

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

MARÍLIA DE JESUS FERREIRA

**CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS DO GELO PARA
CONSUMO COMERCIALIZADO NO RECÔNCAVO BAIANO**

**Cruz das Almas – BA
2010**

MARÍLIA DE JESUS FERREIRA

**CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS DO GELO PARA
CONSUMO COMERCIALIZADO NO RECÔNCAVO BAIANO**

Monografia apresentada ao Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, para obtenção do título de bacharel em Biologia.

Orientadora: Profa. Dra. Ludmilla Santana
Soares e Barros

**Cruz das Almas – BA
2010**

F383 Ferreira, Marília de Jesus.

Características microbiológicas do gelo para consumo comercializado no Recôncavo Baiano.
/ Marília de Jesus Ferreira. - Cruz das Almas - Ba, 2010.

45f.; il.

Orientador: Ludmilla Santana Soares e Barros.

Monografia (Graduação) – Universidade Federal do Recôncavo da
Bahia.

Área de Concentração: Biologia.

1. Recursos hídricos – Economia. 2. Microorganismos. I. Universidade Federal do Recôncavo da Bahia,
Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. II. Título.

CDD: 577.6.

MARÍLIA DE JESUS FERREIRA

**CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS DO GELO PARA
CONSUMO COMERCIALIZADO NO RECÔNCAVO BAIANO**

APROVADO E CORRIGIDO DE ACORDO COM AS SUGESTÕES DA BANCA
EXAMINADORA:

Profa. Dra. Ludmilla Santana Soares e Barros

UFRB
(Orientadora)

Profa. Dra. Carla Fernandes Macedo
UFRB

Profa. Dra. Tatiana Pacheco Rodrigues
UFRB

Cruz das Almas, _____ de 2010.

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho principalmente aos meus pais, José e Maria e minha irmã, Lívia pelo constante apoio e incentivo, pela força nos momentos difíceis e comemoração pelas vitórias alcançadas, carinhos fundamentais na minha vida.

Às minhas madrinhas, Risoleta e Maria do Carmo, por todo incentivo, pela ajuda e torcida em todos os momentos.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar a Deus, pelas oportunidades concebidas, por todas as dificuldades superadas e por ter me tornado uma pessoa melhor a cada dia.

À minha orientadora Profa. Dra. Ludmilla Santana Soares e Barros, pela orientação, por toda a atenção e pelos valiosos ensinamentos.

Aos amigos, que encontrei durante esta longa caminhada da minha vida.

E a todos aqueles que contribuíram direta ou indiretamente para o sucesso deste trabalho.

“A trajetória de uma vida é marcada por pessoas, sejam elas amigas ou não, que nas trocas cotidianas, nos conflitos e contradições, constroem o sujeito e seu produto. Nesse momento de conquista, gostaria de agradecer a todos que, conscientes ou não, contribuíram para que esse sonho se concretizasse”.

(Augusto Cury)

Características microbiológicas do gelo para consumo comercializado no Recôncavo Baiano

RESUMO

O gelo é um produto resultante do congelamento da água potável e é comumente utilizado “in natura” em bebidas e na conservação de alimentos. O gelo comercializado para consumo deve ser seguro e possuir a mesma qualidade da água potável, dentro dos padrões exigidos e, por ser considerado um potencial veículo de transmissão de microrganismos patogênicos representa riscos para a saúde dos consumidores. Os objetivos do presente estudo foram: a caracterização da qualidade microbiológica de 29 amostras de gelo embalado para consumo, provenientes de seis cidades do Recôncavo Baiano e avaliação dos potenciais riscos para a saúde, associados ao consumo de gelo contaminado. Os resultados obtidos pelas análises revelaram um índice de contaminação de 93,10%, por coliformes totais e termotolerantes, 37,93% por *Enterococos*, 79,31% por microrganismos mesófilos aeróbios estritos e facultativos viáveis, com valores superiores a $5,0 \times 10^2$ UFC. mL⁻¹ e 37,93% das amostras apresentando embalagens danificadas, expondo o gelo à contaminação do ambiente externo, estando em desacordo com a legislação vigente, conforme a Portaria nº 518 do Ministério da Saúde. Portanto, concluiu-se, que as amostras de gelo analisadas foram consideradas impróprias para consumo humano, constituindo-se, um importante fator de risco à saúde dos consumidores.

