

# SEGURANÇA ALIMENTAR E DOENÇAS VEICULADAS POR ALIMENTOS: UTILIZAÇÃO DO GRUPO COLIFORME COMO UM DOS INDICADORES DE QUALIDADE DE ALIMENTOS

*Food security and food-borne diseases: utilization of the coliform group as one indicator of food quality*

Cristina Paiva de Sousa

Enfermeira, doutora em Ciências Biológicas (Microbiologia), USP, mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos, UFPB, professora do DMP/CCBS/UFSCar - Universidade Federal de São Carlos. Endereço: Rodovia Washington Luís (SP-310), km 235, São Carlos - São Paulo - Brasil CEP: 13565-905 - E-mail: prokarya@power.ufscar.br

## RESUMO

A qualidade de um alimento pode ser determinada pelo controle da qualidade analítica. A qualidade microbiológica pode ser estabelecida utilizando-se como parâmetros microrganismos indicadores de contaminação fecal, como o grupo coliforme. *E.coli* pode atuar como organismo comensal, patógeno oportunista e patógeno extremamente especializado. A qualidade microbiológica tem o objetivo de fornecer alimentos seguros, do ponto de vista higiênico-sanitário. Uma das maneiras de se conseguirem alimentos seguros é o investimento em técnicas de manipulação adequadas e o treinamento de manipuladores de alimentos. Esses esforços permitirão a prevenção de doenças veiculadas por alimentos.

**Palavras-chave:** Qualidade dos Alimentos; Qualidade de Produtos para o Consumidor; Normas de Qualidade de Alimentos; Microbiologia de Alimentos; Contaminação de Alimentos; Enterobacteriaceae, Escherichia Coli; Intoxicação Alimentar; Tecnologias Biomédicas.

## ABSTRACT

Food quality can be determined through quality analytical control. Microbial quality can be established using microorganisms, like the coliform group, as indicators of fecal contamination. *E. coli* can be a commensal, opportunistic agent as well as a specialized pathogen. Microbial quality aims to produce safe food in terms of microbiological patterns. To achieve this goal of safe food, food handlers must be properly trained. These efforts will prevent food-borne diseases.

**Key words:** Food Quality; Consumer Product Safety; Food Quality Standards; Food Microbiology; Enterobacteriaceae; Escherichia Coli, Food Poisoning; Biomedical Technology.

## Introdução

Uma das formas de se determinar a qualidade de um alimento é pelo controle da qualidade analítica. Essa técnica enfoca a abordagem na inspeção, durante a produção do alimento, até a execução de testes físico-químicos, químicos e microbiológicos no produto final. Esse critério pode ser realizado tanto por órgãos governamentais, como pelo pessoal da indústria, com o objetivo de verificar se o produto está ou não de acordo com as leis e regulamentos do país e com as necessidades comerciais da indústria.

O controle da qualidade do produto final não oferece a garantia de qualidade requerida. Isso ocorre devido, entre outras razões, à dificuldade de se analisarem as amostras em quantidade suficiente para obtenção de informações sobre o lote do produto e ao prolongado período de tempo para obter essas informações, uma vez que incluem análises microbiológicas que são demoradas, de alto custo e que necessitam de pessoal qualificado.

A intervenção na educação para manipulação adequada de alimentos pode contribuir para maximizar a segurança do manipulador no manuseio de alimentos, ampliar as perspectivas educacionais deste e fornecer à população um alimento seguro, do ponto de vista microbiológico.(LEVINGER, 2005)

Uma maneira de se educar o manipulador é fazê-lo conhecer como os microrganismos potencialmente veiculadores de doenças de origem alimentar atuam no hospedeiro humano e o que se deveria fazer para oferecer alimentos seguros, do ponto de vista microbiológico. Vários patógenos possuem mecanismos de interação comuns com o hospedeiro, embora cada espécie tenha desenvolvido uma estratégia única que o capacita a explorar a célula eucariótica.(FINLAY; FALKOW, 1997)

Patógenos bem adaptados têm a habilidade de subverter, circunverter e/ou evadir células humanas normais. Subverter significa, na patogenicidade bacteriana, enganar, desorganizar, corromper o sistema imune, por exemplo; a habilidade de circunverter estaria ligada ao conceito de criar mecanismos que contornam a ação microbiana, em um dado momento, e evadir significa fugir, escapar de uma situação não adequada ao microrganismo.

