

OCORRÊNCIA DE *Enterococcus faecalis* EM AMOSTRAS DE CAFÉ TORRADO E MOÍDO COMERCIALIZADO NO MUNICÍPIO DO RIO DE JANEIRO

Enterococcus faecalis OCCURANCE IN SAMPLES OF GROUND ROASTED COFFEE AND MARKETED IN THE CITY OF RIO DE JANEIRO

RESUMO

O café é uma das bebidas mais consumidas e apreciadas no mundo. O grão de café é obtido da fruta da planta, um arbusto pequeno, pertencente ao gênero *Coffea*. Duas espécies têm importância comercial: *Coffea arabica* e *Coffea canephora robusta*; conhecidas como *arabica* e *robusta*. Cerca de dois terços da espécie *Coffea arabica* cresce principalmente na América do Sul, América Central e Leste da África (origem deste café).

No presente estudo, avaliou-se a contaminação de *Enterococcus faecalis* em amostras de café torrado e moído comercializado na cidade do Rio de Janeiro, através de análises microbiológicas.

Palavras-chave: *Enterococcus faecalis*. Café.

ABSTRACT

The coffee is one of the most widely consumed beverages in the world and appreciated. The coffee bean is derived from the fruit of the plant, a small shrub belonging to the genus *Coffea*. Two species have commercial importance: *Coffea arabica* and *Coffea canephora robusta*; known as *arabica* and *robusta*. About two thirds of the species *Coffea arabica* grows mainly in South America, Central America and East Africa (the origin of this coffee).

In this study, we evaluated the contamination of *Enterococcus faecalis* in samples of roasted and ground coffee sold in the city of Rio de Janeiro, through microbiological.

Keywords: *Enterococcus faecalis*. Coffee.

INTRODUÇÃO

Atualmente o Brasil se encontra em uma posição de maior produtor e exportador mundial de café em grão. Todavia, o aumento da produção e melhoria dos cafés dos outros países produtores, associado à crescente demanda por cafés especiais de bebida superior pelos países importadores, tem levado a exportação brasileira a sofrer quedas. Tal situação fez surgir a necessidade de busca do conhecimento de técnicas de produção dos cafés de melhor qualidade. No Brasil, poucos produtos agrícolas têm seus preços baseados em parâmetros qualitativos e, dentre eles, destaca-se o café, cujo valor é acrescido significativamente com a melhoria da qualidade, a qual também é um fator limitante para exportação

(Carvalho *et al* 1997). O gênero *Coffea* possui cerca de cem espécies, das quais, apenas as espécies *arabica* e *canephora* são efetivamente cultivadas. Além disso, do café comercializado mundialmente, aproximadamente 70% pertence ao tipo arábica e o restante é de café robusta (Zambolim *et al* 1997).

A incidência de microrganismos tem sido um dos principais fatores envolvidos na qualidade do café, principalmente na modalidade de colheita e preparo adotada no Brasil, isto é, a colheita baseada na mistura de frutos derriçados no chão com os derriçados no pano.

Assim, o levantamento do nível higiênico do café torrado e moído torna-se importante para que os pontos críticos de con-

Cyllene M.O.C.C. Souza¹
e Shirley M.P. Abrantes²

¹Programa de Pós-graduação – Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ). Rio de Janeiro, RJ

²Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS-FIOCRUZ) Rio de Janeiro, RJ

*Correspondência:
e-mail: cyllenematos@gmail.com

taminação por microrganismos possam ser identificados e enfatizados e, ainda, fornecer subsídios para a revisão do padrão legal, com o estabelecimento de limite máximo de tolerância para as sujidades inócuas e inevitáveis que reflitam a realidade e a qualidade do produto, pois a maior parte dos países como, por exemplo, o Canadá (HPB, HEALTH PROTECTION BRANCH, 1999) tem seus padrões estabelecidos em lei, com limites consideráveis para estes tipos de impurezas.

MATERIAIS E MÉTODOS

Neste estudo, utilizamos amostras de café torrado e moído provenientes de supermercados da cidade do Rio de Janeiro. Foram coletadas 10 (dez) amostras, sendo as mesmas em triplicata, ou seja, de lotes diferentes, perfazendo um total de 30 (trinta) amostras.

As análises microbiológicas para os *Enterococcus* foram realizadas no laboratório de Bacteriologia Clínica do Instituto de Biologia do Exército – IBEX e a caracterização do gênero *Enterococcus* foi realizada no Instituto de Microbiologia Prof. Paulo de Góes da UFRJ.

Foram analisadas 10 amostras de café torrado e moído comercializado no município do Rio de Janeiro. As amostras foram analisadas em três lotes diferentes, portanto traduzin-

do-se num total de 30 amostras, sendo primeiro, segundo e terceiro lote. Para as análises empregou-se o sistema MicroScan (Dade Behring), isoladas no laboratório de Bacteriologia do Instituto de Biologia do Exército (IBEX). As amostras foram obtidas de supermercados diversos e o critério de inclusão no estudo foi adotado por terem sido consideradas insatisfatórias em estudos anteriores. Os materiais foram semeados segundo procedimentos convencionais.