Palavras chaves: Gelo, qualidade bacteriológica, microrganismos, doenças, coliformes.

Microbiological characteristic of ice for consumption commercialized in Recôncavo Baiano

ABSTRACT

Ice is a product resulting from the freezing of drinking water, and is commonly used “natural” in drinks and foods conservation. The ice commercialized for human consumption should be safe and possess the same quality as drinking water, within the required standards and, by be considered a potential means of transmission of pathogenic microorganisms represent a risk to consumer health. The objectives of this study were: to characterize the microbiological quality of 29 ice samples packaged for consumption, from six cities in the Recôncavo Baiano, and assessment of potential health risks associated with the consumption of contaminated ice. The results gotten for the analysis had disclosed an index of contamination of 93,10 %, for total coliforms and termotolerants, *Enterococci* by 37,93%, 79,31% for mesophilic microorganisms, with values greater than $5,0 \times 10^2$ UFC. mL⁻¹, and 37,93 % of sample with damaged packaging, exposing the ice to contamination from external environment, in discordance with the current law, Portaria n° 518 of the Health Department. Therefore, one concluded that the analyzed ice samples had been considered improper for human consumption and they constitute an important factor of risk to the health of the consumers.

Keywords: Ice, bacteriological quality, microorganisms, diseases, coliforms.

LISTAS DE TABELAS

- Tabela 1.** Concentrações de *streptococos fecais* (EF), coliformes totais (CT), coliformes termotolerantes (CF) e dos microrganismos mesófilos (MES) das 29 amostras de gelo obtidas de setembro de 2009 a agosto de 2010 15
- Tabela 2.** Distribuição das médias geométricas, expressas em Unidades Formadoras de Colônias (UFC. mL⁻¹), dos microrganismos mesófilos (MES) em 29 amostras de gelo, coletadas entre o período de setembro de 2009 a agosto de 2010 17
- Tabela 3.** Relação das condições apresentadas pelas embalagens das 29 amostras de gelo..... 18

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Distribuição percentual de coliformes totais, termotolerantes e de microrganismos mesófilos aeróbios estritos e facultativos viáveis, em amostras de gelo dentro e fora dos padrões microbiológicos de potabilidade da água de acordo com a Portaria nº 518 de 25/03/2004 16
- Figura 2.** Porcentagens das condições das embalagens das vinte e nove amostras de gelo..... 19

SUMÁRIO

DEDICATÓRIA	iv
AGRADECIMENTOS	v
RESUMO	vi
ABSTRACT	vii
LISTA DE TABELAS	viii
LISTA DE FIGURAS	ix
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
3. MATERIAL E MÉTODOS	10
3.1. Amostragem	10
3.2. Análise microbiológica	10
3.2.1. Determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais e termotolerantes	10
3.2.2. Determinação do Número Mais Provável (NMP) de <i>Streptococcus fecalis</i>	12

3.2.3. Determinação de microrganismos mesófilos aeróbios estritos e facultativos viáveis.....	13
4. RESULTADOS.....	14
5. DISCUSSÃO.....	20
6. CONCLUSÕES	24
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	25
ANEXO.....	33

1. INTRODUÇÃO

A água é um elemento essencial à vida, e tem uma importância fundamental na disseminação de agentes causadores de doenças, podendo ser fonte de contaminação para alimentos de forma indireta, com o uso de águas contaminadas com matéria fecal em sua lavagem, ou de forma direta, pelo consumo em sua forma líquida ou sólida (ASSIS e ARAÚJO, 2002).

Tem sido relatado que as infecções humanas, tanto intestinais como extra-intestinais, podem ser ocasionadas por microrganismos veiculados por águas contaminadas, assumindo um aspecto epidemiológico de grande relevância (REYNOLDS *et al.*, 2008).