*Escherichia coli* é o principal microrganismo gram-negativo anaeróbio facultativo que faz parte da microbiota intestinal normal.(NATARO; KAPER, 1998; TRABULSI *et al.*, 2002)

*E. coli* tem uma tendência de se modificar de organismo comensal para um patógeno oportunista e para uma bactéria extremamente especializada (HART; WINSTANLEY, 2001). Essas habilidades se constituem numa delicada linha que delimita um patógeno em relação a um saprófita e estabelece quais mecanismos são utilizados por bactérias para desorganizar células humanas.

Esta revisão objetiva demonstrar os progressos na compreensão das estratégias de *E. coli* como agente patógeno, enfatizando o potencial de *E. coli* como organismo indicador de doenças veiculadas por alimentos.

Os métodos estabelecidos nesta revisão seguem a categoria de descrição de estudos mais recentes e trabalhos mais expressivos realizados por pesquisadores neste campo de conhecimento.

## **Microbiota de alimentos**

A microbiota de um alimento é constituída por microrganismos associados à matéria-prima e por contaminantes, que foram adquiridos durante os processos de manuseio e processamento (pelos manipuladores de alimentos) e aqueles que tiveram condições de sobreviver aos processos aplicados durante o preparo do alimento e seu acondicionamento. Assim, esses microrganismos podem contaminar alimentos em qualquer um dos estágios de produção, beneficiamento, manuseio, processamento, acondicionamento, distribuição e/ou preparo para o consumo. A maior parte dos alimentos está sujeita a várias fontes potenciais de microrganismos, porém podem-se controlar os níveis de contaminação e manter a microbiota em um número aceitável pela legislação vigente, através de manuseio adequado, conhecimento e emprego de fatores que influenciam o crescimento de microrganismos em alimentos, dentre outras ações. (LIMA; SOUSA, 2002) Assim se obtém uma maior validade do produto e há menos chance de ocorrer uma infecção ou intoxicação, após o consumo.

Os microrganismos podem estar presentes no ambiente natural do homem (água, solo, ar, poeira), no próprio homem e em todos os seres vivos. Assim, qualquer alimento que o homem consome pode estar contaminado por microrganismos.

Um alimento pode se tornar alterado (com perda das características organolépticas próprias e de seu valor comercial) e até ocasionar, no consumidor, infecções e intoxicações alimentares (SOUSA, 2005), dependendo do seu nível de contaminação microbiana e de suas características.

As fontes de microrganismos em alimentos podem ser as plantas, que possuem uma microbiota naturalmente presente, o ar, a água, o solo, os indivíduos. Os animais têm microrganismos presentes nos pêlos, penas, patas, couro e no intestino. A eliminação de microrganismos pelos animais contamina o meio ambiente externo e recomeça todo o ciclo.

## ***Escherichia coli* como categoria diarreio gênica**

*E. coli* pode atuar como um organismo comensal, colonizando o intestino humano algumas horas após o nascimento. Essa interação com as células epiteliais intestinais é benéfica e, nesse contexto, *E. coli* atua por competição, impedindo a colonização por patógenos.

*E. coli* também pode se comportar como um organismo oportunista, ocasionando doenças em hospedeiros suscetíveis e infecções em órgãos ou tecidos normalmente estéreis.

Uma outra habilidade de *E. coli* é agir como um patógeno extremamente especializado, ocasionando doenças em hospedeiros saudáveis.

Infecções ocasionadas por *E. coli* podem ser limitadas à colonização de superfícies mucosas ou podem se disseminar através do organismo, tendo sido implicadas em processos de infecção, meningite e infecções gastro-intestinais. (NATARO; KAPER, 1998)

Uma vez que é fácil a ingestão de patógenos com o alimento ou água, o trato intestinal humano é susceptível às infecções por categorias diarreio gênicas de *E. coli*. (SOUSA, 2003)

Os principais agentes de infecções intestinais são representados por membros da família *Enterobacteriaceae*. Dentre esses, têm destaque fundamental as categorias diarreio gênicas de *Escherichia coli*.

