

BACHAREL EM NUTRIÇÃO

MAYARA CRISTINA DA SILVA COELHO

**ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE SANDUÍCHES NATURAIS
COMERCIALIZADOS EM ARAPONGAS - PARANÁ**

MAYARA CRISTINA DA SILVA COELHO

**ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE SANDUÍCHES NATURAIS
COMERCIALIZADOS EM ARAPONGAS - PARANÁ**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Bacharelado em Nutrição da Faculdade de Apucarana – FAP, como requisito parcial a obtenção do título de Bacharel em Nutrição.

Orientador: Profº Eduardo Amaral de Toledo

Apucarana
2017

MAYARA CRISTINA DA SILVA COELHO

**ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE SANDUÍCHES NATURAIS
COMERCIALIZADOS EM ARAPONGAS - PARANÁ**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Nutrição da Faculdade de Apucarana – FAP, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Nutrição, com nota final igual a _____, conferida pela Banca Examinadora formada pelos professores:

COMISSÃO EXAMINADORA

Profº. Eduardo Amaral de Toledo
Faculdade de Apucarana

Profª. Tatiana Marin
Faculdade de Apucarana

Profº. Udson Mikalouski
Faculdade de Apucarana

Apucarana, 13 de Novembro de 2017.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho primeiramente a Deus, por ser essencial em minha vida, socorro presente na hora da angústia, a minha mãe que me criou praticamente sozinha com tanto amor e carinho possibilitando a realização dos meus sonhos a partir de seus esforços, sendo mãe e pai, ao meu parceiro de vida e esposo, que de forma especial e carinhosa me deu força e coragem, me apoiando nos momentos de dificuldades, a minha irmã por seu companheirismo, ao meu orientador pela paciência na orientação e incentivo que tomaram possível a conclusão deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

Hoje, vivo uma realidade que parece um sonho, mas foi preciso muito esforço, determinação, paciência, perseverança, ousadia e maleabilidade para chegar até aqui, e nada disso eu conseguiria sozinha.

Minha terna gratidão a todos aqueles que colaboraram para que este sonho pudesse ser concretizado.

Grata a Deus pelo dom da vida, pelo seu amor infinito, sem Ele nada sou.

Agradeço minha Mãe Lourdes, meu maior exemplo. Obrigada Mãe por cada incentivo e orientação, pelas orações em meu favor, pela preocupação para que estivesse sempre andando pelo caminho correto.

Ao meu Esposo, homem e amor da minha vida, Marcos Coelho Moreira, por cada abraço em meus momentos desesperados, por ter tido paciência em todo momento, pelo apoio, carinho e dedicação.

A minha irmã Letícia, por todo amor e carinho, paciência e compreensão que tem me dedicado.

Ao professor Eduardo que, com muita paciência e atenção, dedicou do seu valioso tempo para me orientar em cada passo deste trabalho.

Obrigada a todos que, mesmo não estando citados aqui, tanto contribuíram para a conclusão desta etapa e para a Mayara que sou hoje.

“Que todo o meu ser louve ao Senhor, e que eu não esqueça nenhuma das suas bênçãos!” Salmos 103:2.

*“O acesso ao alimento nutricionalmente adequado e
seguro é um direito de todo indivíduo”.*

(FAO/WHO, 1992)

COELHO, Mayara Cristina da Silva. **Análise Microbiológica De Sanduíches Naturais Comercializados em Arapongas - Paraná.** p.45. Trabalho de Conclusão de Curso (Monografia). Graduação em Nutrição da Faculdade de Apucarana. Apucarana-Pr. 2017.

RESUMO

Em busca de praticidade a população mudou sua maneira de se alimentar, com isso os sanduíches naturais entram como uma opção saudável, porém como todo alimento ingerido deve haver uma preocupação com qual maneira o mesmo foi preparado e distribuído. O objetivo desta pesquisa foi avaliar a qualidade higiênico sanitária de sanduíches naturais comercializados em padarias e supermercados da cidade de Arapongas – PR. Foram analisados sanduíches naturais de 5 estabelecimentos. Nas análises microbiológicas foram realizadas contagens de *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella spp.*, e Coliformes 45°C. Das cinco amostras analisadas, somente uma obteve pequena alteração do microrganismo *Bacillus cereus*. Todos os sanduíches naturais apresentam contaminação de *Coliformes 45°C* acima do permitido registrado pela RDC Nº 12//01/2001. As 5 amostras estão de acordo com os padrões estabelecidos de *Staphylococcus aureus*. A contaminação de *Salmonella spp.*, em 25 gramas de Sanduíche foi nula. Conclui-se que os Sanduíches Naturais comercializados em Arapongas – PR necessitam de uma atenção especial ao que diz respeito à higiene, tanto dos manipuladores quanto dos utensílios, bancadas e embalagens que são usados para esse tipo de alimento.

Palavras-chave: alimentos naturais, contaminação, doenças veiculadas por alimentos, microrganismo, segurança de alimentos.

COELHO, Mayara Cristina da Silva. **Microbiological Analysis of Natural Sandwiches Marketed in Arapongás - Paraná.** p.45. Nutrition Graduation Work (Monograph). FAP – College of Apucarana. Apucarana-Pr. 2017.

ABSTRACT

In search of practicality the population has changed its way of eating, with it the natural sandwiches as a healthy species, as if all food ingested there is a concern with how it was prepared and distributed. The objective of this research was to evaluate the sanitary hygienic quality of natural sandwiches commercialized in bakeries and supermarkets in the city of Arapongás - PR. Natural sandwiches from 5 establishments were analyzed. In the microbiological analyzes, counts of *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp. E Coliformes 45°C. Of the five samples analyzed, only one species of *Bacillus cereus* microorganism. All natural materials contaminated with Coliformes 45°C above the registry registered by RDC No. 12 // 01/2001. As 5 samples are in accordance with the established standards of *Staphylococcus aureus*. A contamination of *Salmonella* spp., In 25 grams of Sandwich was nil. It is concluded that the Natural Sandwiches marketed in Arapongás - PR need special attention to the hygiene of both the manipulators and the utensils, countertops and packaging that are for this type of food.

Keywords: natural food, contamination, food-borne diseases, microorganism, food safety.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Sanduíches acondicionados em caixa de isopor	27
Figura 2 – Análise de Coliformes 45°C.....	29
Figura 3 – Análise de <i>Staphylococcus aureus</i>	30
Figura 4 – Análise de <i>Salmonella spp.</i>	31

LISTA DE SIGLAS

ANVISA Agencia Nacional de Vigilância Sanitária

B. cereus *Bacillus cereus*

BPF Boas Práticas de Fabricação

DTAs Doenças transmitidas por alimentos

IBGE Instituto Brasileiro de Geografia e Pesquisa

RDC Resolução da Diretoria Colegiada

S. aureus *Staphylococcus aureus*

UAN Unidade de Alimentação e Nutrição

UFC Unidades Formadoras de Colônias

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Resultados e referência de análise microbiológica de *Bacillus cereus*.32

Tabela 2 – Resultados e referência de análise microbiológica de Coliformes 45°C.....34

Tabela 3 – Resultados e referência de análise microbiológica de *S. aureus*36

Tabela 4 – Resultados e referência de análise microbiológica de *Salmonella spp.*37

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	OBJETIVOS	16
2.1	Objetivo Geral.....	16
2.2	Objetivos Específicos	16
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
3.1	Comércio ambulante de alimentos	17
3.2	Surtos de doenças transmitidas por alimentos	18
3.3	Segurança de alimentos	19
3.4	Toxinfecções Alimentares	19
3.5	Aspectos higiênicos sanitários.....	20
3.6	<i>Bacillus cereus</i>	21
3.7	<i>Staphylococcus aureus</i>	21
3.8	Coliformes 45°C.....	22
3.9	<i>Salmonella spp.</i>	23
3.10	Sanduíches Naturais.....	24
3.11	Pão de forma	24
3.12	Alface	24
3.13	Cenoura.....	25
3.14	Frango	25
3.15	Maionese.....	26
4	METODOLOGIA	27
4.1	Análise de <i>Bacillus cereus</i>	28
4.2	Análise de Coliformes 45°C.....	28
4.3	Análise de <i>Staphylococcus aureus</i>	29
4.4	Análise de <i>Salmonella spp.</i>	30

5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
5.1	<i>Bacillus cereus</i>.....	32
5.2	Coliformes 45°C.....	33
5.3	<i>Staphylococcus aureus</i>.....	35
5.4	<i>Salmonella spp.</i>.....	37
6	CONCLUSÃO	39
7	REFERÊNCIAS.....	40

1 INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas a alimentação do Brasileiro sofreu grandes modificações. A rotina, o trabalho, a distância trabalho e residência fazem com que a população procure novas formas praticas de alimentação (WENDT et al., 2014).