O gelo é um produto resultante do congelamento da água potável e é comumente utilizado em bebidas e na conservação de alimentos. A avaliação bacteriológica, após fusão, permite demonstrar se houve contaminação por microrganismos patogênicos durante o processo de fabricação.

A preocupação com a qualidade da água para consumo é constante por parte da população como um todo, no entanto, o gelo consumido em bares, restaurantes, eventos, entre outros, não recebem a máxima atenção que deveria ter, precisamente por ser um produto congelado.

Há uma intrínseca relação, entre a existência do consumo de água contaminada e a ocorrência de doenças humanas, tornando-se necessário o constante monitoramento microbiológico do gelo comercializado, como forma de se assegurar a qualidade do produto e precaução quanto ao seu uso, visto que é um produto de consumo intensivo e extensivo pela população e cujas características microbiológicas estão associadas à saúde dos consumidores.

O gelo produzido, distribuído e comercializado pode estar contaminado por coliformes fecais e outras bactérias, atuando como veículo de transmissão de microrganismos, podendo provocar desde náuseas, vômitos, enjôos e diarreias, até casos mais graves. Faz-se necessário avaliar a qualidade do gelo, traduzida na adoção de rigorosas práticas higiênicas em sua fabricação, manuseio, embalagem, conservação e distribuição (SHAMSUDDEEN *et al.*, 2010).

Mediante tal importância, e também em relação à escassez de trabalhos científicos nacionais sobre a qualidade higiênico-sanitária do gelo para consumo humano, foi considerado pertinente o desenvolvimento de um estudo sobre a qualidade microbiológica do gelo, fornecendo subsídios ao público consumidor sobre os possíveis riscos que esse produto

pode oferecer, salientando, que o gelo é considerado uma importante via de transmissão de doenças.

O presente estudo teve como objetivo a caracterização da qualidade microbiológica do gelo embalado, comercializado em varejos e destinado ao consumo humano, provenientes de seis cidades do Recôncavo Baiano (Amargosa, Conceição do Almeida, Cruz das Almas, Mangabeira, Sapeaçu e Santo Antonio de Jesus), por meio de análises bacteriológicas de coliformes totais, coliformes termotolerantes, *estreptococos fecais* (Enterococos), com determinação do Número Mais Provável (NMP) por 100 mL da amostra, utilizando-se a técnica dos Tubos Múltiplos e de microrganismos mesófilos aeróbios estritos e facultativos viáveis.

Houve também a inquirição das condições higiênico-sanitária, em que se encontravam as embalagens, determinando o nível de contaminação, e a associação entre a má qualidade do gelo comestível, e os potenciais riscos de saúde associados ao seu consumo, fornecendo informações científicas para a saúde pública.

2. REVISÃO DE LITERATURA

A água de consumo humano é um dos importantes veículos de enfermidades, de natureza infecciosa, tornando-se primordial a avaliação de sua qualidade microbiológica (ISAAC-MARQUEZ *et al.*, 1994; OPS, 2000). As doenças de veiculação hídrica, como febre tifóide, cólera, salmonelose, shigelose, poliomielite, hepatite A, verminoses, amebíase e giardíase, são predominantemente causadas por microrganismos patogênicos de origem entérica, animal ou humana, transmitidos basicamente pela rota fecal/oral, ou seja, sendo excretados nas fezes de indivíduos infectados, e ingeridos na forma de água ou alimento contaminado por água poluída com fezes (BARRETO, 2009; BUZANELO *et al.*, 2008; RAMOS, 2008).

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), cerca de 80% de todas as doenças que acometem os países em desenvolvimento provêm de água de má qualidade, representando a causa de elevada taxa de mortalidade em indivíduos com baixa resistência imunológica (GODOY *et al.*, 2003; SÁNCHEZ-PÉREZ *et al.*, 2000).

A OMS revela que as doenças diarréicas, com origem nos alimentos e na água lideram as causas de doenças nos países menos desenvolvidos, causando a morte a 2,2 milhões de pessoas anualmente, das quais 1,9 milhões são crianças (WHO, 2009).

