

Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”
Campus Botucatu

Aluno: Paulo Eduardo Budri

Orientadora: Prof.^a Dra. Vera Lúcia Mores Rall

Qualidade higiênico-sanitária e pesquisa de *Trypanosoma cruzi*
em caldo de cana (garapa), consumido
no estado de São Paulo

Botucatu –SP
2011

Paulo Eduardo Budri

Qualidade higiênico-sanitária e pesquisa de *Trypanosoma cruzi*
em caldo de cana (garapa), consumido
no estado de São Paulo

Monografia apresentada ao Departamento de Microbiologia/Imunologia do
Instituto de Biociências – UNESP, Campus de Botucatu, para a obtenção do
título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientadora: Prof^a. Dra. Vera Lúcia Mores Rall

BOTUCATU – SP

2011

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: *ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE*

Budri, Paulo Eduardo.

Identificação de patógenos e qualidade higiênico-sanitária do caldo de cana (garapa), consumido no interior do estado de São Paulo / Paulo Eduardo Budri.
– Botucatu [s. n.], 2011

Trabalho de conclusão de curso (bacharelado - Ciências Biológicas) -
Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Botucatu
Orientador: Vera Lúcia Mores Rall
Capes: 21201005

1. Alimentos - Microbiologia. 2. Cana-de-açúcar – Derivados. 3. Garapa –
Vigilância sanitária. 4. São Paulo (Estado)

Palavras-chave: Caldo de cana; Higiênico-sanitário; Parasitológico.

Este trabalho de conclusão de curso está apresentado na forma de um artigo científico, redigido segundo as normas da revista “Higiene Alimentar”.

Qualidade higiênico-sanitária e pesquisa de *Trypanosoma cruzi* em caldo de cana (garapa), consumido no estado de São Paulo

Hygienic sanitary quality and *Trypanosoma cruzi* in sugarcane juice consumed in São Paulo state.

Budri, P. E.^{1*}, Rall, V.L.M.¹

¹ Departamento de Microbiologia e Imunologia, Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, caixa posta 510, cep 18618-970, Botucatu, São Paulo.

*paulinhosbudri@gmail.com

Resumo

O estado de São Paulo é o maior produtor de cana de açúcar do Brasil, com aproximadamente 346 milhões de toneladas na safra de 2008/2009. Essa grande produção, associada ao clima quente, favorece o comércio de caldo de cana na grande maioria das cidades do interior do estado. A contaminação por parasitas geralmente ocorre durante sua produção no campo e a por bactérias patogênicas está mais relacionada à contaminação pelos manipuladores, equipamentos (moedores) e utensílios utilizados na extração do líquido. Tendo em vista a falta de dados em Botucatu e região, o objetivo do presente estudo foi analisar 50 amostras de garapa, quanto às exigências microbiológicas da RDC Nº12 (determinação do Número Mais Provável de coliformes termotolerantes e pesquisa da presença de *Samonella sp*), além da presença de *Staphylococcus aureus* e *Trypanosoma cruzi*. *Samonella sp.*, *Staphylococcus aureus* e *Trypanosoma cruzi* não foram isolados, entretanto, 82% das amostras apresentaram contaminação superior à permitida pela legislação de coliformes termotolerantes, demonstrando condições inadequadas para a comercialização desse produto e também a falta de higiene por parte dos vendedores.

Palavras-chave: Caldo de cana, Coliformes termotolerantes, condições higiênico-sanitária

Abstract

The state of São Paulo is the largest producer of cane sugar in Brazil, with approximately 346 million tons in 2008/2009. This great production, associated with hot weather favors trade in sugar cane juice in most cities in the state. Contamination by parasites usually occurs during production but the contamination

by bacteria is related with foodhandlers, equipment (grinders) and utensils used in the extraction. Due the lack of data in Botucatu and region, the objective of this study was to analyze 50 samples of syrup, according to the microbiological requirements of RDC Nº 12 (determination of Most Probable Number of thermotolerant coliform and the presence of *Salmonella* sp) as well the presence of *Staphylococcus aureus* and *Trypanosoma cruzi*. *Salmonella* sp., *Staphylococcus aureus* and *Trypanosoma cruzi* were not found, however 82% of the samples presented a higher contamination by thermotolerant coliform than that allowed by microbiological parameters, demonstrating inadequate conditions for retail, besides the lack of hygienic instructions of the sellers.