A mudança da mulher para o mercado de trabalho também contribuiu para a mudança do local das refeições, junto a isso vieram às preocupações com o que comer quando não está em casa. Os sanduíches naturais aparecem como uma opção saudável para tal preocupação.

O grande dilema dos sanduíches naturais é a possível qualidade higiênico-sanitária duvidosa de seus componentes, como as hortaliças e o frango, por exemplo. O manipulador de alimentos também é um item primordial nesse impasse, já que o mesmo faz toda a manipulação do alimento podendo contaminar o produto com bactérias patógenas presentes em suas mãos, em várias fases do processamento do alimento, podendo levar ao consumidor doenças de cunho alimentar.

O Manipulador de alimento é quem lida com o alimento desde a recepção da matéria prima até o momento que o consumidor entra em contato com o mesmo (CARELLE; CÂNDIDO, 2014), sendo assim o manipulador não é somente aquele que prepara o sanduíche, mas também que o entrega ao consumidor, sendo que o mesmo também pode contaminar o alimento, se não estiver de acordo com as boas praticas de fabricação e manipulação, prejudicando assim, a saúde de quem o consome.

Segundo a ANVISA, as Boas Práticas de Fabricação (BPF) abrangem um conjunto de medidas que devem ser adotadas pelas indústrias de alimentos a fim de garantir a qualidade sanitária e a conformidade dos produtos alimentícios com os regulamentos técnicos (BALCHIUNAS, 2014).

De acordo com a Resolução – RDC nº 12 de Janeiro de 2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), as principais bactérias que podem ser encontradas em sanduíches naturais e que são responsáveis por doenças transmitidas por alimentos são *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella spp.* e Coliformes 45°C, que podem causar alguns sintomas, como diarreia, vômitos e dores abdominais em maioria dos casos. Sendo esses os microrganismos analisados microbiologicamente nos sanduíches naturais.

A importância da análise microbiológica para os sanduíches naturais oferecidos na Cidade de Araçongas - PR é garantir a qualidade do produto e a segurança dos indivíduos que consomem este tipo de alimento.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar as condições microbiológicas de sanduíches naturais comercializados na cidade de Araçatuba - PR.

2.2 Objetivos Específicos

- Analisar microbiologicamente a presença dos microrganismos patogênicos *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella spp.* e Coliformes 45°C, nas amostras de sanduíches naturais;
- Verificar resultados obtidos na análise, relacionando-os com os padrões microbiológicos do *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella spp.*, Coliformes 45°C, definidos pela RDC nº 12 de 2001;

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Comércio ambulante de alimentos

Com a vida agitada da população, o que antes era lazer agora é motivo de praticidade. Comer fora de casa, hoje em dia, é uma maneira de ganhar tempo na rotina cada vez mais pesada, além de ser uma opção mais barata do que comer em domicílio, para quem o caminho de volta para casa é praticamente uma viagem. Porém, esse hábito tão prático é um dos maiores ocasionadores de doenças transmitidas por alimentos, pela forma que o alimento é preparado, armazenado e distribuído (HENRIQUES et al.,2014).

“Uma questão associada à comida de rua é a sua insegurança para a saúde do consumidor, pois, em sua maioria, as condições de preparo, conservação e venda desse tipo de alimento não atendem às recomendações dos órgãos legisladores” (RODRIGUES et al.,2014).

Parissenti et al., (2013) e Souza et al.,(2015) também reforçam a idéia de que o comércio de rua tem crescido no país, por ser mais prático, rápido e flexível, para a vida corrida que a maioria da população leva atualmente, consumir o alimento já pronto do que prepará-lo em domicílio se torna mais fácil.

Além de uma refeição prática, as pessoas querem uma opção saudável, sendo o sanduíche natural um dos alimentos mais procurados. Porém o que seria uma opção mais saudável, por conter ingredientes naturais, pode ser o grande vilão, pela má manipulação, má higiene e armazenamento, trazendo malefícios ao consumidor (ALMEIDA; ALVES, 2015).

O consumidor não parece muito preocupado com a higiene do que está consumindo até que os prejuízos ataquem sua saúde, sua preocupação está com a praticidade que uma refeição fora de casa, perto de seu trabalho ou local de estudo lhe trás, deixando de lado a segurança alimentar do que se ingere (FRANCO; UENO, 2015).

3.2 Surtos de doenças transmitidas por alimentos

Os surtos alimentares são caracterizados quando um grupo de pessoas apresenta os mesmos sintomas, nesses casos sabe-se do surto antes mesmo de saber qual patógeno o causou, sendo que o microrganismo patogênico deve ser identificado para evitar futuros surtos alimentares (FORSYTHE, 2013).

Para Schaechter (2002) um surto é caracterizado quando no mínimo 2 pessoas apresentam sintomas semelhantes, ligadas ao trato gastrointestinal após ingestão de um mesmo alimento e quando há análises microbiológicas que indicam um mesmo alimento como fonte de tal doença.

Os surtos podem ocorrer com uma família, em casa, ou em grande escala, podendo ser causado por água ou alimentos contaminados. Os surtos alimentares têm tomado força a partir da vida agitada da população que escolhe a opção de se alimentar fora de casa (STANGARLIN-FIORI, SERAFIM E SACCOL, 2016).

Com isso aparecem as DTA's, que são as doenças transmitidas por alimentos, como nos diz Oliveira, Leite e Coelho (2017), causando problemas de caráter grave na saúde de quem os consome.

“As DTA's são consideradas problemas de saúde pública, manifestam-se de diversas formas, desde sintomas brandos até situações mais graves que podem necessitar de auxílio médico ou até matar” (MARINHO et al., 2015).

Ainda segundo Marinho et. al (2015) alguns surtos alimentares podem ocorrer sem que o indivíduo perceba alteração no produto consumido, já que alimentos com alguma alteração perceptível são descartados pelo produtor ou pelo próprio consumidor.

De acordo com Almeida e Alves (2015), a manipulação incorreta dos sanduíches naturais é a maior causa de surtos alimentares.

O aparecimento de surtos alimentares não são somente culpa da má higiene ou manipulação do alimento, Franco e Ueno (2015) ainda dizem que a falta de água tratada é um forte indício para contaminação, já que os ingredientes para os sanduíches naturais e o local que é preparado necessitam ser lavados, porém se essa água estiver contaminada os alimentos serão contaminados, levando prejuízos ao consumidor.

3.3 Segurança de alimentos

As DTA's são adquiridas a partir da ingestão de alimentos contaminados, por ausência de higiene tanto do manipulador como alimentos, utensílios e a água. As DTA's podem levar a morte, com sintomas iniciais de dores de cabeça e problemas gastrointestinais (NETO, 2015).

A contaminação de um alimento se dá pela presença de substâncias patogênicas no próprio alimento ou no ambiente que o alimento está inserido. O manipulador do alimento tem grande culpa em sua contaminação já que é ele quem manipula o produto desde o começo do preparo até distribuir ao consumidor final (CARELLE; CÂNDIDO, 2014).

Os micro-organismos podem contaminar alimentos em qualquer um dos estágios de produção, seja durante o beneficiamento, manuseio, processamento, acondicionamento, distribuição e/ou preparo para o consumo. Entre as causas mais frequentes de contaminação dos alimentos destacam-se a manipulação inadequada dos mesmos, além da contaminação cruzada entre produtos crus e processados (SANTANA; VIEIRA; PINTO, 2016).

A manipulação incorreta do alimento e a higiene pessoal do manipulador são imprescindíveis para que haja uma boa qualidade do produto e conseqüentemente uma queda nas doenças transmitidas pelos mesmos, sendo necessário um treinamento para que esses manipuladores possam oferecer ao público um alimento saboroso e saudável. Porém, é necessário haver a união da teoria com a prática, pois não é porque o manipulador sabe como manter seu alimento seguro que ele o praticará (SOARES, 2013).

As doenças adquiridas a partir da ingestão de um alimento, além de trazer prejuízos individuais, acabam prejudicando a economia do país a partir de despesas médicas e uma queda na qualidade de vida, além disso, há custos com o produto não seguro tendo que retirá-lo de circulação no mercado (MARTINS, 2014).

3.4 Toxinfecções Alimentares

Muitas doenças que ocorrem com os seres humanos são provindas da ingestão de alimentos contaminados por parasitas multicelulares, protozoários, fungos, bactérias

e vírus que quando são ingeridos ultrapassam barreiras no organismo para sobreviver, como o pH ácido do estômago para fazer a colonização do intestino, vencer a microbiota intestinal e seus mecanismos de defesa (JAY, 2005).