*E. coli* pode ser classificada por mecanismos de patogenicidade (toxinas, adesinas, invasibilidade), danos a animais de laboratório e padrões de adesão a células eucarióticas em cultura, e seus patótipos incluem: i) *E. coli* enteropatogênica (EPEC); ii) *E. coli* enteropatogênica atípica (A-EPEC); iii) *E. coli* enterotoxigênica (ETEC); iv) *E. coli* enterohemorrágica (EHEC); v) *E. coli* enteroinvasiva (EIEC); vi) *E. coli* de adesão difusa (DAEC); vii) *E. coli* enteroagregativa (EAEC).

Vários sorotipos de *E. coli* têm sido implicados em doenças diarreicas, se constituindo num grave problema de saúde pública no mundo, com mais de dois milhões de mortes relatadas, a cada ano. (NATARO; KAPER, 1998)

*E. coli* enteropatogênica (EPEC) é agente etiológico bem estabelecido de diarreia infantil humana, com característica de corromper as funções de células epiteliais intestinais, produzindo lesões próprias “*attaching and effacing*” (A/E), ou adesão e elevação. (TRABULSI *et al.*, 2002) Essas lesões próprias de EPEC são

caracterizadas por destruição localizada da borda em escova do microvilo e adesão íntima da bactéria à membrana da célula hospedeira, e formação de estrutura de citoesqueleto rico em actina, em volta da bactéria aderida. (KNUTTON *et al.* 1987) Um dos efetores secretados pelo sistema de secreção tipo III é o Tir (*transferable intimin receptor*), ou receptor transferível de intimina. O Tir insere-se na membrana da célula hospedeira e atua como um receptor para a intimina, proteína de superfície de EPEC, que facilita a adesão íntima da bactéria aos enterócitos da célula hospedeira. (SCOTLAND *et al.*, 1999) Em países em desenvolvimento, e em estudos realizados no Brasil, se observou que *E. coli* enteropatogênica (EPEC) permanece como uma causa preponderante de diarreia infantil, com surtos recentes reportando um índice de 30% de casos fatais. (GOMES *et al.*, 1991)

Alguns estudos demonstram que *E. coli* enteropatogênica atípica (A-EPEC) é outra categoria de EPEC associada à diarreia de importância clínica. (SCOTLAND *et al.*, 1999; SOUSA; DUBREUIL, 2001)

*E. coli* enterotoxigênicas (ETEC) são uma causa de diarreia secretória no homem e em animais, pela produção de toxinas termoestáveis, termolábeis ou ambas. (LEVINE, 1987)

Cepas de *E. coli* enterohemorrágicas (EHEC) são implicadas em casos de doenças veiculadas por alimentos, principalmente ao consumo de carne moída e leite cru. Essas cepas produzem toxinas do tipo *shiga-like* (stx1 e stx2) e suas variantes. (MENARD *et al.*, 2004) Essa categoria é implicada em episódios de diarreia com complicações. O sorotipo de importância destacada é o O157:H7, associado à colite hemorrágica, diarreia com sangue e síndrome urêmica hemolítica (HUS).

*E. coli* enteroinvasiva (EIEC) causa várias doenças no homem, sendo bioquimicamente, geneticamente e patogenicamente similar à *Shigella* spp. Ambas causam colite inflamatória invasiva. (LEVINE, 1987) A doença envolve invasão e espalhamento celular, em que genes cromossômicos e plasmidiais estão envolvidos.

*E. coli* com adesão difusa (DAEC) é definida por seu padrão de adesão difuso em ensaios com células HEp-2 e causa síndrome de diarreia aquosa em adultos e crianças.

*E. coli* enteroagregativa (EAEC) é definida tendo como base seu padrão de adesão difuso, em presença de células HEp-2 em cultura. O elemento essencial ao fenótipo agregativo é a adesão das células bacterianas como tijolos empilhados lado a lado (LEVINE, 1987). Essa categoria é caracterizada por associação com diarreia

persistente em crianças vivendo em países em desenvolvimento e como causa de diarreia esporádica em pacientes com AIDS.