Keywords: Cane Juice, Coliforms, hygienic

1. INTRODUÇÃO

A cana de açúcar (*Saccharum sp*) pertence a família Gramineae (Poaceae) e tem sido intensivamente cultivada em diversas regiões tropicais do Brasil, devido a sua importância sócio-econômica (SILVA & FARIA, 2006). Essa gramínea apresenta capacidade única de armazenar sacarose em seus entrenós (FELIX, 2006) e essa característica permite que seus subprodutos sejam explorados por diversos setores da economia, como produção de açúcar, álcool combustível, cachaça e alimentação animal (variedades forrageiras). Ainda pode ser utilizada na produção de garapa (ou caldo de cana), consumida imediatamente após a moagem em moedores elétricos ou manuais (SILVA & FARIA, 2006).

Segundo dados da União da Indústria de Cana de Açúcar (UNICA), o estado de São Paulo é o maior produtor de cana de açúcar do Brasil, com aproximadamente 346 milhões de toneladas na safra de 2008/2009. Essa grande produção, associada ao clima quente, favorece o comércio de garapa na grande maioria das cidades do interior do estado. A garapa é um produto altamente calórico, apresentando 65 kcal e 18,2 gramas de carboidratos a cada 100 ml (Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação – NEPA. Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP), também é uma bebida de baixo custo e considerada saborosa e muito agradável ao paladar (YUSOF et al. 2000).

Entretanto, como qualquer outro alimento consumido *in natura*, pode estar contaminada com micro-organismos ou parasitas prejudiciais à saúde. De acordo com Kitoko et al (2004), a partir do caldo extraído da cana-de-açúcar, os micro-organismos podem ser provenientes principalmente do manipulador e dos equipamentos (moedores) e utensílios utilizados na extração do líquido. A grande maioria dos comerciantes desse produto não está instalada em locais com sistema de abastecimento de água tratada, o que dificulta a higienização adequada dos equipamentos utilizados no preparo e a lavagem das mãos (RODRIGUES et. al. 2003). Outro agravante é a falta de instrução dos vendedores sobre a melhor forma de preparação, em condições higiênico-sanitárias adequadas (SOCCOL et. al. 1990).

As condições inadequadas de preparação desses alimentos vendidos por ambulantes podem representar risco à saúde pública, pois segundo Rodrigues (2003), esse produto pode sofrer facilmente contaminações por micro-organismos

patogênicos. Entretanto, o caldo de cana apresenta algumas características físico-químicas que impedem que vários micro-organismos se desenvolvam adequadamente. Dentre essas características, estão o teor de sólidos solúveis, a baixa atividade de água e o pH. Por outro lado, segundo Silva et al. (1990), é um meio extremamente rico para o desenvolvimento de um grande número de micro-organismos.

1.1. Qualidade Higiênico-Sanitária

Para identificar as condições higiênico-sanitárias da garapa comercializada no estado de São Paulo são comumente usados os indicadores microbiológicos. Os coliformes termotolerantes indicam a qualidade higiênico-sanitária do alimento, com a possível presença de patógenos. Os coliformes totais são indicadores higiênicos e não apresentam correlação direta com a presença de patógenos, mas indicam as condições higiênicas dos equipamentos, utensílios e dos manipuladores durante o processamento (LANDGRAF, 2004).

Os coliformes são bastonetes gram-negativos não esporogênicos, aeróbios ou anaeróbios facultativos, capazes de fermentar a lactose com produção de gás, a 35°C/48h (coliformes totais) ou a 45°C/24h (coliformes termotolerantes), incluindo várias bactérias originárias do trato gastrointestinal e diversos gêneros e espécies de bactérias não entéricas (SILVA; JUNQUEIRA, 1995).

1.2 *Salmonella* sp

Baseado na Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº12 (BRASIL, 2001), lei atual que define padrões microbiológicos para os alimentos, a garapa é classificada como suco *in natura* e sua qualidade microbiológica pode ser avaliada através da determinação de coliformes à 45°C ou termotolerantes e a pesquisa de *Salmonella* sp.

Segundo Gonçalves (1998), as bactérias do gênero *Salmonella* sp são os principais agentes infecciosos frequentemente envolvidos em casos e surtos de doenças de origem alimentar em diversos países, inclusive o Brasil. Alguns estudos

com garapa demonstraram ausência de *Salmonella* sp nas amostras analisadas (KITOKO et al, 2004; LOPES et al, 2006). Entretanto, Nascimento et al (2004) encontraram uma contaminação por esse micro-organismo de 20%, num total de 30 amostras. Segundo os autores, no decorrer dos anos, o número de incidentes protagonizados por *Salmonella*, veiculadas por garapa, vem aumentando.