Ao consumir um alimento contaminado um indivíduo pode desenvolver patologias que podem ser designadas como toxinfecção alimentar (FORSYTHE, 2002).

A resolução RDC nº 12 de 02 de janeiro de 2001, dispõe que são consideradas doenças transmitidas por alimentos aquelas causadas pela ingestão de um alimento contaminado por agentes infecciosos ou toxinas (BRASIL, 2001).

3.5 Aspectos higiênicos sanitários

Uma alimentação saudável não é somente para se manter vivo e sim, livre de doenças, por isso a importância de uma dieta adequada nutricional e higienicamente. A segurança do alimento é de responsabilidade do manipulador que o prepara, o qual pode ser um grave fator de contaminação, ele também fica responsável pelos equipamentos usados, são uma importante fonte de contaminação se não forem higienizados corretamente (DUARTE 2016).

A responsabilidade de oferecer alimentos seguros é de todos os participantes da cadeia produtiva, desde a produção da matéria-prima até o usuário final, sendo este também responsável, direta ou indiretamente, pela contaminação dos alimentos (HENRIQUES et al., 2014).

O alimento traz consigo inúmeras vantagens e também uma quantidade significativa de chances de dar ao consumidor malefícios a saúde, se por acaso trazer consigo contaminações de caráter físico, químico ou biológico (FILHO, SOUZA E LIMA, 2016).

Almeida et al., (2016) confirma a afirmação acima relatando que a contaminação dos alimentos pode se dar a partir de sua produção até chegar ao consumidor final, podendo ser essa contaminação por agentes biológicos, agentes químicos e agentes físicos. Os biológicos estão intimamente ligados as DTAs.

3.6 *Bacillus cereus*

O *Bacillus cereus* encontra-se disseminado na natureza, sendo as maiores fontes alimentares desses microrganismos os legumes, verduras, vegetais e produtos cárneos. O homem não é um transporte direto de contaminação desse microrganismo, porém o *B. cereus* pode estar por pouco tempo no intestino de indivíduos saudáveis, já os animais podem ser possuidor desse microrganismo em seu corpo (FRECHAUT, 2014).

O *B. cereus* é uma bactéria Gram-positiva, pertencente à família *Bacillaceae*, tem forma de bastonete (bacilos), tem capacidade de formação de endósporos e é anaeróbia facultativa. É capaz de resistir a fatores físicos e químicos tais como temperatura, desidratação e agentes oxidantes. Essa bactéria pode causar dois tipos de toxinfecção: a síndrome diarréica e a síndrome emética (FONSECA, 2016).

Segundo Fagundes, Diesel e Botelho (2016) a síndrome diarréica ainda, em tempos atuais, pode levar a morte, principalmente onde a higiene é duvidosa, atingindo mais gravemente crianças e idosos. É basicamente um aumento de evacuações com fezes aquosas ou com quase nada de consistência, durando em média de 2 a 3 semanas.

Os autores ainda relatam que pode haver vômitos, febre, dor abdominal e muco ou sangue nas fezes. A transmissão ocorre por alimentos, água e contaminação fecal-oral.

Já a síndrome emética, segundo Fonseca, 2016 ocorre principalmente ao consumir alimentos ricos em amido, como arroz e massas contaminados, essa síndrome tem um período de 1 a 5 horas de incubação, sendo induzida por toxina, essa sendo resistente ao calor e a própria bactéria é responsável pela sua produção, causando os principais sintomas de náuseas e vômitos.

3.7 *Staphylococcus aureus*

“O gênero *Staphylococcus* constitui-se por bactérias esféricas, chamadas de cocos, sendo que à microscopia apresentam-se agrupadas em "cachos de uva”.

(LOPES et al., 2014) Ainda segundo os autores o *Staphylococcus aureus* faz parte da microbiota humana, porém é uma bactéria virulenta muito resistente e com disseminação facilitada.

“A bactéria da espécie *Staphylococcus aureus* é muito comum e está presente na mucosa nasal de aproximadamente 30% da população” (ARPINI, 2017). O habitat do *Staphylococcus aureus* é a pele, nariz e períneo, sua transmissão se dá por via aérea e poeira, estando em maior concentração em ambientes hospitalares, sendo sua transmissão pelas mãos e pode causar diversos tipos de infecções (SAMARANAYAKE, 2013). “O período de incubação é muito rápido, em torno de uma hora apresentam-se sinais de vômitos, náuseas e dores abdominais” (GERMANO; GERMANO, 2013).

3.8 Coliformes 45°C

A resolução nº 357 de 17 de março de 2005 da CONAMA, diz que Coliformes fecais, atualmente chamados de termotolerantes, são bactérias gram-negativas, com forma de bacilos. Seu crescimento ocorre em meios que contém agentes tenso-ativos e fazem fermentação de lactose em temperaturas de 44° a 45°C, produzindo ácido, gás e aldeído, estão presente nas fezes animais e humanas e no ambiente como um todo (BRASIL, 2005).

A resolução ainda diz que os coliformes fecais são bactérias que são encontradas no intestino do homem e dos animais, algumas bactérias que pertencem ao grupo de coliformes fecais não são encontradas nas fezes. Adotando assim um termo geral: Coliformes 45°C.

“Os coliformes totais são representados por quatro gêneros da família Enterobacteriaceae: *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter* e *Klebsiella*, sendo a *E. coli* melhor indicador de contaminação fecal do que as outras espécies, sendo a única que habita o intestino humano” (GEORGES, 2015).

A *E. coli* é uma bactéria gram-negativa, anaeróbia facultativa, não esporulada, da família *Enterobacteriaceae*, fazendo parte da flora natural dos animais de sangue quente. Sua presença é indicativo de contaminação fecal e precaridade higiênico-sanitárias, já que se trata de uma bactéria de origem intestinal (FRANCO; LANDGRAF, 2004).

A *E. coli* está presente nas fezes, habita humanos e animais, podendo ser contaminados por alimentos e água que contenham fezes humanas. Essa bactéria pode acometer o trato urinário, dar infecções sistêmicas, biliares ou peritoneais, meningite e sepse. Assim como a *Shigella*, a *E. coli* deixa as fezes moles e com sangue. O local de maior contaminação, segundo o autor são os hospitais. O Coliforme *termotolerante 45°C* não causa problemas a saúde quando habita o intestino, já que esse é seu local normal dessa bactéria (LEVINSON, 2016).

3.9 *Salmonella spp.*

A *Salmonella spp.*, pertence a família *Enterobacteriaceae*, sendo um gênero de bactérias gram negativas com características ímpares que possibilitam sua identificação e com virulência específica que lhe confere invasão nos organismos, sendo essa bactéria causadora de doenças transmitidas por alimentos de origem animal (RODRIGUES; NUNES, 2014).

As *Salmonellas* são capazes de infectar homens e animais por serem vastamente disseminadas na natureza, sendo que é um dos agentes mais consideráveis para ocorrências de surtos de toxinfecções alimentares (VILAR et al., 2015).

Geralmente a *Salmonella spp.*, é encontrada em alimentos de origem vegetais e alimentos crus. A contaminação para vegetais ocorre através de forma cruzada, entre alimentos crus e cozidos e também através de irrigação com água contaminada ou com higienização incorreta, sendo que a doença advinda dessa bactéria, em humanos e em animais, é acarretada a partir da ingestão de alimentos contaminados (SHINOHARA et al., 2008).

Sendo assim, os vegetais, presentes em sanduíches naturais em sua maneira crua, que por descuido sofreram contaminação cruzada e não tiveram higienização adequada, são habitat para a *Salmonella spp.* (ALMEIDA; ALVES, 2015).

3.10 Sanduíches Naturais

De acordo com Escorza (2015) o sanduíche é composto por 2 fatias de pão recheado com carnes, queijos, legumes, embutidos e/ou molhos, o nome sanduíche foi dado em homenagem a John Montagu, 4º Conde de Sandwich, aristocrata e amante de jogos de cartas, no qual se recusava a se alimentar pelo vício em jogos, então seus servos preparavam a comida entre duas fatias de pão para que ele pudesse se alimentar sem interromper o jogo, isso tudo aconteceu em Aachen, na Alemanha.

Ainda segundo a autora, o sanduíche pode ser chamado de sanduíche, sandocha, emparedado, sânguche, sangüiche, bolo, pepito e muitas outras designações, dependendo do local que é consumido e com o tempo foram criados as baguetes, os hambúrgueres e os cachorros-quentes a partir da criação do sanduíche.

3.11 Pão de forma

A Resolução RDC nº 263, de 22 de setembro de 2005, define pão, como sendo resultado de um processo de fermentação e subsequente cocção de uma massa obtida através de farinha de trigo e água, podendo conter outros ingredientes (BRASIL, 2005).