### **Produção de alimentos e segurança alimentar**

Na indústria de alimentos, os produtos obtidos devem ter as características que o cliente (consumidor), a organização (empresa) e a sociedade (órgãos públicos) destacam em um alimento. Geralmente, o consumidor busca produtos de sabor agradável, aroma, apresentação e, por sua vez, exige que sejam sãos e seguros. Essa propriedade é um conceito amplo, que depende do gosto particular de cada pessoa. Na realidade, é um conjunto de características que, consciente ou inconscientemente, o consumidor aprecia e valoriza no produto, enquanto a propriedade segurança de um produto alimentício é o resultado da idoneidade (ausência de perigos para a saúde), integridade (ausência de fraude ou falsificação) e legalidade (ausência de defeitos ou adulterações). Com relação à empresa, essa deve obter a máxima rentabilidade do produto, além de cumprir com os requisitos legais e atender às características de satisfação do consumidor. Já os órgãos públicos exigem da empresa o fornecimento de produtos seguros e regem essa segurança estabelecendo leis, códigos, normas e outros procedimentos, obrigando, assim, ao desenvolvimento de programas, nas indústrias, que garantam a salubridade dos alimentos.

Pode-se definir como um alimento seguro aquele cujos constituintes ou contaminantes que podem causar perigo à saúde estão ausentes ou em concentrações abaixo do limite de risco.(SOUZA *et al.*, 2005) Um alimento pode tornar-se de risco por razões como: i) manipulação inadequada; ii) uso de matérias primas cruas e contaminadas; iii) contaminação e/ou crescimento microbiano; iv) uso inadequado de aditivos químicos; v) adição acidental de produtos químicos; vi) poluição ambiental e degradação de nutrientes.

### ***Escherichia coli* como indicador de qualidade de alimentos**

As doenças causadas por contaminantes biológicos presentes na água e/ou nos alimentos constituem-se em problemas de saúde pública comuns no Brasil.

A transmissão dessas doenças pode ocorrer de forma direta (como a ingestão da água ou dos alimentos) ou indireta, no preparo de alimentos, na higiene pessoal, na

agricultura e no lazer. Os principais microrganismos presentes na água e em alimentos contaminados e responsáveis pelas numerosas doenças são *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Escherichia coli*, *Vibrio cholerae*, dentre outros.

Organismos coliformes são bastonetes gram-negativos, que possuem, como *habitat* natural, o trato intestinal do homem e de animais. Pertencem à família *Enterobacteriaceae*, incluindo muitos gêneros, tendo como principais a *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Proteus*, *Providencia*, *Citrobacter*. Podem ser divididos em coliformes totais e fecais, dependendo do *habitat* do microrganismo. *E. coli* é o microrganismo de escolha como indicador de contaminação fecal, uma vez que é de fácil isolamento nos meios de cultura convencional e mais resistente por um período de tempo maior.

Os microrganismos indicadores são comumente utilizados para avaliar as condições higiênicas de alimentos; sua presença evidencia relação com o histórico da amostra. As contagens de coliformes são muito utilizadas nas análises de alimentos tratados termicamente. Nesse contexto, a presença de bactérias gram-negativas, por exemplo, é um indicativo de tratamentos térmicos inadequados ou de uma provável contaminação posterior.

Um microrganismo indicador deve apresentar as seguintes características: i) ser de fácil e rápida detecção na amostra; ii) ser facilmente diferenciado de outros membros da microbiota presente; iii) ser detectado na presença de patógenos e não detectado na ausência dos mesmos, com exceção de números mínimos; iv) possuir características e taxas de crescimento equivalentes às do patógeno. (LIMA; SOUSA, 2002)