No Brasil, as infecções e/ou intoxicações veiculadas por água ou alimentos contaminados podem se converter em um grave problema de Saúde Pública. A água tem uma importância fundamental na disseminação de agentes causadores de gastroenterites, podendo ser fonte de contaminação para alimentos de forma indireta ou direta, e pelo consumo em sua forma líquida ou sólida.

Segundo a Portaria, nº 518 de 25 de março de 2004, sobre a Potabilidade de águas, do Ministério da Saúde/ANVISA, declara que a água é considerada potável para consumo humano quando estiver em conformidade com o padrão microbiológico: ausência de coliformes totais e termotolerantes (*Escherichia coli*) em 100 mL de amostra de água, e com contagem de bactérias heterotróficas não excedendo 500 Unidades Formadoras de Colônia por mililitro (UFC/mL) (BRASIL, 2004).

A qualidade da água para consumo, garantida nos sistemas públicos de abastecimento, deve ser mantida também na produção de gelo, quer em unidades industriais, quer em estabelecimentos de pequena dimensão, desde o processo de produção e manipulação, até ser utilizado. Em instalações industriais a produção de gelo é feita em grande escala, com

máquinas industriais que chegam a produzir toneladas de gelo por dia, e em estabelecimentos, onde a produção pode ser feita em máquinas de pequena escala, em sacos próprios para congelamento ou em caixas de polietileno denominadas cuvetes (MENDES, 2009).

O gelo é um alimento como outro qualquer, exigindo os mesmos cuidados que cercam a produção de quaisquer alimentos, podendo afetar diretamente a saúde dos consumidores. Daí a grande importância da qualidade do gelo, traduzida na adoção de rigorosas práticas higiênicas em sua fabricação, manuseio, embalagem, conservação e distribuição (MENDES, 2009).

O gelo comercial para consumo deve ser seguro e, possuir a mesma qualidade da água potável, porque ele pode ser ingerido diretamente quando adicionado a sucos, refrigerantes e coquetéis ou indiretamente quando usado para refrigerar alimentos, como peixes e frutos do mar (FALCÃO *et al.*, 2002). Além disso, pode ser utilizado em meio hospitalar, como por exemplo, formação de pacotes de gelo, para aplicação local em processos inflamatórios, em pacientes com restrição de fluidos e também para usos culinários. Em relatos de surtos nosocomiais, em que máquinas de gelo estavam envolvidas, os principais organismos responsáveis, foram: *Mycobacterium fortuitum*, *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Mycobacterium gordonae* (BURNETT *et al.*, 1994).

Muitos microrganismos podem sobreviver no gelo, embora seus números sejam reduzidos gradualmente com o tempo. Quando o gelo é derretido os microrganismos remanescentes tendem a recuperar a sua viabilidade, sobrevivendo e contaminando os alimentos onde são utilizados. Isto significa que, se existem microrganismos nocivos presentes na água com a qual foram produzidos, eles também podem ser viáveis no gelo quando este for utilizado, colocando em risco a saúde de consumidores vulneráveis, demonstrando a relevância da qualidade microbiológica do gelo para consumo (FEHD, 2005a).

A taxa de sobrevivência das bactérias no gelo depende de inúmeros fatores, entre eles: tipo e estirpe do organismo, densidade da população, estado nutricional, fase e taxa de crescimento, tempo de espera à baixa temperatura, entre outros. Nos casos de ocorrência de surtos de gastroenterites virais associadas ao gelo, os vírus sobrevivem no gelo em número suficiente para causar uma infecção (PAWSEY e HOWARD, 2001).

O gelo é raramente citado como uma fonte de transmissão de doenças, apesar de ser implicado como um veículo em surtos de infecções de cólera, gastroenterites virais, infecções por *Shigella*, hepatite A e a transmissão de patógenos entéricos, como *Vibrio cholerae*,

Giardia, vírus Norwalk e micobactérias não causadoras de tuberculose (FALCÃO *et al.*, 2004).

