar Baird-Parker-Difco (ABP). As placas foram então incubadas invertidas em estufa, onde permaneceram a 35°C/48h (Bennet, 2001).

Decorrido o tempo de incubação das colônias crescidas nas placas (das placas que apresentavam colônias isoladas e na margem de segurança que é de 20 a 200), foram isoladas 2 a 3, variando até 4, colônias típicas de *Staphylococcus aureus* (negras, pequenas com halo claro de 2 a 5 mm de largura) para confirmação. As colônias foram então transferidas para caldo BHI e incubadas em estufa por 35- 37°C/24h.

As colônias crescidas em caldo BHI foram repicadas em tubos com Ágar Triptona Soja-Difco (TSA) inclinado e incubados por 35°C/24h. Após esse período, as cepas suspeitas foram submetidas às provas bioquímicas de coagulase, catalase, termonuclease (TNase) e utilização de carboidratos (Manitol e Glucose) de acordo com Bennett (2001).

Resultados e Discussão

Foram confirmadas quatro (14,3%) cepas de *Staphylococcus aureus* no gelo dentre as 28 isoladas das amostras coletadas na barraca A, enquanto que, das 36

cepas isoladas das amostras coletadas na barraca B, das cepas isoladas sete (19,4%) foram positivas para esta bactéria. Estas cepas provinham de duas amostras (20%) da barraca A e quatro (40%) da barraca B (Tabela 1).

É sabido que o gelo utilizado na conservação de pescado ou de qualquer outro alimento deve ser de ótima qualidade, em relação ao seu aspecto bacteriológico, pois a qualidade dele afetará diretamente a qualidade do produto, podendo ocasionar doenças no consumidor (Falcão et al., 2002).

Segundo Vieira et al. (1997), o gelo não é um meio de cultivo para bactéria por falta de nutrientes necessários ao seu desenvolvimento, entretanto, poderá ser um veiculador desses microrganismos para o alimento que estiver refrigerado, bastando para tal, ser preparado com água poluída ou contaminada com alguma bactéria que suporte 0°C. Esta imediatamente afetará o alimento comprometendo, assim, sua qualidade.

Outro fato observado é que das 67 cepas suspeitas de *S.aureus* isoladas das 20 amostras de água com cloreto de sódio de ambas as barracas, 12 (35,3%) foram confirmadas. Todas as amostras (seis) contaminadas eram provenientes da barraca B (Tabela 1).

Um outro local onde foi detectada a bactéria foram as bancadas de exposição do produto. Dos 20 esfregaços de superfície das bancadas de exposição, seis amostras apresentavam *S. aureus*, sendo quatro cepas (17,4%) isoladas de uma amostra da barraca A e oito (25,8%) isoladas de cinco amostras da barraca B. O percentual de amostras contaminadas foi de 10% e 50% , nas barracas A e B, respectivamente (Tabela 1).

A estrutura danificada dessas barracas permite que resíduos fiquem aderidos às suas superfícies transformando-as em potencial fonte de contaminação. Além do mais,

Tabela 1 - Número de cepas suspeitas e confirmadas de *Staphylococcus aureus* isoladas de amostras de gelo, água com cloreto de sódio e superfície das bancadas de exposição de duas barracas (A e B) de venda de camarão na Feira Livre de Pescado do Mucuripe em Fortaleza - CE.

BARRACA A				
Amostras	Nº de amostras	Amostras confirmadas	Cepas suspeitas	Cepas confirmadas
Gelo	10	2 (20%)	28	4 (14,3%)
Água com Cloreto de Sódio	10	00	33	00
Superfície da Bancada	10	1 (10%)	23	4 (17,4%)
BARRACA B				
Amostras	Nº de amostras	Amostras confirmadas	Cepas suspeitas	Cepas confirmadas
Gelo	10	4 (40%)	36	7 (19,4%)
Água com Cloreto de Sódio	10	6 (60%)	34	12 (35,3%)
Superfície da Bancada	10	5 (50%)	31	8 (25,8%)

a permanência dos camarões expostos a altas temperaturas seria um outro fator que poderia aumentar a microbiota mesófila dos camarões. Esses dados são superiores aos encontrados por Vieira et al. (1998) que constataram a presença de *S. aureus* em apenas 6,6% dos 30 esfregaços de superfície de bancadas estudadas na mesma feira.

A presença da bactéria nas mãos, cavidade nasal e oral em todos os vendedores das duas barracas estudadas contribui para as más condições sanitárias de conservação do produto. A Tabela 2 mostra a positividade de cepas de *S. aureus* isoladas das mãos, cavidade nasal e cavidade oral dos vendedores de ambas as barracas. Na barraca A, 53% das cepas foram confirmadas como sendo de *S. aureus*, sendo uma isolada das mãos, cinco da cavidade nasal e três da cavidade oral. Na barraca B 60% das cepas foram confirmadas, sendo quatro das mãos, uma da cavidade nasal e uma da cavidade oral.