1.3 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus é uma das bactérias mais importantes em casos de intoxicação alimentar (STAMFORD et al., 2006). Bactérias desse gênero são cocos gram-positivos, pertencentes à família Staphylococaceae. A espécie *S. aureus* está intimamente ligada às doenças estafilocócicas, sendo de grande interesse para os estudos de microbiologia de alimentos. Essas bactérias causam doenças, principalmente em épocas quentes (FRANCO; LANDGRAF, 2004). Os principais sintomas desta intoxicação são vômitos e diarreia, podendo ocorrer também náuseas, cólicas abdominais e sudorese. Estes sintomas apresentam curta duração, variam com o grau de susceptibilidade do indivíduo, com a concentração da enterotoxina no alimento e a quantidade ingerida. No caso de *S. aureus*, são necessárias, aproximadamente, 10^5 UFC/g de alimento para que a toxina seja produzida numa quantidade suficiente para provocar a intoxicação. O período de incubação da doença pode variar de 30 minutos até 8 horas, porém, na maioria dos casos, os sintomas aparecem entre 2 a 4 horas após a ingestão do alimento contaminado (JABLONSKY & BOHACH, 1997). Em humanos, as intoxicações são causadas, principalmente, pela ingestão de enterotoxinas clássicas (A, B, C1, C2, C3, D, E) produzidas nos alimentos, por algumas linhagens de *S. aureus*.

A contaminação por *S. aureus* toxigênicos em alimentos prontos para o consumo é uma questão de saúde pública, no mundo todo (HUONG et al., 2010). Segundo Jay (2002), uma refrigeração inadequada, o preparo de alimentos com muita antecedência, a falta de higiene pessoal e a cocção ou aquecimento insuficiente do alimento favorecem a ocorrência de surtos de toxinfecção alimentar. No caso da garapa os grandes problemas na comercialização é não haver disponibilidade de água corrente para a lavagem de utensílios e a higiene das mãos, além da exposição da matéria prima.

1.4 *Trypanosoma cruzi*

O *Trypanosoma cruzi* é um protozoário pertencente à classe *Mastigophora*, ordem *Kinetoplastida* e família *Trypanosomatidae*, sendo causador de enfermidade de alta prevalência e de significativa morbidade na América Latina, conhecida como Mal de Chagas, sendo considerada uma das doenças infecto-parasitárias de maior impacto no continente e atingindo, aproximadamente, seis milhões de pessoas. No Brasil, ocorre em 36% do território nacional, envolvendo mais de 2.450 municípios, desde o Maranhão ao Rio Grande do Sul. Estima-se a existência de dois a três milhões de infectados, dos quais aproximadamente 60% estariam vivendo em áreas urbanas (BATISTA et al, 2008).

Desde 1987, sabe-se que o *Trypanosoma cruzi* pode permanecer infeccioso por 24 horas no caldo de cana (SOARES et. al. 1987). Mas somente a partir da década de 90, foram evidenciados, inclusive pela mídia nacional, vários casos de contaminações por *Trypanosoma cruzi* através da ingestão de caldo de cana, como o ocorrido em Catolé do Rocha (PB), em 1991, quando foram descritos 26 casos agudos, provocados por caldo de cana infectado (SHIKANAI-YASUDA, 1991). Em Navegantes, Santa Catarina, Ianni & Mandy (2005) relataram surto onde 25 pessoas foram contaminadas após ingestão de caldo de cana, com cinco óbitos. A falta de condições higiênico-sanitárias mínimas era evidente, além da observação de dez vetores infectados próximo ao quiosque de venda de caldo de cana. Alimentos *in natura* comercializados por ambulantes em péssimas condições higiênico-sanitárias podem provocar perigo para a saúde pública, nas mais diversas regiões do país (LUCCA, 2000). Juntamente a isso, em épocas de calor intenso, vendedores ambulantes chegam a vender até 400 copos de caldo de cana, fato que pode proporcionar grandes surtos (FOLHA DE SÃO PAULO, 2005).

Assim, os objetivos do trabalho foram a pesquisa de *Trypanosoma cruzi* e a análise das condições higiênico-sanitárias, pela pesquisa do número mais provável de coliformes termotolerantes, de *Salmonella* e de *S. aureus*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Obtenção das amostras para análises

Foram coletadas 50 amostras de caldo de cana proveniente de vendedores ambulantes de seis cidades do interior do estado de São Paulo. As amostras foram mantidas sob refrigeração, em caixa isotérmica contendo gelo reciclável, até o momento do processamento em laboratório.