A qualidade do pão é verificada por análises de pH, umidade, acidez e sensorial. Pra um pão de forma ser de boa qualidade "deve apresentar miolo consistente, cavidades irregulares, textura macia e aveludada, sedosa e elástica" (LIMA et al., 2014).

3.12 Alface

A alface (*Lactuca sativa L.*) é uma hortaliça que pertence à família *Asteraceae*, sendo uma planta herbácea, frágil, com um pequeno caule, podendo conter folhas lisas ou crespas, com cores verdes até tons mais arroxeados (MOREIRA et al. 2016).

A alface é uma das hortaliças que mais são consumidas em nosso país, por seu alto valor nutricional, sabor, facilidade de crescimento, baixo custo e boa aceitação a mesa do brasileiro (TORRES et al., 2015).

Atualmente, há vários riscos a saúde da população brasileira derivados da alimentação, dentre eles a contaminação alimentar decorrente de hortaliças, que geralmente são consumidas cruas, podendo estar contaminadas por higiene inadequada, dejetos fecais de humanos ou animais ou presentes em adubos e pela água da irrigação (JUNG et al., 2014).

Hortaliças como a alface podem ser contaminadas através do uso indevido de produtos químicos, água contaminada utilizada para irrigação, devido a praticas inadequadas no campo e ainda durante as etapas de colheita e pós colheita, através de limpeza deficiente, infestação de insetos, transporte, distribuição, pelas mãos dos manipuladores e exposição à venda de forma imprópria (MACHADO et al., 2009).

3.13 Cenoura

A cenoura, com nome científico de *Daucus carota L.*, do grupo das raízes tuberosas, pertence à família *Apiaceae* e no Brasil é uma das 10 hortaliças mais cultivadas (ORTIZ et al., 2014).

É uma planta herbácea, apresenta pouco caule. A parte mais utilizada é a raiz, de cor laranja decorrente de alto teor de betacaroteno (precursor da vitamina A), com sua textura macia agrada ao paladar da maioria dos brasileiros, pode ser utilizada *in natura* ou minimamente processada (NASCIMENTO et al., 2015).

Segundo Silva et al., (2016) a cenoura contém em sua composição, carboidratos, fibras alimentares, proteína, lipídios, minerais como cálcio, magnésio, potássio, sódio, fósforo, manganês, ferro, cobre e zinco e vitaminas como a vitamina C e a vitamina A.

3.14 Frango

De acordo com Carvalho et al., (2005) a salmonelose é muito associada a alimentos de origem animal. O microrganismo *Salmonella spp.* ainda é encontrado em carnes de frango, apesar de vários avanços tecnológicos, esses microrganismos podem estar agregados no trato intestinal ou em outras partes do corpo das aves, já que as

mesmas são os principais reservatórios naturais dessa bactéria (SILVA E GIBBS, 2012).

A contaminação desses microrganismos nas aves é decorrente da má condição de criação dos mesmos e uma higiene precária. A toxinfecção alimentar a partir dessa bactéria é dado pelo consumo da carne da ave, quando contaminada, em sua forma crua ou má cozida (CARDOSO et al., 2015).

3.15 Maionese

A maionese é obtida através de gemas de ovos, água e óleo misturados e temperado com vinagre, sal, pimenta e mostarda a partir de uma agitação mecânica, formando uma emulsão cremosa, possui uma coloração amarela claro, a preparação deve ser mantida sob refrigeração, já que é perecível, a mesma pode ser fonte de microrganismo quando sua manipulação e armazenamento é incorreto (BRASIL, 2015).

Esse molho contém uma textura macia e agradável, seu sabor é neutro, tendo uma boa aceitação com diversos temperos. A maionese deve ter como agente emulsificante a gema do ovo e conter no mínimo 65% de óleo vegetal, como óleo de soja, óleo de algodão, óleo de milho e óleo de girassol, podendo fazer parte de diversas preparações, como os sanduíches (REIS, 2013).

4 METODOLOGIA

A metodologia empregada para amostragem, coleta, acondicionamento, transporte e análise microbiológica das amostras obedeceram aos dispostos da RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001 (Brasil 2001).

As amostras dos sanduíches naturais foram obtidas na cidade de Arapongas, Município situado na Região Norte do Estado do Paraná, Região Sul do Brasil, que segundo o IBGE 2016 se encontra com 116.960 mil habitantes.

A partir da escolha aleatória de diferentes pontos de venda de sanduíches naturais da cidade, foram colhidas 05 amostras, sendo 1 de cada estabelecimento em Março de 2017, em duas amostragens, no intervalo de 24 horas, no turno vespertino e noturno. Após a coleta, as amostras foram acondicionadas em isopor com gelo, conforme figura 1, e levadas, imediatamente, para o Laboratório de Microbiologia da Faculdade de Apucarana, no município de Apucarana, Paraná.

Figura 1 – Sanduíches acondicionados em caixa de isopor com gelo



Fonte: Coelho e Toledo, 2017.

As amostras coletadas continham em sua preparação o pão de forma branco, alface, cenoura, maionese industrializada e frango desfiado.

Foram realizadas as análises de *Bacillus cereus*, Coliformes 45°C, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella spp.* Os materiais usados nas análises

apresentavam-se todos esterilizados. As amostras foram retiradas com a ajuda de um bisturi e para conseguir o peso correto das amostras foi usada uma balança.

Os sanduíches 1 e 2 foram comprados no dia 22 de março de 2017 e os seguintes no dia posterior, 23 de março de 2017. As 5 amostras vieram sem rótulo. Os sanduíches 3, 4 e 5 foram preparados na hora, o sanduíche de número 3 já tem seu patê pronto antecipadamente pelos manipuladores, que me informaram que o mesmo contém cenoura, frango desfiado e maionese e é armazenado em um compartimento de plástico e na geladeira.

4.1 Análise de *Bacillus cereus*

Para a análise de *Bacillus cereus* foi pesado 10 g da amostra e diluído em 90 mL de água peptonada pH 7,0 e homogeneizado, após com a ajuda de uma pipeta estéril foi transferido 0,1 mL da amostra.

Foi espalhado cuidadosa e rapidamente a amostra na superfície da placa, usando um espalhador estéril para cada placa de petri, as placas foram tampadas por cerca de 15 minutos em temperatura ambiente para haver a absorção do Agar. As placas foram incubadas por 18h à 24h em estufa a 30°C.

Após o período de incubação, as placas foram selecionadas e após as colônias de *B. cereus* foram contadas. Para afirmação de contaminação as colônias são grandes e de coloração rosa.

4.2 Análise de Coliformes 45°C

Um dos métodos rápidos mais utilizados para detecção de Coliformes 45°C em alimentos é o Petrifilm EC. Foi pesado 10g de amostra em recipiente estéril e adicionado 90 mL de água peptonada tamponada. Com auxílio de uma micropipeta descartável esterilizada tomou-se da amostra 1 mL da diluição, após foi adicionada em tubo de ensaio contendo 9 mL de solução salina 0,85% esterilizada e agitou-se a solução com cuidado.

As placas EC Petrifilm foram colocadas em superfície plana, o filme superior foi levantado e em seu centro inoculou-se 1 mL da amostra, após o filme foi abaixado evitando a entrada de ar, distribuiu-se uniformemente a amostra exercendo uma leve pressão sobre o centro do difusor, esse difusor foi removido e a placa permaneceu em repouso por 1 minuto para a solidificação do gel.

As placas foram incubadas na posição horizontal com o lado transparente para cima. Para a identificação dos coliformes as placas foram incubadas a $37\pm 1^\circ\text{C}$ por $24\pm 2\text{h}$.

A presença de gás após o período de incubação indica teste positivo para Coliformes 45°C .

Figura 2 – Análise de Coliformes 45°C



Fonte: Coelho e Toledo, 2017.