Os dados da presente pesquisa assemelham-se aos de Evangelista-Barreto & Vieira (2003), que observaram a positividade de *S. aureus* em 60% de um total de 24 manipuladores estudados em duas indústrias de pesca em Fortaleza (CE). Quanto ao sítio de coleta, verificou-se que a colonização por *S. aureus* nas mãos do vendedor da barraca A foi três vezes menor (33,3%) quando comparada àquela da amostra coletada no vendedor da barraca B (100%).

A positividade de *S. aureus* em amostras das mãos do manipulador da barraca B foi superior a encontrada por Carvalho & Serafini (1996), Vanzo & Azevedo (2003) e Rego et al. (1997) os quais detectaram a presença de *S. aureus* em 40,9%, 75% e 85,7% das amostras coletadas das mãos de manipuladores de alimentos de restaurantes universitários e Unidades de Alimentação, respectivamente.

Segundo Carvalho & Serafini (1996), as mãos servem como veículo de trabalho, podendo os manipuladores

de alimentos perpetuarem a cadeia epidemiológica da intoxicação alimentar estafilocócica através do contato direto. A Tabela 2 mostra ainda que ocorreu uma maior contaminação na cavidade nasal no vendedor da barraca A (83,3%), quando comparado àquele que trabalha na barraca B (33,3%). Vanzo & Azevedo (2003) isolaram *S. aureus* da cavidade nasal em 25% dos manipuladores de indústrias no Recife. Embora os números de amostrados sejam diferentes, visto que na presente pesquisa foi investigado apenas um vendedor de cada barraca e na pesquisa dos autores *op. cit.* foram estudados 67 manipuladores, quantidade muito maior, é possível se afirmar que vendedores de pescado e manipuladores nas indústrias alimentares, portadores de *S. aureus*, fazem um trabalho para o qual não deveriam ser destinados, ou seja, lidar com alimentos.

A positividade de *S. aureus* na cavidade oral dos manipuladores da barraca A e B foi de 37,5% e 33,3% (Tabela 2), respectivamente. Palazzo et al. (1996) analisando amostras da cavidade oral de 32 funcionários de escola privada de 1º e 2º graus, em Jaboticabal verificaram, também, que 8 (25%) deles eram portadores de *S. aureus*.

A presença da bactéria nas mãos, cavidade nasal e oral de todos os manipuladores (vendedores) das duas barracas estudadas contribui ainda mais para as más condições sanitárias de conservação do produto.

Na literatura nacional encontram-se inúmeras pesquisas sobre o elevado índice de *S. aureus* em utensílios usados no processamento de alimentos e nos seus manipuladores (Ayulo, 1994; Silva Junior, 1993; Vieira, 1998, Vieira, 2003), demonstrando que em geral, há um despreparo e/ou descaso daqueles que lidam com alimentos quanto ao perigo da presença de microrganismos. Isto é uma prova de que este comércio não respeita a Portaria SVS/MS nº 326 (ANVISA, 1997) que recomenda que as

Tabela 2 - Número de cepas de *Staphylococcus aureus* isoladas das mãos, cavidade nasal e oral dos vendedores de duas barracas (A e B) de venda de camarão na Feira Livre de Pescado do Mucuripe em Fortaleza - CE.

BARRACA A			
Amostras	Nº de amostras	Cepas suspeitas	Cepas confirmadas
Mãos	1	3	1 (33,3%)
Cavidade Nasal	1	6	5 (83,3%)
Cavidade Oral	1	8	3 (37,5%)
TOTAL	3	17	9 (52,9%)
BARRACA B			
Amostras	Nº de amostras	Cepas suspeitas	Cepas confirmadas
Mãos	1	4	4 (100%)
Cavidade Nasal	1	3	1 (33,3%)
Cavidade Oral	1	3	1 (33,3%)
TOTAL	3	10	6 (60%)

peças que mantêm contacto com alimentos, submetam-se a exames médicos e laboratoriais freqüentemente, e que usem luvas obedecendo as perfeitas condições de higiene e limpeza. Além do mais seria interessante a implementação de um programa de Boas Práticas de Manipulação em estabelecimentos que negociam com alimento, no caso, pescado.

Conclusões

A presença de *S. aureus* em diferentes sítios dos vendedores pode implicar na transferência constante da bactéria para o camarão através do seu manuseio, caso eles não tenham informações sobre higiene corporal. Além disto, a exposição do camarão na Feira Livre do Mucuripe em Fortaleza-CE é feita em um local não condizente com a boa prática de higienização, com presença de *S. aureus* no gelo e na água com sal usados na conservação do produto, e nas bancadas de comercialização.