No presente estudo foi realizada a análise para coliformes totais para a qual foram pesados 25g do pó de café e adicionados a 225ml de água peptonada a 1%. A seguir foram utilizadas três séries de cinco tubos com 9mL de caldo Verde Brilhante Bile a 2% (DIFICO, Detroit, Mich, USA), contendo no seu interior tubos de Durham invertidos. Os tubos foram inoculados com 1mL das diluições decimais (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}) e incubados a 37°C durante 24 a 48 horas.

Nesta análise são considerados positivos os tubos que apresentarem crescimento com produção de gás no interior dos tubos de Durham, em que para o cálculo do NMP de coliformes totais foi utilizada a tabela de Mc Crady (ROTHWELL, J., 1987; WIGGINS, B. A, 1996.). Os resultados serão expressos em NMP/mL.

Com base nisto, os testes foram feitos e os resultados foram considerados negativos, visto que não houve a formação de gás entre as amostras de café analisadas.

Tabela 1. Método automatizado

Antimicrobianos/ cepas	1	2	3	4	6	7	8	9	10	11	12	13	14	16	17	18	19	20	21	22	23	24	26	27	28	29	30
Tetraciclina (30 µg)	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	R	S	R	R	S	R	R	R	S	S
Vancomicina (30 µg)	I	S	S	I	I	S	S	I	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S
Ampicilina (30 µg)	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Cloranfenicol (30 µg)	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Sulfametoxazol- trimetoprim (30 µg)	I	I	S	I	I	R	S	S	I	I	S	S	S	I	R	S	R	R	S	R	R	I	R	R	R	I	I
Ciprofloxacina (5 µg)	R	I	R	R	I	R	R	S	I	S	S	S	S	I	R	S	R	R	S	R	R	I	R	R	R	R	I
Eritromicina (30 µg)	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	R	S	R	R	S	R	R	R	S	S
Gentamicina (30 µg)	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Linezolida (30 µg)	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Penicilina (30 µg)	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

S - Sensível / I - Insensível

Tabela 2. Método de difusão em disco

Antimicrobianos/ cepas	1	2	3	4	6	7	8	9	10	11	12	13	14	16	17	18	19	20	21	22	23	24	26	27	28	29	30
Vancomicina (30 µg)	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Ampicilina (30 µg)	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Sulfametoxazol- trimetoprim (30 µg)	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Eritromicina (30 µg)	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Gentamicina 30 µg	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Gentamicina 120 µg	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R

S- Sensível / R- Resistente

Devido à negatividade dos resultados relacionados à pesquisa de coliformes totais, realizou-se a análise bacteriológica qualitativa. De cada amostra foram pesados asepticamente 25 gramas do produto e adicionados em frascos estéreis contendo 225 ml de solução água peptonada a fim de obter-se a diluição inicial (10^{-1}), a qual foi homogeneizada. Os frascos foram incubados em estufa por 24 – 48 horas. Após incubação, uma alçada desta diluição foi semeado em placas de Agar Infusão Cérebro Coração (BHI – MERCK),

Após 24-48 horas foram selecionadas três colônias de cada placa realizando-se os testes de catalase e coloração de Gram. Todas as cepas bacterianas foram catalase negativa e Gram positivas em forma de cocos dispostos isolados, aos pares ou em cadeias curtas, anaeróbios facultativos e foram submetidas ao método automatizado de identificação fisiológica e de determinação da suscetibilidade antimicrobiana frente ao painel Gram-positivo PC-21 (automação MicroScan - WalkAway). As recomendações do fabricante do produto para inoculação e incubação dos painéis foram rigorosamente seguidas. Após 18-24 horas de incubação a $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, os painéis foram lidos no sistema MicroScan.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O sistema automatizado identificou 74% das cepas como sendo das espécies *Enterococcus faecalis* sendo as demais amostras 26% identificadas como *Enterococcus casseliflavus*.

Também foi realizado a identificação fisiológica das cepas isoladas por métodos convencionais recomendado por Facklam *et al.* (1999) para a caracterização do gênero

Enterococcus. Essa etapa foi realizada no Instituto de Microbiologia Prof. Paulo de Góes da UFRJ.

Os antibióticos utilizados no Painel MicroScan para bactérias Gram-positivas PC-21 foram: Tetraciclina (30 µg), Vancomicina (30 µg), Ampicilina(30 µg), Cloranfenicol (130 µg), Sulfametoxazol-trimetoprim (30 µg), Ciprofloxacina (5 µg), Eritromicina (30 µg), Gentamicina (30 µg), Linezolida (30 µg), e Penicilina (30 µg), seguindo os critérios estabelecidos pelo *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS-2000) Tabela 1.