2.2. Análises microbiológicas

2.2.1 Preparo das amostras e suas diluições:

Para a análise, 25 gramas da amostra foram pesados e homogeneizados em 225 ml de água tamponada esterilizada, em sacos plásticos apropriados, que foram levados ao Stomacher Lab Blender 400 por trinta segundos. A partir desta diluição inicial de 10^{-1} , foi preparada uma série de diluições decimais, utilizando-se salina.

2.2.2. Determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes termotolerantes (KORNACKI & JOHNSON, 2001)

Cada diluição da amostra foi inoculada em volumes de 1 mL, em cada série de três tubos por diluição, contendo 10 mL de caldo lauril sulfato com um tubo de Durham invertido. Os tubos foram incubados a 35°C por 24-48 horas. Os inóculos positivos revelaram-se pela observação da produção de gás no tubo de Durham. A seguir, três alçadas de cada tubo positivo foram repicadas em tubos de ensaio com 5 mL de caldo EC para a confirmação de coliformes termotolerantes (CT). Todos os tubos de EC continham tubos de Durham invertidos. O caldo EC foi inoculado a 45°C por 24 horas. Após o período de incubação, a leitura foi realizada pela observação da presença de gás no tubo de Durham invertido. A seguir, utilizando-se a tabela do NMP, foram calculados os NMP de CT por grama de amostra analisada.

2.2.3. Enumeração de estafilococos coagulase positiva (LANCETTE & BENNETT, 2001)

Para a enumeração dos estafilococos, foi utilizado o método da semeadura em superfície, onde 0,1 mL das diversas diluições da amostra foram depositados em placas de Petri com ágar Baird-Parker suplementado com telurito de potássio e solução de gema de ovo e o inóculo foram espalhados com o auxílio de um bastão de vidro em L. Após a incubação a 35°C por 48 horas, foi realizada a contagem de colônias na placa. As colônias suspeitas de estafilococos coagulase positiva apresentaram cor negra, com ou sem halo e um máximo de cinco colônias foram isoladas e repicadas para tubos com TSA inclinado, que foram incubados por 24 horas a 35°C. Foi realizado o teste da produção de catalase e coloração pelo método de Gram. Após estes testes iniciais, realizamos o teste da coagulase em tubo e termonuclease.

2.2.4. Detecção da presença de *Salmonella* (ANDREWS et al, 2001)

Para a detecção da presença de *Salmonella*, 25 gramas da amostra do líquido foi homogeneizados em 225 mL de água peptonada tamponada, em um saco plástico no "Stomacher" durante dois minutos. Após esse período, o homogeneizado foi transferido a um Erlenmeyer e incubado a 35°C por 24 horas. A seguir, semeamos 1 mL em um tubo de ensaio contendo 10 mL de caldo tetrationato ao qual foi adicionado um volume de 0,2 mL de iodeto de potássio imediatamente antes do uso. O tubo foi incubado a 35°C por 24 horas. Outra alíquota de 0,1 mL foi transferida para um tubo com 10 mL de caldo Rappaport-Vassiliadis e foi incubado a 42°C por 24 horas. Após este período, uma alçada de cada tubo foi semeada em placas de Petri contendo ágar xilose-lisina-desoxicolato (XLD) e placas contendo ágar *Salmonella-Shigella*. Após incubação de 24 horas a 35°C, as colônias características de *Salmonella* foram isoladas e repicadas para tubos de ensaio contendo ágar tripticase soja inclinado (TSA), sendo consideradas as cepas estoque. Os tubos incubados a 35°C por 24 horas. A partir desse crescimento foram feitos repiques em tubos de ensaio contendo ágar tríplice açúcar ferro inclinado (TSI) e em tubos com ágar fenilalanina inclinado. Os tubos foram incubados a 35°C por 18-24 horas. As cepas que apresentaram características esperadas nesses 2 testes,

foram submetida ao sistema API-20E (Biomérieux), que apresenta 20 provas bioquímicas para enterobactérias.

2.3. Pesquisas de *Trypanosoma cruzi*.

Para a pesquisa do parasita, 2,0 ml do caldo de cana foram centrifugados a 1500 rpm/3 minutos. O sobrenadante foi desprezado e realizado um esfregaço em lâmina com 10ul do sedimento, fixado em metanol por 3 minutos e corado com Giemsa por 30 minutos (PINTO et al., 1990). As observações foram feitas em microscópio óptico, com o auxílio do Prof. Dr. Reinaldo José Da Silva, Professor Adjunto do Departamento de Parasitologia, do Instituto de Biociências.