4.3 Análise de *Staphylococcus aureus*

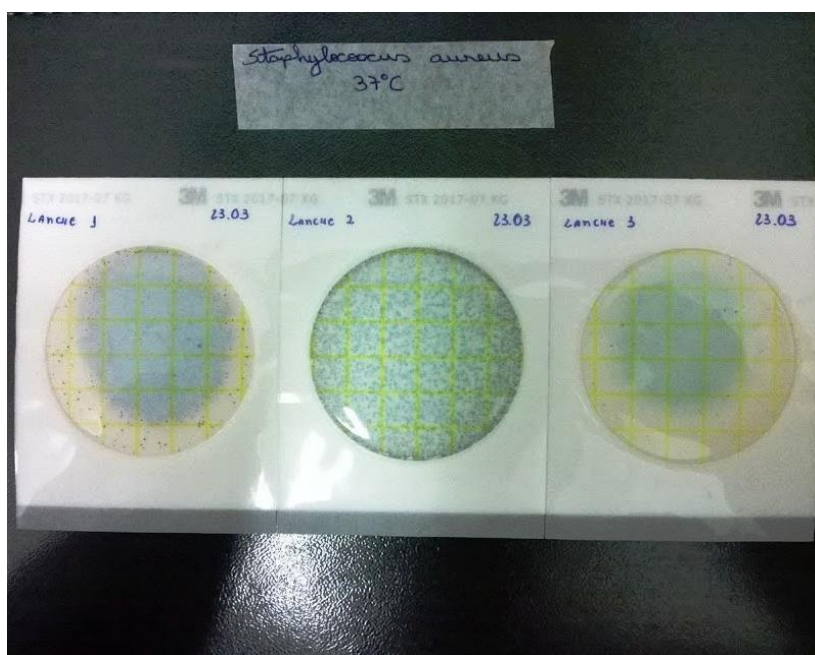
Na análise de *Staphylococcus aureus* foram utilizadas placas de Petrifilm™ Staph Express 3M. As placas foram posicionadas em superfície plana, próximo ao bico de Bunsen onde foi pipetado 1 mL de solução 10^{-2} , após levantou-se o filme superior da placa onde inoculou-se 1 mL da amostra no centro da mesma, o filme superior foi delicadamente solto por cima da amostra para que não ocorresse a

formação de bolhas, dificultando a leitura da placa. Logo após, foram incubadas em estufa bacteriológica por $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 1h à 3h.

Após esse período foi observado se houve crescimento de colônias características de *Staphylococcus aureus*, que foram identificadas por coloração distintas vermelho-violetas, possibilitando assim a contagem das colônias.

A placa Petrifilm Staph Express para *Staphylococcus aureus* é um sistema pronto que contém um agente gelificante solúvel em água fria. O meio cromogênico Baird-Parker modificado na placa é seletivo e diferencial para *Staphylococcus aureus*, sendo observadas a partir de colônias vermelho-violetas, quando essas colônias são identificadas o teste está concluído.

Figura 3 – Análise de *Staphylococcus aureus*



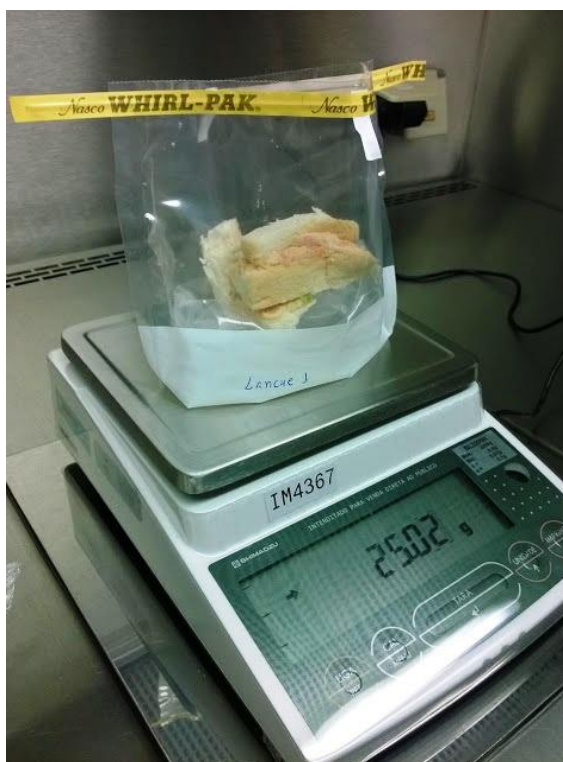
Fonte: Coelho e Toledo, 2017.

4.4 Análise de *Salmonella spp.*

Para a análise de *Salmonella spp.*, foi pesado 25 g da amostra no saco estéril, em um frasco com 225 mL do meio de enriquecimento base autoclavado, foi adicionado 4,5 mL do suplemento hidratado, vertido todo conteúdo no saco estéril

contendo a amostra pesada e homogeneizada em stomacher por 1 minuto, sendo incubada em estufa a $41,5^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 18 a 24 horas. Após esse período, a placa foi hidratada com 2 mL de água destilada estéril em temperatura ambiente e protegida da luz.

Figura 4 – Análise de *Salmonella* spp.



Fonte: Coelho e Toledo, 2017.

Com o auxílio de uma alça de 10 μl estéril foi coletado uma alçada do conteúdo incubado e transferido para a placa de Petrifilm. Após aberta a placa, ergueu-se o filme superior e foi estriada uma alçada na área delimitada do Petrifilm. No momento da estriagem, foi carregado na parte superior, descendo aumentando o espaço das estrias, para obter colônias isoladas e realizar a leitura. O filme foi abaixado e levemente pressionado com o dedo de cima para baixo para remover bolhas de ar.

As placas foram incubadas a $41,5 \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 24 ± 2 horas na posição horizontal.

Após período de incubação, foi avaliado se houve crescimento de colônias com características de *Salmonella*, através de tabela de coloração e formação de gás. As colônias suspeitas de resultado positivo presuntivos foram circuladas com uma caneta

de ponta fina. A confirmação bioquímica dos resultados foi realizada por meio do disco de confirmação SALX.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 *Bacillus cereus*

Para o *Bacillus cereus*, o limite máximo permitido pela legislação em sanduíches frios é de 5×10^3 UFC/g. A tabela 1 mostra os resultados obtidos a partir da análise de *B. cereus*. Foram analisadas 5 amostras, dessas pode-se observar que somente a amostra de número 2 obteve pequena alteração.

A alteração é mínima, porém qualquer presença de patógenos em alimentos reforça a necessidade de uma higienização e produção adequada.

Tabela 1 – Resultados e referência de análise microbiológica de *Bacillus cereus*.

<i>Bacillus cereus</i>			
Produto	Diluição 10⁻¹	UFC/10g	Referência
Sanduíche natural amostra nº 1	0	<10	
Sanduíche natural amostra nº 2	9	$9,0 \times 10^1$	
Sanduíche natural amostra nº 3	0	<10	5×10^3 UFC/10g
Sanduíche natural amostra nº 4	0	<10	
Sanduíche natural amostra nº 5	0	<10	

Fonte: Coelho e Toledo, 2017.

A contaminação advinda desse microrganismo é muito simples, já que o mesmo está abundantemente disseminado pela natureza, sendo alvo desse contágio alimentos frescos, processados e *in natura*, além disso, a superfície usada para o preparo da refeição também pode ser foco da contaminação. Sendo que o contágio por *Bacillus cereus* pode ser dada no manuseio, processamento, estocagem ou distribuição, podendo esse microrganismo ter um crescimento causando doenças de cunho alimentar (MOGHARBEL; REIS; MASSON, 2009).

Lentz (2014) em seu trabalho analisou ocorrência de surtos alimentares derivados de microrganismos patogênicos do ano de 2003 a 2013, no município de Porto Alegre, onde o agente etiológico mais encontrado dentre esses 10 anos foi o *Bacillus cereus*, sendo que a ocorrência desse variou relativamente entre os anos observados, foi possível perceber que por 3 anos (2006, 2011 e 2012) ele foi o microrganismo mais encontrado em surtos.

Os autores Mendes, Coelho, Azeredo (2011) realizaram análises de *B. cereus* em 24 bancadas de uma UAN de Universidade Pública em Campinas – SP, onde são preparados sanduíches, sendo possível observar a presença de contaminação em 27% das amostras. Ainda nessa UAN foi analisado 6 equipamentos e foi encontrado microrganismo em 38,3% das amostras. Para os autores a presença desse microrganismo pode ser dada através de falhas no método de higiene utilizado pelo restaurante, já que era realizada a limpeza das bancadas e equipamentos, porém o processo de sanitização não ocorria corretamente, não sendo uma etapa obrigatória da rotina da UAN.

Em um estudo realizado por Silva; Bergamini; Oliveira (2010) em Ribeirão Preto-SP foi encontrado o *B. cereus* em prato pronto para consumo, alimentos à base de carne, vegetais e cereais, leite e derivados, e produtos de confeitaria, nesse estudo foram analisados no total 116 amostras, sendo que o microrganismo foi encontrado em 15% das análises.

5.2 Coliformes 45°C

O Ministério da Saúde, através da Resolução nº 12, de 2 de janeiro de 2001, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) adotou a denominação coliformes a 45°C, considerando os padrões “coliformes de origem fecal” e “Coliformes 45°C” como equivalentes a Coliformes 45°C a 45°C.

Essa Resolução (nº 12 de 12/01/2001) estabelece que o número máximo estimado para Coliformes 45°C para sanduíches frios e similares é de 10² UFC/g (BRASIL, 2001). A tabela 2 apresenta os resultados obtidos em análise microbiológica dos Coliformes 45°C.