Vários autores (LATEEF *et al.*, 2006; PAWSEY e HOWARD, 2001; WILSON *et al.*, 1997) enumeraram que a contaminação do gelo pode ser oriunda dos seguintes modos :

- contaminação da água com a qual se produz o gelo, como a principal causa;
- contaminação do gelo com poeiras e resíduos durante o processo de congelamento e armazenagem;
- contaminação dos equipamentos (máquina de fazer gelo, triturador, recipientes de acondicionamento do gelo e utensílios de manuseamento);
- práticas inadequadas na manipulação do gelo.

Em Lampang e Chiang Rai, na Tailândia, foi notificado um grande surto de hepatite A que afetou cerca de novecentas pessoas, aparentemente devido a contaminação do gelo consumido em que as investigações iniciais apontaram para uma fábrica de gelo, na província de Chiang Rai, que utilizou água de poços artesianos contaminados (FEHD, 2005b).

O gelo, na forma de escamas ou picado de barras, é comumente usado para refrigerar pescados, entretanto, se ele for fabricado com água poluída é provável que ocorra a contaminação do produto durante o resfriamento, podendo ocorrer contaminação entre o gelo e o produto ou entre o gelo e os recipientes utilizados no transporte do pescado (GIAMPIETRO e REZENDE-LAGO, 2009; PUPO, 2009; VIEIRA *et al.*, 1997).

A magnitude e os danos na ocorrência de surtos de doença, causados pelo gelo contaminado, alteram a percepção da qualidade microbiológica do gelo nos seus variados usos. Em um estudo desenvolvido por Falcão *et al.* (2004) sobre a qualidade microbiológica do gelo foram isoladas 50 estirpes de *E. coli* em gelo, que normalmente era usado para arrefecer bebidas e pescado, representando um elevado risco para a aquisição de *Escherichia coli* enteroagregativa (EAEC), uma vez que a ingestão de peixe cru em várias partes do mundo é muito alta.

Vieira *et al.* (1997), trabalhando com a qualidade bacteriológica do gelo usado na Feira do Mucuripe – um dos principais pontos de comercialização de pescado em Fortaleza/CE – isolaram 90 cepas pertencentes a diferentes gêneros bacterianos, entre eles: cocos e bastonetes gram-negativos (78% dos isolados), sendo o restante (12%) bastonetes gram-positivos não formadores de esporo e cocos gram-positivos.

Crítérios microbiológicos para a água de consumo, similares aos recomendados pela OMS em 2004, são usualmente aplicados em muitos estudos prévios da qualidade do gelo,

considerando que muitos países, não dispõem de normativos para a qualidade microbiológica do gelo que é consumido (LATEEF *et al.*, 2006).

Devido ao fato de ser inexecutável a detecção de todos os microrganismos patogênicos, as análises baseiam-se na pesquisa de parâmetros indicadores. Cada parâmetro analisado na avaliação da qualidade da água é um indicador, ou seja, a presença das bactérias pesquisadas indica contaminação e, conseqüentemente, o risco da população de contrair doenças (MENDES, 2009).

Para um parâmetro indicador ser considerado ideal, é importante observar algumas características, tais como: ser aplicável a todos os tipos de água, ter uma população mais que numerosa que os patógenos no ambiente, sobreviver melhor que os possíveis patógenos, ser incapaz de se multiplicar no ambiente aquático, possuir resistência equivalente à dos patogênicos aos processos de autodepuração, e ser detectado por uma metodologia simples e barata, além de estar presente em grande número nas fezes de seres humanos e animais de sangue quente (OMS, 1995).

O grupo coliforme tem sido reconhecido como um indicador de qualidade da água mais próximo do ideal, por serem fáceis de serem detectados na água, sendo extensivamente utilizado na avaliação da qualidade das águas, constituindo-se até hoje o parâmetro microbiológico básico incluído nas legislações relativas a águas para consumo humano (OMS, 1995; ROLIM, 2005).