3. RESULTADOS

Dentre as 50 amostras analisadas, provenientes de 6 cidades diferentes, todas apresentaram negatividade para a enumeração de *Staphylococcus* coagulase positiva e para a presença de *Salmonella*.

Por outro lado, 82% das amostras apresentaram excesso de coliformes termotolerantes, seguindo-se os parâmetros da ANVISA (2001). Essa porcentagem foi ainda maior se considerada somente as amostras coletadas na cidade de Botucatu, pois das 38 amostras analisadas, 86% apresentaram esse indicador em contagens superiores a 10^2 /mL.

Pela Tabela 1, pode-se observar as informações em relação à cidade de origem, período, além dos resultados das análises microbiológicas, das 50 amostras de garapa.

Tabela 1. Qualidade higiênico-sanitária de caldo de cana, na data de coleta, nas cidades do interior Paulista (continua)

	Cidade	Data	<i>S. aureus</i>	<i>Salmonella</i> sp.	CT NMP/g
Amostra 1	Botucatu	14/03/2001	< 100	Ausência	$2,3 \times 10^4$
Amostra 2	Botucatu	14/03/2001	< 100	Ausência	$1,1 \times 10^6$
Amostra 3	Botucatu	14/03/2001	< 100	Ausência	93
Amostra 4	Botucatu	21/03/2011	< 100	Ausência	$>1,1 \times 10^6$
Amostra 5	Botucatu	21/03/2011	< 100	Ausência	$>1,1 \times 10^6$
Amostra 6	Botucatu	25/04/2011	< 100	Ausência	$2,3 \times 10^4$
Amostra 7	Botucatu	02/05/2011	< 100	Ausência	$2,3 \times 10^4$
Amostra 8	Botucatu	02/05/2011	< 100	Ausência	$1,1 \times 10^6$
Amostra 9	Botucatu	02/05/2011	< 100	Ausência	93
Amostra 10	Botucatu	08/05/2011	< 100	Ausência	$4,3 \times 10^4$
Amostra 11	Botucatu	15/05/2011	< 100	Ausência	$9,3 \times 10^4$
Amostra 12	Botucatu	15/05/2011	< 100	Ausência	43
Amostra 13	Botucatu	15/05/2011	< 100	Ausência	$4,3 \times 10^4$
Amostra 14	Botucatu	23/05/2011	< 100	Ausência	23
Amostra 15	Botucatu	07/06/2011	< 100	Ausência	$1,1 \times 10^6$
Amostra 16	Botucatu	07/06/2011	< 100	Ausência	$2,3 \times 10^4$
Amostra 17	Botucatu	01/07/2011	< 100	Ausência	$>1,1 \times 10^6$
Amostra 18	Botucatu	01/07/2011	< 100	Ausência	$>1,1 \times 10^6$
Amostra 19	Botucatu	01/07/2011	< 100	Ausência	$2,4 \times 10^5$
Amostra 20	Botucatu	01/07/2011	< 100	Ausência	$4,3 \times 10^4$
Amostra 21	Botucatu	08/08/2011	< 100	Ausência	$2,3 \times 10^4$
Amostra 22	Botucatu	08/08/2011	< 100	Ausência	$2,3 \times 10^4$
Amostra 23	Botucatu	08/08/2011	< 100	Ausência	$2,4 \times 10^5$
Amostra 24	Botucatu	08/08/2011	< 100	Ausência	23
Amostra 25	Botucatu	29/08/2011	< 100	Ausência	$2,3 \times 10^4$
Amostra 26	Botucatu	29/08/2011	< 100	Ausência	$4,3 \times 10^4$
Amostra 27	Botucatu	29/08/2011	< 100	Ausência	$2,3 \times 10^4$
Amostra 28	Botucatu	12/09/2011	< 100	Ausência	23
Amostra 29	Botucatu	12/09/2011	< 100	Ausência	$2,3 \times 10^4$
Amostra 30	Botucatu	12/09/2011	< 100	Ausência	$2,3 \times 10^4$
Amostra 31	Botucatu	19/09/2011	< 100	Ausência	$2,4 \times 10^5$
Amostra 32	Botucatu	19/09/2011	< 100	Ausência	$2,4 \times 10^5$
Amostra 33	Botucatu	03/10/2011	< 100	Ausência	$2,4 \times 10^5$
Amostra 34	Botucatu	03/10/2011	< 100	Ausência	$>1,1 \times 10^6$
Amostra 35	Botucatu	03/10/2011	< 100	Ausência	$>1,1 \times 10^6$
Amostra 36	Botucatu	24/10/2011	< 100	Ausência	$4,3 \times 10^4$
Amostra 37	Botucatu	24/10/2011	< 100	Ausência	$2,4 \times 10^5$