Tabela 2 – Resultados e referência de análise microbiológica de Coliformes 45°C.

Coliformes 45°C			
Produto	Diluição 10⁻¹	UFC/10g	Referência
Sanduíche natural amostra nº 1	300	3,0x10 ²	
Sanduíche natural amostra nº 2	240	2,4x10 ²	
Sanduíche natural amostra nº 3	360	3,6x10 ²	10 ² UFC/10g
Sanduíche natural amostra nº 4	538	5,4x10 ²	
Sanduíche natural amostra nº 5	473	4,7x10 ²	

Fonte: Coelho e Toledo, 2017.

De acordo com os resultados 100% dos sanduíches naturais apresentam contaminação de Coliformes 45°C acima do permitido registrado pela RDC nº 12 de janeiro de 2001.

A análise de coliformes vem sendo útil como indício de contaminação fecal, precariedade na higiene, tendo como resultado a presença de microrganismos causadores de patologias (FERREIRA et. al, 2017).

Alimentos consumidos na sua forma crua, assim como a alface, podem ser facilmente contaminados por coliformes, sendo que antes de seu consumo deve haver uma higienização correta para que não haja esse problema (GOMES, 2015). Sendo assim, em um estudo feito pelo autor, onde foi realizada uma análise específica da alface, pode-se perceber a contaminação por Coliformes 45°C em 7 das 20 amostras analisadas. Já que a presença de Coliformes 45°C indica contaminação fecal há um alto risco de surgimentos de problemas gastrointestinais em quem fizer consumo do produto.

De acordo com Abreu et al. (2010) como a alface é ingerida crua em saladas ou sanduíches é um importante condutor do microrganismo patogênico, sendo que a verdura está entre as fontes de Coliformes 45°C de mais significância. Os autores ainda recomendam a higienização, sanitização e enxágüe correto antes do consumo da alface.

Estudos como de Fonseca e Pereira (2013) também mostram contaminação em suas análises, no trabalho dos autores havia contaminação de coliformes a 45°C em 1

em cada 4 sanduíches, sendo que foram analisados 167 amostras no total, há desconfiança que essa contaminação tenha se dado por transmissão cruzada entre alimentos cárneos crus e folhagens, no caso a alface. Ainda segundo os autores falhas como transporte, embalagens e cuidados higiênicos sanitários são os principais fatores de contaminação.

Martins, Viana e Costa (2016) em seu estudo também tiveram resultados positivos para contaminação do microrganismo, sendo que o mesmo esteve presente em pequena parte das amostras, sendo Coliformes 45°C e totais, na análise de 21 amostras 1 obteve resultado positivo para Coliformes 45°C.

A RDC nº. 218, de 29 de julho de 2005 predispõe que os manipuladores de alimentos devem higienizar corretamente as mãos antes, durante e após manipular os alimentos, assim como evitar espirrar, falar sem necessidade, tossir, fumar durante o preparo do alimento, sempre fazer uso de utensílios limpos para que seja diminuída e/ou erradicada a contaminação do alimento (BRASIL, 2005).

A quantidade de coliformes em um alimento independe do valor, ou seja, por mínimo que seja o resultado da análise microbiológica significa que houve contaminação de origem fecal, sendo produzido em condições higiênicas sanitárias impróprias.

5.3 *Staphylococcus aureus*

De acordo com a RDC nº 12 de Janeiro de 2001, o padrão estabelecido para contagem de *Staphylococcus aureus* é de 5×10^3 UFC/g, dessa forma 100% das amostras estão de acordo com os padrões, conforme mostrado na tabela 3, com os valores de <10 UFC/g.

O *S. aureus* é uma bactéria encontrada na pele e em cavidades nasais de seres humanos saudáveis e também podem ser encontrada nas mãos. Contem grande capacidade de provocar doenças de pequeno e grande porte se houver falhas na higiene pessoal de manipuladores de alimentos, nos quais não cumprirem as normas de higiene, uma das formas mais garantidas de ser prevenir a contaminação de *S. aureus* e outros microrganismos causadores de patologias alimentares é a

implementação de Boas Práticas, onde há regras e princípios para a padronização do manuseio de alimentos, abrangendo desde a recepção da matéria-prima até o produto final, com objetivo de proteger o alimento e seu consumidor (ANSELMO; WERLE; HOFFMANN, 2016).

Tabela 3 – Resultados e referência de análise microbiológica de *S. aureus*
Staphylococcus aureus

Produto	Diluição 10¹	UFC/10g	Referência
Sanduíche natural amostra nº 1	0	<10	
Sanduíche natural amostra nº 2	0	<10	
Sanduíche natural amostra nº 3	0	<10	5x10 ³ UFC/10g
Sanduíche natural amostra nº 4	0	<10	
Sanduíche natural amostra nº 5	0	<10	

Fonte: Coelho e Toledo, 2017.

Martins, Viana e Costa (2016) também realizaram análise de *S. aureus*, onde diferentemente do presente estudo, de 21 amostras analisadas, 2 estavam contaminadas com o microrganismo patogênico, apresentando valores acima dos padrões estabelecidos pela RDC nº 12 de 02/01/2001, ainda segundo as autoras essa contaminação pode levar os consumidores a intoxicação alimentar.

PIACENTINI e SILVA (2014) fizeram uma análise em mãos de manipuladores de alimentos em uma Unidade de Alimentação e Nutrição (UAN) com o intuito de averiguar a presença de *S.aureus*, após análises foi possível perceber que somente uma amostra apresentava incidência do microrganismo em questão, confirmando assim, segundo os autores que manipuladores de alimentos podem causar intoxicação alimentar por *S.aureus*, sendo de máxima necessidade adoção de boas praticas para os manipuladores.

Com base na análise dos sanduíches, é possível afirmar que não ocorreram falhas referentes à higiene pessoal em nenhum estabelecimento onde as amostras

foram recolhidas, sendo que nenhuma das amostras analisadas apresentou-se fora dos padrões estabelecidos pela RDC nº 12 de 02/01/2001.

5.4 *Salmonella spp.*

Existe no mundo mais de 2.400 tipos patogênicos da *Salmonella*, sendo que a presença em alimentos para consumo humano é inadmissível (BEAUGERIE; SOKOL, 2013).

A *Salmonella spp.*, é causadora de infecção alimentar bacteriana, não mediada por toxina, que ocorre a partir da ingestão de água e alimentos contaminados por bactérias vivas que sobrevivem ao ácido estomacal chegando ao intestino e o colonizando, podendo levar a sintomas como vômitos, diarreias, dores abdominais e internamento médico (ALVES, 2012).

Para as 5 amostras analisadas não foram encontradas suspeitas de *Salmonella spp.*, devido à coloração não característica observada nas placas, estando assim de acordo com a Resolução RDC nº 12 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001), na qual dispõe que o correto é haver ausência da *Salmonella spp.*, em 25g da amostragem, conforme tabela a seguir:

Tabela 4 – Resultados e referência de análise microbiológica de *Salmonella spp.*

Produto	Presença/ausência	Referência
Sanduíche natural amostra nº 1	Ausência	
Sanduíche natural amostra nº 2	Ausência	
Sanduíche natural amostra nº 3	Ausência	Ausência/25g
Sanduíche natural amostra nº 4	Ausência	
Sanduíche natural amostra nº 5	Ausência	

Fonte: Coelho e Toledo, 2017.

Sendo assim, a amostra coletada indicou bom nível de qualidade para ser consumida, no que diz respeito à *Salmonella spp.* Porém, há casos em que o resultado das análises não são satisfatórias, como um estudo realizado por Almeida e Alves

(2015), em uma cidade de Juazeiro do Norte – CE, onde é possível observar a ocorrência de 30% de contaminação desses microrganismos no conteúdo analisado, sendo que o total averiguado para esse estudo foi de 10 amostras.

Esse microrganismo é geralmente encontrado em carnes e ovos. Silva e Gibbs (2012) dizem que a *Salmonella spp.*, é um dos principais contaminantes de carne de frango por essa ave ser um reservatório natural de tal bactéria. No caso do sanduíche natural, a *Salmonella spp.* poderia ser encontrada no frango desfiado.

Em um estudo feito por Cardoso et al., (2015) pesquisou-se no estado de São Paulo, entre 2000 a 2010, a presença de *Salmonella spp.* em carcaças de frango resfriadas. Foram analisadas 609 amostras, nas quais 89 estavam contaminadas pelo microrganismo.

6 CONCLUSÃO

Após análise microbiológica dos microrganismos patogênicos *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella spp.* e Coliformes 45°C em sanduíches naturais, verificou-se que em relação a pesquisa de *Staphylococcus aureus*, *Salmonella spp.*, as amostras estão de acordo com as referências definidas pela RDC nº 12 de Janeiro de 2001.