Os microrganismos indicadores de contaminação higiênico-sanitária são geralmente usados para: i) monitorar; ii) detectar mudanças de qualidade; iii) classificar; iv) restringir o uso de águas ou alimentos. Os maiores riscos à saúde estão associados ao consumo de água e/ou de alimentos contaminados por agentes patogênicos. O principal objetivo da utilização de bactérias como indicador da falta de medidas sanitárias é revelar defeitos no tratamento e/ou na manipulação, que levam consigo um perigo potencial, mesmo não estando necessariamente na amostra particular examinada, mas que pode ser provavelmente encontrado em amostras paralelas. (APHA, 1998)

Essa situação é preocupante, principalmente nos países em desenvolvimento. No Brasil, as infecções e/ou intoxicações veiculadas pela água ou alimentos contaminados podem se converter em um grande problema de Saúde Pública. De acordo com Kosek et al. (2003), cerca de 15 a 20% das crianças adquirem diarreias nos primeiros anos de

vida, em decorrência da presença desses patógenos e/ou de seus metabólitos, nos substratos mencionados.

O grupo dos coliformes constitui o indicador de contaminação fecal mais freqüentemente utilizado, sendo empregado, há mais de cem anos, como parâmetro bacteriano, na definição de padrões para a caracterização e avaliação da qualidade de águas e alimentos. Esse grupo inclui bactérias de origem unicamente fecal e bactérias que, além de habitarem o trato intestinal de animais de sangue quente, habitam também outros ambientes, como vegetais e solo. (HAGLER; HAGLER, 1988; LANDGRAF, 1996). A importância da utilização desse parâmetro microbiológico é a possibilidade da avaliação higiênico-sanitária de água e alimentos.

Laboratorialmente, o grupo dos coliformes é dividido em coliformes totais e fecais ou termo-tolerantes. A presença de coliformes totais em água e alimentos, em alguns casos, pode não ser indicativa de contaminação fecal, porque participam desse grupo bactérias cuja origem direta não é exclusivamente entérica. Esse fato decorre da capacidade de colonização ambiental desses microrganismos, em especial, do solo. Sendo assim, a presença de coliformes totais nesses materiais pode, também, estar relacionada a práticas inadequadas de sanitização e processamento desses produtos, ou mesmo à sua recontaminação, após esses procedimentos. Essa desvantagem não seria apresentada pelos coliformes fecais, devido à sua baixa capacidade de colonização ambiental, sendo sua presença em alimentos de grande importância sanitária, pois seria indicativa da possibilidade de contaminação fecal. (LANDGRAF, 1996)

O fornecimento de um alimento seguro ao consumidor envolve o conhecimento e uso de manipulação adequada, seguindo os princípios de Boas Práticas de Fabricação (BPF). As BPFs englobam os princípios e procedimentos fundamentais necessários à produção de alimentos com qualidade desejável. É importante se utilizarem práticas de higiene, em que medidas sanitárias devem ser seguidas e mantidas pelos estabelecimentos, as quais devem ser sempre aplicadas e registradas, sendo pré-requisitos para outros sistemas, em especial, a análise de perigos e pontos críticos de controle, o APPCC. (LEVINGER, 2005)

A população de consumidores é bastante diversificada, apresentando vários graus de sensibilidade e estilos de vida. Alimentos com conservantes são, algumas vezes, indesejáveis ao consumidor, que prefere alimentos frescos e minimamente processados, mas que, ao mesmo tempo, tenham garantia de segurança no consumo.

Sabe-se que um risco zero é impraticável, devendo-se assegurar que o produto tenha condições higiênico-sanitárias adequadas, do ponto de vista da Saúde Pública.

## **Conclusões**

Os alimentos são expostos a mudanças de condições durante várias fases, como plantação, colheita, abate, beneficiamento, preparação e distribuição. Essas etapas são importantes, pois podem amplificar o potencial de contaminação microbiana. A prevenção de doenças veiculadas por alimentos, através de instituição de medidas preventivas eficazes e de treinamento, aliada à implantação de boas práticas de higiene, desde o campo até o consumidor final, irá contribuir para a minimização de contaminação e/ou crescimento bacteriano indesejado em produtos alimentícios.

Uma das maneiras de se conseguir um resultado microbiologicamente satisfatório, aliado à prevenção de doenças veiculadas por alimentos, é o uso de organismos indicadores de condições higiênico-sanitárias. A detecção precoce de organismos indicadores em determinados limites em alimentos pode gerar medidas cabíveis. Neste campo, o grupo dos coliformes é utilizado com resultados satisfatórios em água e alimentos.