Os coliformes têm sido úteis para medir a ocorrência e grau de poluição fecal em águas, há aproximadamente 70 anos. Durante este tempo, acumulou-se grande número de dados que permitem avaliação da sensibilidade e especificidade de tal indicador bacteriano da presença de poluição de origem fecal (SOUZA *et al.*, 1983).

O termo “organismo coliforme” refere-se a bacilos gram-negativos, aeróbios ou anaeróbios facultativos, não esporogênicos, oxidase-negativa, capazes de crescer na presença de sais biliares ou de outros compostos ativos de superfície, com propriedades similares de inibição de crescimento, e que fermentam a lactose com produção de aldeído, ácido e gás a 35 – 37 °C entre 24 e 48 horas. Por definição, a bactéria coliforme apresenta β -galactosidase atividade. (CARVALHO *et al.*, 2005; FERREIRA JÚNIOR, 2002; GEUS e LIMA, 2008; OBIRI-DANSO *et al.*, 2003; SILVA e SALGUEIRO, 2001).

Entretanto, também se utiliza a detecção de um subgrupo dos Coliformes, os coliformes termotolerantes, de origem exclusivamente do trato intestinal e que se restringem aos membros capazes de fermentar a lactose com produção de gás, em 24h a 45,5 °C. Esse

grupo inclui três gêneros, *Escherichia*, *Enterobacter cloacae* e *Klebsiella*, sendo as cepas das duas últimas de origem não fecal (ALVES *et al.*, 2002; APHA, 1998; GEUS e LIMA, 2008; RESENDE, 2008).

A *Escherichia coli* pode ser diferenciada de outros coliformes termotolerantes pela produção da enzima β -glucuronidase. A contagem dos coliformes totais corresponde ao total de microrganismos gram-negativos encontrados em uma amostra, já a contagem de coliformes termotolerantes indica a quantidade dos microrganismos oriundos de excretas, portanto com risco de serem possivelmente patogênicos (GARBOGGINI, 1999; MACÊDO, 2001; SILVA e SALGUEIRO, 2001; WHO, 2004). Assim, a presença de coliformes nem sempre indica obrigatoriamente a existência de agentes patogênicos e, conseqüentemente, a ocorrência de doenças (SADEGHI *et al.* 2006). A presença de coliformes em determinadas concentrações deve ser encarada como um sinal de alerta, indicando a possibilidade de poluição ou contaminação fecal, principalmente quando ocorrem bruscas variações do número de coliformes totais e termotolerantes (BUZANELLO *et al.*, 2008; CAMARGO e PAULOSSO, 2009; SANT'ANA *et al.*, 2003).

A temperatura de incubação elevada para coliformes totais e termotolerantes tem como objetivo evitar o crescimento de bactérias não fecais, mais adaptadas a temperaturas mais baixas do meio ambiente, por isso, o teste de coliformes termotolerantes se torna mais seletivo para *E. coli* e mais específico para determinação de contaminação de origem fecal (APHA, 1998).

As determinações de coliformes totais e termotolerantes são realizadas de acordo com o Standard Methods for the Examination of Water and Wasterwater, pela técnica dos Tubos Múltiplos. Essa técnica consiste na inoculação de volumes decrescentes da amostra, em meio de cultura adequado ao crescimento dos microrganismos pesquisados, sendo cada volume inoculado numa série de tubos, caracterizando duas etapas, uma presuntiva e outra confirmativa, em que a primeira etapa é presuntiva porque as reações ácidas e gasosas observadas podem ser causadas por outros organismos. Através de diluições sucessivas da amostra são obtidos inóculos cuja semeadura fornece resultados negativos, em pelo menos um tubo da série em que os mesmos foram inoculados, e a combinação de resultados positivos e negativos permite a obtenção de uma estimativa da densidade das bactérias pesquisadas, através da aplicação de cálculos de probabilidade (APHA, 1998; WHO, 2004).