Referências Bibliográficas

- ANVISA. Portaria nº 326 de 30 de julho de 1997. Regulamento técnico sobre as condições higiênico-sanitárias e boas práticas de fabricação para os estabelecimentos produtores/industrializadores de alimentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 01 ago. 1997. Seção I, p.16.560-3.
- ARIAS-ECHANDI, M. L. Contaminación microbiológica de los alimentos en Costa Rica. Una revisión de 10 años. **Revista Biomédica**, v.11, p.113-122, 2000.
- AYULO, A. M. R.; MACHADO, R. A.; SCUSSEL, V. M. Enterotoxigenic *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* in fish and seafood from the southern region of Brazil. **International Journal Food Microbiological**, v.14, p.687-695, 1994.
- BENNETT, R. W. *Staphylococcus aureus*. In: FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Bacteriological analytical manual online**. FDA/CFSAN, Jan. 2001. Disponível em: <<http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-12.html>>. Acesso em: 22 jul. 2003.
- CARVALHO, C. O.; SERAFIN, A. B. Grupos de microrganismos isolados da orofaringe e das mãos dos trabalhadores do restaurante da Universidade Federal de Goiás. **Revista Higiene Alimentar**, v.10, n.45, p.19-24, 1996.
- EVANGELISTA-BARRETO, N. S.; VIEIRA, R. H. S. F. Investigação sobre possíveis portadores de *Staphylococcus aureus* em duas indústrias de pesca. **Revista Higiene Alimentar**, v.17, n.104/105, p.49-57, 2003.
- FALCÃO, J. P., DIAS, A. M. G., CORREA, E. F., FALCÃO, D. P. Microbiological quality of ice used to refrigerate foods. **Food Microbiology**, n.19, p.269-276, 2002.
- FARIAS, W. V. L., SADER, H. S., LEME, I. L., PIGNATARI, A. C. Padrão de sensibilidade de 117 amostras clínicas de *Staphylococcus aureus* isolados em 12 hospitais. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v.43, n.3, p.199-204, 1997.
- FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo:Atheneu, 1996. p.43-46.
- GERMANO, P. M. L.; MIGUEL, M.; MIGUEL, O.; GERMANO, M. I. S. Prevenção e controle das toxinfecções de origem alimentar. **Revista Higiene Alimentar**, v.7, n.27, p.6-11, 1993.
- LANCETTE, G. A.; BENNETT, R. W. *Staphylococcus aureus* and Staphylococcal Enterotoxins. In: DONNES, F. P.; ITO, K. (Ed). **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4th ed. Washington: American Public Health Association, 2001. cap.39, p.387-403.
- HATHA, M. A. A.; LAKSHMANAPERUMALSAMY, P. Prevalence of *Salmonella* in fish and crustaceans from markets in Coimbatore, South India. **Food Microbiology**, v.14, p.111-116, 1997.
- PALAZZO, I. C. V. **Deteção de estafilococos resistentes a metilina e vancomicina em portadores humanos em ambientes intra e extra-hospitalar**. 2000. 76 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Campos Jaboticabal, Universidade Estadual Paulista, São Paulo, 2000.
- RÊGO, J. C.; GUERRA, N. B.; PIRES, E. Influência do treinamento no controle higiênico-sanitário de Unidades de Alimentação e Nutrição. **Revista de Nutrição da UNICAMP**, v.10, n.1, p.50-62. 1997.
- SILVA JUNIOR, E. A. **Contaminação microbiológica como indicadora das condições higiênico-sanitárias de equipamentos e utensílios de cozinhas industriais, para determinação de pontos críticos de controle**. 1993. 70 f. Tese (Doutorado em Ciências Biomédicas) Universidade de São Paulo, São Paulo, 1993.
- VANZO, S. P.; AZEVEDO, R. V. P. Deteção de *S. aureus* em manipuladores de alimentos-Perfil da resistência a antibiótico e quimioterápicos. **Revista Higiene Alimentar**, v.17, n.104/105, p.114-123, 2003.
- VIEIRA, R. H. S. F. Aspectos microbiológicos de pescado antes e depois de processado. In: FONTELES FILHO, A. A.; VIEIRA, R. H. S. F. **Ciência e tecnologia de produtos pesqueiros**. Saint John's (Canadá): MUN Printing Services, 1989. v.1, p.1222-1272.
- VIEIRA, R. H. S. F.; SOUZA, O. V.; PATEL, T. R. Bacteriological quality of ice used in Mucuripe Market, Fortaleza, Brasil. **Food Control**. v.8, n.2, p.83-85, 1997.
- VIEIRA, R. H. S. F.; TAVARES, L. A.; GAMBAR, R. C.; PEREIRA, M. L. *S. aureus* em camarão fresco e superfícies de bancada da feira livre de pescado do Mucuripe, Fortaleza, Ce. Registro de pontos críticos e medidas de controle. **Revista Higiene Alimentar**, v.12, n.55, p.47-50, 1998.
- VIEIRA, R. H. S. F.; SAKER-SAMPAIO, S. Emprego do gelo nos barcos de pesca. In: VIEIRA, R. H. S. F. **Microbiologia, higiene e qualidade do pescado**. São Paulo:Varela, 2003. cap.2, p.37-42.