## **Referências**

APHA. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 20 ed. Baltimore, Maryland: American Public Health Association (APHA), American Water Works Association (AWWA), Water Environment Federation (WEF), 1998.

FINLAY, B. B.; FALKOW, S. Commons themes in microbial pathogenicity revisited. **Microbiology Molecular Biology Reviews**, v. 61, p.139-169, 1997.

GOMES, T. A. T, et al. Enteropathogens associated with acute diarrhoeal disease in urban infants in São Paulo, Brazil. **Journal of Infectious Diseases**, v. 164, p.331-337, 1991.

HAGLER, A. N.; HAGLER, L. C. S. M. Microbiologia sanitária. In: ROITMAN I.; Travassos L.R.; Azevedo, J.L. (ed). **Tratado de microbiologia**. São Paulo: Manole, 1988. cap. 8, p. 83-102.

HART, C. A.; WINSTANLEY, C. What makes a pathogen? **Microbiology Today**, v. 28, p. 4-6, 2001.

KOSEK, M.; BERN, C.; GUERRANT, R. L. The magnitude of global burden of diarrhoeal disease from studies published 1992-2000. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 81, p.197-204, 2003.

KNUTTON, S. *et al.* Adhesion of enteropathogenic *Escherichia coli* to human intestinal enterocytes and cultured human intestinal mucosa. **Infection and Immunity**, v. 55, p.69-77, 1987.

LANDGRAF, M. Microrganismos Indicadores. In: FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**, São Paulo: Atheneu, 1996. cap. 3, p. 27-31.

LEVINGER, B. School feeding, school reform, and food security: connecting the dots. **Food Nutrition Bulletin**, v.26, p.170-178, 2005.

LEVINE, M. M. *Escherichia coli* that cause diarrhea: enterotoxigenic, enteropathogenic, enteroinvasive, enterohemorrhagic, and enteroadherent. **Journal of Infectious Diseases**, v. 155, p. 377-389, 1987.

LIMA, A. W. O.; SOUSA, C. P. Infecções e intoxicações alimentares. In: **Aspectos da ciência e tecnologia de alimentos**. 1 ed. João Pessoa, PB: Nova Idéia, 2002, v. 1, p. 175-199.

MENARD, L. P. *et al.* Expression, purification and biochemical characterization of enteroaggregative *Escherichia coli* heat-stable enterotoxin 1. **Protein Expression and Purification**, v. 33, p. 223-231, 2004.

NATARO J. P.; KAPER, J. Diarrheagenic *Escherichia coli*. **Clinical Microbiology Reviews**, v.11, p. 142-201, 1998.

SCOTLAND, S. M. *et al.* *Escherichia coli* O128 strains from infants with diarrhea commonly show localized adhesion and positivity in the fluorescent actin staining test but do not hybridize with an enteropathogenic *Escherichia coli* adherence factor probe. **Infection and Immunity**, v. 59, p. 1569-1571, 1999.

SOUSA C. P.; DUBREUIL, J. D. Distribution and expression of the *astA* gene (EAST1 toxin) in *Escherichia coli* and *Salmonella*. **International Journal of Medical Microbiology**, v. 291, p.15-20, 2001.

SOUSA, C. P. Pathogenicity mechanisms of prokaryotic cells: an evolutionary view. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v.7, p. 23-31, 2003.

SOUSA, C. P. The strategies of *Escherichia coli* pathotypes and health surveillance. **Brazilian Journal of Health Surveillance**, v. 1, n. 1, p. 65-70, 2005.

SOUZA, E. L. *et al.* Bacteriocins: molecules of fundamental impact on the microbial ecology and potential food biopreservatives. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 48, n. 4, p. 559-566, 2005.

TRABULSI L. R. *et al.* Typical and atypical enteropathogenic *Escherichia coli*. **Emerging Infectious Diseases**, v. 8, p. 508-513, 2002.

Submissão: Janeiro 2006

Aprovação: Março 2006