Já em uma das amostras de *Bacillus cereus*, foi possível observar uma pequena alteração, podendo ser causada por falhas de manuseio, processamento, estocagem ou distribuição do mesmo.

Em relação à análise de Coliformes 45°C, todas as amostras foram reprovadas de acordo com a RDC 12 de Janeiro de 2001, estando os sanduíches impróprios para consumo, estando com indícios de contaminação fecal, podendo levar ao consumidor final patologias de cunho alimentar.

Foi possível observar durante as compras dos sanduíches que, naqueles onde o alimento foi preparado na hora houve maior contaminação, podendo ser pelo fato do manipulador estar conversando sobre a composição do lanche durante sua preparação, outro fato importante é que o mesmo indivíduo que prepara o sanduíche manipula o dinheiro.

Diante destes resultados, pode-se concluir que os Sanduíches Naturais comercializados em Arapongas – PR necessitam de um cuidado especial ao que diz respeito à higiene, tanto dos manipuladores quanto dos utensílios, bancadas e embalagens que são usados para esse tipo de alimento, já que o alimento, além de possuir um valor nutritivo a quem os consome, também é um meio de cultura ideal para desenvolvimento microbiano.

7 REFERÊNCIAS

ABREU, Ingergleice machado de Oliveira et al. Qualidade microbiológica e produtividade de alface sob adubação química e orgânica. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 1, 2010.

ALMEIDA, Bruna S.; ALVES, Viviane J. **Perfil microbiológico de sanduíches naturais comercializados na cidade de Juazeiro do norte-CE**. Revista Interfaces: Saúde, Humanas e Tecnologia, v. 2, n. 7, 2015.

ALMEIDA, Silvia Rayner Rodrigues de et al. **Aspectos higiênico-sanitários da merenda escolar nas cidades de Bom Jesus e Colônia do Gurgueia-PI**. PUBVET, v. 11, p. 1-102, 2016.

Alves, A. R. F. **Doenças alimentares de origem bacteriana**. 87f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2012.

ANSELMO, Daiane Bertholin; WERLE, Catierine Hirsh; HOFFMANN, Fernando Leite. Ocorrência de Escherichia coli e Staphylococcus aureus resistentes a antimicrobianos e parasitos Entamoeba coli e Ascaris lumbricoides em merendas escolares. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 74, n. 4, p. 399-409, 2016.

ARPINI, Naiara. **Bactéria que matou adolescente no ES pode levar a óbito em poucos dias, diz infectologista**. 2017. Disponível em: <<http://g1.globo.com/espirito-santo/noticia/bacteria-que-matou-adolescente-no-es-pode-levar-a-obito-em-poucos-dias-diz-infectologista.ghtml>>. Acesso em: 07 abr. 2017.

BALCHIUNAS, Denise (Org.). **Gestão de UAN: Um Resgate do Binômio Alimentação e Nutrição**. São Paulo: Roca, 2014. 304 p.

BEAUGERIE, Laurent; SOKOL, Harry. Acute infectious diarrhea in adults: epidemiology and management. **Presse medicale (Paris, France: 1983)**, v. 42, n. 1, p. 52-59, 2013.

BRASIL, Camila Alves et al. PESQUISA MICROBIOLÓGICA EM MAIONESE INDUSTRIALIZADA, COMERCIALIZADA NO MUNICÍPIO DE JI-PARANÁ-RO. **Resumos Expandidos Apresentados no XIX Salão de Iniciação Científica.**, 2015.

BRASIL, Resolução CONAMA nº357, de 17 de março de 2005. Classificação de águas, doces, salobras e salinas do Território Nacional. Publicado no D.O.U.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC n.º 218, de 29 de julho de 2005**. Dispõe sobre o Regulamento Técnico de Procedimentos Higiênico Sanitários para Manipulação de Alimentos e Bebidas

Preparados com Vegetais. Brasília, Diário Oficial da União, Poder Executivo, 01 de agosto de 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Resolução nº 12 de 02 de janeiro de 2001**. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/1201rdc>. Acesso em: 22 jun. 2017.

BRASIL. **Resolução RDC nº 263, de 22 de setembro de 2005**. Aprova o "regulamento técnico para produtos de cereais, amidos, farinhas e farelos". Órgão emissor: ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Disponível em: <
<http://www.saude.rj.gov.br/comum/code/MostrarArquivo.php?C=MjJwMw%2C%2C>>. Acesso em: 24 de Março de 2017.

CARDOSO, Ana et al. Ocorrência de Salmonella spp. em carcaças de frango provenientes de abatedouros do estado de São Paulo, Brasil, no período de 2000 a 2010. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, v. 24, p. 1-12, 2015.

CARELLE, Ana Claudia; CANDIDO, Cynthia Cavalini. **Manipulação e higiene dos alimentos**. 2. ed. São Paulo: érica, 2014.

CARVALHO, Angela Cleusa de Fátima Banzatto et al. Salmonella spp. em carcaças, carne mecanicamente separada, lingüiças e cortes comerciais de frango. **Ciência Rural**, p. 1465-1468, 2005.

DUARTE, Lorena Stephanie. **Avaliação das condições de higiene de manipuladores e superfície de uma creche filantrópica localizada no DF antes e após treinamento em boas práticas de fabricação**. 2016.

ESCORZA, María Pilar Martínez. **La publicidad de comida rápida**. La visión de la demanda. 2015.

FAGUNDES, Rodrigo da Silva; DIESEL, Lilian Elizabeth; BOTELHO, Lúcio José. **Inundação e casos de síndrome diarreica aguda (SDA) no estado de Santa Catarina nos anos de 2010 e 2011**. Saúde & Transformação Social/Health & Social Change, v. 7, n. 2, p. 106-112, 2016.

FERREIRA, Cláudia Colamarco et al. Análise de Coliformes 45°C e Salmonella sp. em hortaliças minimamente processadas comercializadas em Belo Horizonte-MG. **HU Revista**, v. 42, n. 4, p. 307-313, 2017.

FONSECA, Janini Galvão; PEREIRA, Maurício Gomes. Contaminação microbiana de sanduíches em lanchonetes: estudo transversal realizado em Brasília. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 22, n. 3, p. 509-516, 2013.

FONSECA, Pedro Henrique Dobrões. Análise da expressão e produção de enterotoxinas e toxina emética de Bacillus cereus. 2016. **Tese de Doutorado**. Faculdade de ciências departamento de biologia vegetal análise da expressão e

produção de enterotoxinas e toxina emética de *Bacillus cereus* Mestrado em Biologia Molecular e Genética Pedro Henrique Dobrões da Fonseca Dissertação orientada por: Mário Almeida Santos, Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa Carlos Penha Gonçalves, Instituto Gulbenkian de Ciência.

FORSYTHE, Stephen J. **Microbiologia da Segurança Alimentar**. Porto Alegre: Artmed, 2002.

FORSYTHE, Stephen J.. **Microbiologia da Segurança dos Alimentos**. 2. ed. São Paulo: Artmed, 2013.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Editora Atheneu, 2004.

FRANCO, Cícera Rosária; UENO, Mariko. **Comércio Ambulante de Alimentos: Condições Higiênico-Sanitárias nos Pontos de Venda em Taubaté-SP**. Journal of Health Sciences, v. 12, n. 4, 2015.

FRECHAUT, Tatiana Irina Pereira. **Validação de metodologia para detecção de *Bacillus cereus* em arroz e produtos à base de cereais**. 2014. Tese de Doutorado. Faculdade de Ciências e Tecnologia.

GEORGES, Samira Obeid. **Qualidade microbiológica de linguiças do tipo frescal e caracterização de isolados de Coliformes 45°C** 2015.

GERMANO, Pedro Manuel Leal; GERMANO, Maria Izabel Simões (Org.). **Sistema de Gestão: Qualidade e segurança dos alimentos**. São Paulo: Manole, 2013.

GOMES, Thaís Santiago. **Pesquisa de *Salmonella* spp, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* em amostras de alface e água de coco comercializadas em Campina Grande-PB**. 2015.

HENRIQUES, Patricia et al. **Atitudes de usuários de restaurantes “self-service”: um risco a mais para a contaminação alimentar**. Cad. Saúde Colet., Rio de Janeiro, v. 22, n. 3, p. 266-74, 2014.

IBGE - **Instituto Brasileiro de Geografia e estatística**. PAS - Pesquisa Anual de Serviços, 2017. [online] Disponível na internet via WWW URL: <http://cidades.ibge.gov.br/xtras/perfil.php?codmun=410150>. Arquivo consultado em 08 de Março de 2017.