NMP: Número mais provável; CT: Coliforme Termotolerante

Tabela 2. Qualidade higiênico-sanitária de caldo de cana, na data de coleta, nas cidades do interior Paulista (continuação)

	Cidade	Data	<i>S. aureus</i>	<i>Salmonella</i> sp.	CT NMP/g
Amostra 38	Botucatu-SP	24/10/2011	< 100	Ausência	2,4 x 10 ⁵
Amostra 39	São João da B. Vista	21/03/2011	< 100	Ausência	2,3 x 10 ⁴
Amostra 40	São João da B. Vista	08/05/2011	< 100	Ausência	1,1 x 10 ⁶
Amostra 41	São João da B. Vista	08/05/2011	< 100	Ausência	23
Amostra 42	São João da B. Vista	23/05/2011	< 100	Ausência	2,3 x 10 ⁴
Amostra 43	Águas da Prata	11/04/2011	< 100	Ausência	2,4 x 10 ⁵
Amostra 44	Águas da Prata	11/04/2011	< 100	Ausência	4,6 x 10 ⁵
Amostra 45	Águas da Prata	23/05/2011	< 100	Ausência	93
Amostra 46	São Paulo	23/05/2011	< 100	Ausência	1,1 x 10 ⁶
Amostra 47	São Paulo	23/05/2011	< 100	Ausência	4,6 x 10 ⁵
Amostra 48	Avaré	30/05/2011	< 100	Ausência	23
Amostra 49	Avaré	30/05/2011	< 100	Ausência	2,3 x 10 ⁴
Amostra 50	Penápolis	25/04/2011	< 100	Ausência	2,3 x 10 ⁴

NMP: Número mais provável; CT: Coliforme Termotolerante

4. DISCUSSÃO

De acordo com a Resolução da Diretoria Colegiada RDC nº12 (BRASIL, 2001), a atual lei que define padrões microbiológicos para análises de alimento, o caldo-de-cana é classificado como suco *in natura*, que pode apresentar até 10²/mL de coliformes à 45°C (ou termotolerantes), na ausência de *Salmonella* em 25 mL.

Entre as 50 amostras analisadas, 82% apresentaram contagens de CT acima do padrão permitido pela legislação. Esse dado corrobora com Soccol (1990), pelo qual, 72% das amostras apresentaram excesso de coliformes termotolerantes, na cidade de Curitiba. Entretanto, essa pesquisa remete a legislação vigente na época que estabelecia um limite máximo de coliformes fecais de 10/mL (NMP/ml). Em uma pesquisa mais atual Kitoko (2004), observou que em Vitória (ES), 96% das amostras também estavam em desacordo com a legislação vigente nos dias de hoje.

Resultados menores foram observados por Lopes et al (2006), que analisaram o caldo de cana vendido na cidade de Curitiba e encontraram apenas uma amostra, entre 30 analisadas, fora das especificações legais. Esse fato, segundo o autor, poderia estar relacionado com o clima frio do momento das coletas, que ocorreram

no mês de agosto (estação de inverno), com o predomínio de temperaturas baixas, não favoráveis à multiplicação dos micro-organismos.

Em relação à *Salmonella* sp, a ausência nas 50 amostras nesse trabalho corroboram com outros trabalhos. Kitoko et. al. (2004), Lopes et. al. (2006), e Hoffmann et. al. (2006) também não detectaram a presença dessa bactéria. Por outro lado, Nascimento et. al. (2006) encontraram *Salmonella* sp em 20% das 30 amostras analisadas na cidade de São Luis/MA. Mesmo na ausência desse patógeno, nas amostras analisadas por esse trabalho, a atenção sobre esse agente deve continuar, pois segundo Nascimento et. al. (2006), a incidência de *Salmonella* vem aumentando nos últimos anos nesse tipo de alimento. Além disso, a presença de coliformes termotolerantes indica contaminação de origem fecal e esse agente é veiculado por fezes.