Os *Enterococcus* mostraram-se resistentes no método automatizado principalmente para gentamicina (100%), seguido pela ciprofloxacina com 52%, tetraciclina e eritromicina com 29%.

As cepas estudadas foram analisadas frente ao método convencional de difusão de disco em ágar para: ampicilina (30 µg), vancomicina (30 µg), gentamicina (de 30 µg e de 120 µg), sulfametoxazol-trimetoprim (30 µg), eritromicina (30 µg). Posteriormente será realizado para outros antimicrobianos.

O resultado do método de difusão em disco pode ser verificado na Tabela 2.

Os *Enterococcus* são relativamente resistentes ao calor e podem sobreviver a torrefação do café. (Doyle, Beuchat, & Montiville, 1997). Algumas restrições quanto à utilização dos *Enterococcus* como indicadores de contaminação fecal dos alimentos são feitas, uma delas seria de encontrarmos em outros ambientes além do trato intestinal e apresentarem uma sobrevivência maior em relação aos enteropatógenos encontrados no solo, nos vegetais e em alimentos, principalmente naqueles submetidos à desidratação, ação de desinfetantes e a flutuações de temperatura por serem mais resistentes. (Franco, 2003).

Apesar das limitações do uso desses microrganismos como indicadores de contaminação fecal, sua presença

em números elevados em alimentos indica práticas sanitárias inadequadas ou exposição do alimento a condições que permitiram a multiplicação de microrganismos indesejáveis. (Franco, 2003).

CONCLUSÕES

88,1% das amostras de café torrado e moído analisadas apresentaram *Enterococcus faecalis* evidenciando negligência nas Boas Práticas de Fabricação;

Urge medidas de mudança face ao resultado encontrados nesta análise, dentre eles:

- Alteração na legislação.
- Fiscalização e controle mais eficientes, uma vez que a contaminação pode ter acontecido após a torrefação do café, pois o emprego de temperaturas elevadas elimina o risco de se utilizar matérias-primas inadequadas. Porém, as condições higiênicas envolvidas durante o manuseio e o acondicionamento do produto final podem ter contaminado tais amostras.
- Alteração na legislação de padrões microbiológicos dos alimentos - Resolução-RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001 que não estabelece limites para *Enterococcus faecalis* no café torrado e moído.

REFERÊNCIAS

DELAZARI, I. Aspectos microbiológicos ligados a segurança e qualidade da carcaça de aves. In: Semana Acadêmica Veterinária, 8., 1998, São Paulo. *Anais*. São Paulo: 1998. p.71-77.

EDWARDS, P. R; EWING, W. H. Identification of Enterobacteriaceae, 3ed. Minneapolis: Burgess Publishing Co, 1972.

FRANCO, G. M. B.; LANDGRAF, M. *Microbiologia dos Alimentos*. São Paulo: Editora Atheneu, 1996, cap.4, p. 33-81.

FRAZIER, N. C. *Microbiologia de los alimentos*. Zaragoza: Acribia, 1976. 512p

PEREIRA, M. L.; GASTELOIS, M. C. A.; BASTOS, E. M. A. F.; CAIAFFA, W. T.; FALEIROS, E. S. C. Enumeração de coliformes fecais e presença de *Salmonella* sp. Em queijos Minas. Arq. Brás. Méd. Veterinária. *Zootecnia*, 1999, 51:427-31.



Há 20 anos, INTEGRANDO SOLUÇÕES...

Os conceitos necessários a um mercado cada vez mais exigente devem ser aprimorados dia-a-dia, tornando a ICR3:

Precisa



KYOTO
Densímetro Digital



KYOTO
Tituladores Automáticos



GRABNER
Mini Pressão de Vapor



ASOMA
Raio-X Multi Elementar



TETHYS
Analisador de Águas MultiElementar



VSLP
Analisador de Proteínas - DUMAS

Inovadora



AET
IQT - Analisador de Qualidade do Diesel



PETROTEST
Petroxy - Analisador de Ovitação

Competitiva



PETROTEST
Destilador Atmosférico Automático



PETROTEST
Ponto Fulgor Automático



TANAKA
Destilador Atmosférico Automático



TANAKA
Ponto Fulgor Automático

Dinâmica



JILABO
Presto - Unidade Dinâmica de Temperatura



Site: www.icr3.com.br

Rio de Janeiro: (21) 3172-7755
icr3@icr3.com.br
Rua Ratclif, 84 - Riachuelo.

São Paulo: (11) 3805-0005
icr3-sp@icr3.com.br
Av. Luiz Dumont Villares, 2078 - cj 57.
Parada Inglesa.

A ICR3 Científica está expandindo as atividades na área de qualidade e anuncia o Departamento de Consultoria. Faça uma consulta.