JAY, James M. trad. TONDO, Eduardo Cesar ET al. **Microbiologia de Alimentos**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

JUNG, Gessica Jacinto et al. **Parasitos em alface *Lactuca sativa* (Asterales: Asteraceae) cultivadas em pequenas propriedades rurais dos municípios de Capinzal,**

Vargem Bonita e Lacerdópolis, Santa Catarina, Brasil. Unoesc & Ciência-ACBS, v. 5, n. 1, p. 103-108, 2014.

LENTZ, Silvia Adriana Mayer. **Ocorrência de *Bacillus cereus* em surtos de doenças transmitidas por alimentos notificados e investigados no município de Porto Alegre de 2003 a 2013.** 2014.

LEVINSON, Warren. **Microbiologia Médica e Imunologia.** 13. ed. São Paulo: Amgh, 2016

LIMA, Adriana de Sousa et al. **Fortificação de pão de forma com cálcio e avaliação do consumo alimentar deste nutriente em mulheres adultas.** 2014.

LOPES, Vanessa Knauf et al. **Infecções multirresistentes por *Staphylococcus aureus*: Tratamento e profilaxia.** J. bras. med, v. 102, n. 4, 2014.

MACHADO, Simone Silva et al. **Contribuição à análise de perigos na produção de alface.** Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais, v. 11, n. 2, p. 191-198, 2009.

MARINHO, Geyson Alves et al. **Perfil Epidemiológico das Doenças Transmitidas por Alimentos e Seus Fatores Causais na Região da Zona da Mata Sul de Pernambuco.** Journal of Health Sciences, v. 17, n. 4, 2015.

MARTINS, Ricardo Bessa. **Segurança Alimentar: uma Revolução Cultural nas Empresas da Cadeia Alimentar.** Revista Nutricias, n. 20, p. 26-28, 2014.

MARTINS, Telma Reginato; VIANA, Angélica; COSTA, Jéssica Espíndola da. **Avaliação microbiológica de sanduíches naturais comercializados em cantinas de uma universidade do município de presidente prudente – SP.** 2016. 219 f. Tese (Doutorado) - Curso de Nutrição, Universidade do Oeste Paulista – Unoeste, Presidente Prudente Sp, 2016.

MENDES, Renata Aparecida; COELHO, Ana Íris Mendes; AZEREDO, Raquel Monteiro Cordeiro de. Contaminação por *Bacillus cereus* em superfícies de equipamentos e utensílios em unidade de alimentação e nutrição. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 16, n. 9, 2011.

MOGHARBEL, Assuan Djamila Ibrahim; REIS, Felipe Richter; MASSON, Maria Lucia. Survey of biological hazards in the lettuce used in commercial snacks (sandwiches) from Curitiba, PR, Brazil. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 19, n. 3, p. 235-241, 2009.

MOREIRA, Meire Helena de Oliveira et al. **Interações alelopáticas sobre o desenvolvimento de alface (*Lactuca sativa*, L. cv. Vanda) CULTIVADA EM SOLO CAFEEIRO.** 4. ed. Varginha-mg: Revista da Uiiips, 2016.

- NASCIMENTO, Mariana Vieira et al. Produtividade da cenoura em função de fontes e doses de fósforo. In: **Anais do Congresso de Ensino, Pesquisa e Extensão da UEG (CEPE)(ISSN 2447-8687)**. 2015.
- NETO, Fernanda Gums. **Boas práticas na alimentação de centros municipais de educação infantil: aspectos higiênico sanitários e físico-funcionais**. 2015.
- OLIVEIRA, Patrícia Gonçalves; LEITE, Lorryne Lays Ferreira; COELHO, Karyne Oliveira. **Perfil histórico de doenças transmitidas por alimentos no Brasil**. Anais da Semana do Curso de Zootecnia-SEZUS, v. 10, n. 1, 2017.
- ORTIZ, Thiago Alberto et al. **Metodologias para avaliação da qualidade fisiológica de lotes de sementes de cenoura cultivar Londrina armazenados por até dez anos**= Methodologies for evaluation of physiological quality seed lots of carrot cultivar Londrina storage for up to ten years. Bioscience Journal, v. 30, n. 3, 2014.
- PARISSENTI, et al. **Avaliação microbiológica de cachorros-quentes comercializados por vendedores ambulantes na cidade de Videira, SC**. Revista Unoesc & Ciência ACBS, v. 4, n.1. 2013.
- PIACENTINI, Karim Cristina; SILVA, Ana Paula Ferreira da. Ocorrência de *Staphylococcus aureus* coagulase positivo em mãos de manipuladores de alimentos de uma unidade de alimentação e nutrição. **Hig. aliment**, p. 52-55, 2014.
- REIS, João Pedro Mendes Fróis. **Desenvolvimento de novas formulações de maionese tradicional, light e fat-free**. 2013. Tese de Doutorado.
- RESENDE FILHO, Moisés de Andrade; SOUZA, Karina Junqueira de; LIMA, Luís Cristóvão Ferreira. **Crises de Segurança do Alimento e a Demanda por Carnes no Brasil**. Revista de Economia e Sociologia Rural, v. 54, n. 3, p. 459-482, 2016.
- RODRIGUES, Bianca Ferreira et al. **O comércio de comida de rua no centro histórico de Salvador–BA: caracterização da oferta de alimentos e aspectos higiênico-sanitários**. Segurança Alimentar e Nutricional, v. 21, n. 1, p. 347-358, 2014.
- RODRIGUES, Francisco; NUNES, Cristiana. Controlo microbiológico da salmonella spp. na carne de consumo humano: revisão. In: **VI Congresso de ACSP da ESALD**. 2014.
- SAMARANAYAKE, Lakshman. **Fundamentos De Microbiologia E Imunologia Na Odontologia**. 4. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2013.
- SANTANA, Franciele Aparecida; VIEIRA, Michele Cristina; PINTO, Uelinton Manoel. **Qualidade microbiológica de sanduíches de estabelecimentos com serviço tipo delivery**. Revista do Instituto Adolfo Lutz, v. 74, n. 2, p. 156-161, 2016.

SCHAECHTER, Maselio. et al. **Microbiologia Mecanismos das Doenças Infecciosas**. 3. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.

SHINOHARA, Neide Kazue Sakugawa et al. **Salmonella spp., importante agente patogênico veiculado em alimentos**. *Ciência & Saúde Coletiva*, v. 13, n. 5, p. 1675-1683, 2008.

SILVA, Ana Carolina Bizinoto et al. **Qualidade nutricional e físico-química em cenoura (*Daucus carota* L.) in natura e minimamente processada**. *DEMETRA: Alimentação, Nutrição & Saúde*, v. 11, n. 2, p. 355-367, 2016.

SILVA, Eliane Pereira da; BERGAMINI, Alzira Maria Morato; OLIVEIRA, Maria Aparecida de. Alimentos e agentes etiológicos envolvidos em toxinfecções na região de Ribeirão Preto, SP, Brasil: 2005 a 2008. **BEPA. Boletim Epidemiológico Paulista (Online)**, v. 7, n. 77, p. 04-10, 2010.

SILVA, F.V.M.; GIBBS, P.A. **Thermal pasteurization requirements for the inactivation of Salmonella in foods**. *Food Research International*, v.45, p.695-699, 2012.

SOARES, Lílian Santos. **Segurança dos Alimentos: avaliação do nível de conhecimento, atitudes e práticas dos manipuladores de alimentos na rede municipal de ensino de Camaçari-BA**. 2013.

SOUZA, Giovanna Carbonera et al. **Comida de rua: avaliação das condições higiênico-sanitárias de manipuladores de alimentos**. *Revista Ciência & Saúde Coletiva*, v. 20, n. 8, 2015.

STANGARLIN-FIORI, Lize; SERAFIM, Ana Lúcia; SACCOL, Ana Lúcia de Freitas. **Instrumentos para Elaboração do Manual de Boas Práticas e dos Procedimentos Operacionais Padronizados em Serviços de Alimentação**. Rio de Janeiro: Rubio, 2016.

TORRES, Jose Luiz Rodrigues et al. **Desempenho da Alface Americana e do Repolho Sobre Diferentes Resíduos Vegetais**. *GLOBAL SCIENCE AND TECHNOLOGY*, v. 8, n. 2, 2015.

VILAR, Silvana Belém de Oliveira et al. **Recuperação de salmonella spp. em manga (*mangifera indica*) cv. Tommy atkins**. *Biológicas & Saúde*, v. 5, n. 17, 2015.

WENDT, Guilherme Welter et al. Repercussões do cenário contemporâneo no ato de compartilhar refeições em família. **Psicologia Argumento (PUCPR. Impresso)**, 2014.