Staphylococcus aureus também não foi detectado em nenhuma das amostras analisadas nesse trabalho, ao contrário de França et al (2005), que observou uma amostra positiva em 30 (3,3%), com contagem de $1,2 \times 10^2$ UFC/mL. Segundo os autores, os manipuladores não apresentavam vestimentas adequadas, utilizando apenas batas sujas e em péssimo estado de conservação. A maioria também apresentava as mãos mal higienizadas.

Não foi encontrada nenhuma amostra de caldo de cana contaminada com *Trypanosoma cruzi*. Segundo a bibliografia consultada, a pesquisa desse parasita não tem sido realizada ultimamente. Entretanto recentemente foram noticiados diversos casos de pessoas que se contaminaram com esse protozoário devido à ingestão de alimentos crus. Em agosto desse ano, a Secretaria Municipal de Saúde (Sesma) de Belém - PA informou que foram confirmados 39 casos de doença de Chagas e duas mortes na capital paraense desde janeiro, devido a ingestão de açaí. (www.g1.com.br).

5. CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos, pode-se concluir que é necessária uma maior fiscalização no comércio desse tipo de alimento. As inadequadas condições de armazenamento da matéria-prima e de higiene durante a manipulação são as principais fontes de contaminação, sendo necessário, por isso, um trabalho educativo, que conscientize os comerciantes sobre o problema da higiene e sanidade dos alimentos, os riscos para o consumidor e as consequências sociais envolvidas.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDREWS, W.H.; FLOWERS, J.S.; BAILEY, J.S. *Salmonella*. In: Compendium of methods for the microbiological examination of foods. DOWNES, F.P.; ITO, K. **American Public Health Association**. Washington, 4th edition, p.357-380, 2001.

FELIX J. M., Análise da expressão gênica envolvida no metabolismo de sacarose em cana-de-açúcar (*Saccharum spp*)” São Paulo: UNICAMP, 2006. 162 p. Tese (Doutorado), Genética e Biologia Molecular, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2006.

TORTATO, Mari. SURTO NO SUL. Santa Catarina ainda procura transmissor do mal de Chagas **Folha de S.Paulo** 25/03/2005 Capa/São Paulo AGÊNCIA FOLHA, EM FLORIANÓPOLIS E NAVEGANTES.

FRANÇA, A.F.; Avaliação da Qualidade Microbiológica do Caldo de Cana Comercializado na Área de Abrangência do Distrito Sanitário 5. Recife: UFRPE 2005,53p.

FRANCO, B.D.G.M., LANDGRAF, M. Microrganismos Patogênicos de Importância em Alimentos. In: **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo. Atheneu, 2004. p.33-81.

GONÇALVES, P.M.R. Toxinfecções Alimentares: uma revisão. **Revista Higiene Alimentar**, v.12, n.53, p.38-44, 1998.

G1, Belém fecha pontos de venda de açaí por risco da Doença de Chagas. **Site Globo.com**, disponível em: <http://g1.globo.com/brasil/noticia/2011/10/belem-fecha-pontos-de-venda-de-acai-por-risco-da-doenca-de-chagas.html>.

HOFFMANN, P., et al. Qualidade microbiológica do caldo de cana comercializados no município de São José do Rio Preto, SP. **Higiene Alimentar**, v.20, n.143, agosto 2006, p.79-83.

HUONG, B. T. M. et al., Toxigenicity and genetic diversity of *Staphylococcus aureus* isolated from Vietnamese ready-to-eat foods. **Food Control**, v. 21, p. 166-171, 2010.

IANNI B. M.; MADY C. Como era gostoso o meu caldo de cana. **Arq. Bras. Cardiol.**, v. 85, n 6, p. 379-381, 2005.

JABLONSKY, J.M.; BOHACH G.A. *Staphylococcus aureus*. In: DOYLE M.H.; BEUCHAT L.R; MONTVTLLE T. J. **Food microbiology. Fundamentals and frontiers**. Washington D.C.: ASM, 1997. Cap.19, p.353-375.

JAY, J.M. **Microbiologia Moderna de Los Alimentos**. ZARAGOZA: ACRIBIA, 2002.615p.

KITOKO, P.M. et al. Avaliação Microbiológica do Caldo de Cana Comercializado em Vitória, Espírito Santo, Brasil. **Higiene Alimentar**, v.18, n.119, p.73-77, 2004.

KORNACKI, J.L.& JOHNSON, J.L. *Enterobacteriaceae*, coliforms, and *Escherichia coli* as quality and safety indicators. In:Compendium of methods for the microbiological examination of foods. DOWNES, F.P.; ITO, K. **American Public Health Association**, Washington, 4th edition , p.69-82, 2001.

LANCETTE, G.A.& BENNETT, R.W. *Staphylococcus aureus* and Staphylococcal enterotoxins. In:Compendium of methods for the microbiological examination of foods. DOWNES, F.P.; ITO, K. **American Public Health Association Washington**, 4th edition , p.387-403, 2001.

LANDGRAF, M. Microrganismos Indicadores. In: **Microbiologia dos Alimentos**. FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. (Org). São Paulo. Editora: Atheneu, 2004. p.27-31.

LOPES, G.; CRESTO, R.; CARRARO, C.N.M. Análise microbiológica de caldos de cana comercializados nas ruas de Curitiba, PR. **Higiene Alimentar**, v.20. n.147, p.40-44, 2006.

LUCCA, A. Cachorro quente comercializado em locais públicos: pontos críticos e características do mercado. São Paulo, 2000. 142p. Exame de qualificação (Mestre em Saúde Pública) – Faculdade de saúde pública, Universidade de são Paulo (USP).

NASCIMENTO, J.P.; GERMANO, P.M.L.; GERMANO, M.I.S. Comércio Ambulante de Alimentos: Avaliação das Condições Higiênico-Sanitárias na Região Central de São Paulo, SP. **Higiene Alimentar**, v.18, n.123, p. 42-48, 2004.

NASCIMENTO, A.R.; MOUCHREK, V.E.; MOUCHREK, J.E., et al Perfil microbiológico do caldo de cana comercializado na cidade de São Luís, MA. **Higiene Alimentar**, v.20, n.141, maio/jun 2006, p.83-86.

PINTO, L.S.; AMATO NETO, V.; NASCIMENTO, S.A.B.; SOUZA, H.B.W.T.; MYAMOTO, A.; MOREIRA, A.A.; BRAZ, L.M.A. Observações sobre a viabilidade do *Trypanosoma cruzi* no caldo de cana. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v.32, n. 5, p. 325-327, 1990.

RODRIGUES K. L., GOMES J. P., CONCEIÇÃO R. C. S., BROD C. S., CARVALHAL J. B., ALEIXO J. A. G.. Condições higiênico-sanitárias no comércio ambulante de alimentos em pelotas-rs. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, v. 23, n. 3, p 447 – 452, 2003.

ROBBINS, R.; GOULD, S., BERGDOLL, M., Detection the enterotoxigenicity of *Staphylococcus aureus* strains. **Appl. Microbiol.**, v.28, p. 946-50, 1974.

SILVA K. S., FARIA J. A. F., avaliação da qualidade de caldo de cana envasado a quente e por sistema asséptico, **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, v.26, n. 4, p. 754-758, 2006.

SILVA, N.; CANHOS, V.P. Caracterização da microbiota bacteriana contaminante do caldo de cana durante a etapa de resfriamento em torre no processo de produção de álcool. **Colet ITAL**, v. 20, n.1, 60-72, 1990.

SILVA, N., JUNQUEIRA, V.C.A. Métodos de análises microbiológicas de alimentos. **Manual Técnico**. n. 67. 14. Campinas: ITAL 1995, p. 228.

SOCCOL, C.R.; SCHWAB, A.; KATAOKA, C.E. Avaliação microbiológica do caldo-de-cana (garapa) na cidade de Curitiba. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, v.8, n. 2, p.116-125, 1990.

SHIKANAI-YASUDA M.A., MARCONDES C.B., GUEDES L.A. et al. Possible oral transmission of acute Chagas' disease in Brazil. **Rev Inst Med Trop São Paulo**, v. 33, p.351-7, 1991.

SIQUEIRA-BATISTA, R.; A. P. Gomes, Monteverde D. T., Martins G. M., Colombo M. M., Messeder J. C., Antonio V. E. Neuroinfecção humana por *Trypanosoma cruzi*, **R. Neurocienc**, v.16, n. 4, 310-315, 2008

STAMFORD, T. L. M. Enterotoxigenicidade de *Staphylococcus spp.* isolados de leite *in natura*. **Ciênc. Tecnol. Aliment.** v 26, n. 1, p 41-45, 2006.

UNIÃO DA INDÚSTRIA DE CANA-DE-AÇÚCAR (UNICA)
[HTTP://WWW.UNICA.COM.BR](http://www.unica.com.br).

YUSOF, S.; SHIAN, L.S.; OSMAN, A. Changes in quality of sugar-cane juice upon delayed extraction and storage. **Food Chemistry**, v.68, p.395-401, 2000.