A contagem de coliformes pode ser usada como indicador das práticas de higiene usadas na manipulação, quer no armazenamento, quer no momento de servir o gelo, onde

quaisquer outros coliformes presentes na água tratada são indícios de ocorrência de falhas no tratamento da água e/ou de contaminação do mesmo (NICHOLS *et al.*, 2000).

Outras bactérias de origem fecal como, por exemplo, as do gênero *Streptococcus*, que existem em números relativamente altos em fezes de origem humana ou animal, têm sido investigadas como possíveis auxiliares de comprovação da poluição fecal recente em águas, em função deste gênero ser mais tolerante à refrigeração quando comparado com *E. coli* e outros coliformes (CHAGAS *et al.*, 1981; INGHAM e SCHIMDT, 2000; SANT'ANA *et al.*, 2003).

Segundo Hardie e whiley (1997), o grupo dos *Estreptococos fecais* engloba espécies de *Streptococcus* e *Enterococcus* do grupo sorológico D de Lancefield, que ocorrem em grande quantidade nas fezes humanas e de outros animais e tem o trato intestinal como habitat natural (GOMES, 2007).

Os *Enterococos* são cocos gram-positivos, de aproximadamente 1 mm de diâmetro, que geralmente se dispõem aos pares e em curtas cadeias, sendo catalase negativos, atuando como patógenos oportunistas ou microrganismos comensais (SILVA *et al.*, 2008). O principal reservatório humano dos *Enterococos* é o trato gastrointestinal, porém, ele pode ser encontrado, embora com menos frequência, na cavidade oral, vesícula biliar, vagina e uretra masculina. Também podem ser encontrados no solo, em alimentos, na água, na microbiota autóctone de vários alimentos, em animais, pássaros e insetos, tornando-se, porém, importantes agentes de doenças humanas devido principalmente à sua resistência a agentes antimicrobianos (CEREDA, 2001; HORNER *et al.*, 2005; PARADELLA *et al.*, 2007).

O gênero *Enterococcus* é um subgrupo dos *Streptococcus fecais* que compartilham certas propriedades bioquímicas e têm uma grande tolerância em condições adversas de crescimento. O gênero compreende 16 espécies: *E. avium*, *E. malodoratus*, *E. raffinosus*, *E. pseudoavium*, *E. sacharolyticus*, *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. casseliflavus*, *E. mundtii*, *E. gallinarum*, *E. durans*, *E. hirae*, *E. dispar*, *E. sulfureus*, *E. cecorum* e *E. columbae* (FOULQUIÉ- MORENO *et al.*, 2006; TOGNERI *et al.*, 2005; WHO, 2004). Estes microrganismos não requerem atmosfera contendo elevada concentração de CO² para sua multiplicação, embora algumas cepas se reproduzam melhor sobre estas condições. O metabolismo fermentativo resulta em L(+) ácido lático como produto principal da fermentação da glicose. Do ponto de vista microbiológico, os *Enterococos* apresentam poucas exigências para o seu crescimento, sendo capazes de crescer em temperatura de 10 a 45 °C, pH 9,6 em 6,5% de solução salina, e de sobreviver a 60 °C por 30 minutos, onde grande parte

das espécies desse gênero hidrolisam esculina na presença de bile (SILVA *et al.*, 2008; PARADELLA *et al.*, 2007; GOMES, 2007).

A presença de *E. coli* e *Enterococos* indicam uma potencial contaminação fecal, provavelmente resultante da utilização de utensílios contaminados na manipulação do gelo (NICHOLS *et al.*, 2000).

No passado, a qualidade microbiológica da água era correlacionada com os riscos de adquirir doenças gastrointestinais. Os trabalhos mais recentes sugerem que estas doenças estão mais fortemente associadas com a presença de *Enterococos* que de *E. coli* (BARREL *et al.*, 2000).

A contagem padrão de bactérias mesófilas é amplamente utilizada como indicador da qualidade higiênica dos alimentos, e são constituídas por espécies de *Bacillus*, *Clostridium*, *Corynebacterium* e *Streptococcus*. Sua presença em grande número indica matéria-prima contaminada, limpeza e desinfecção de superfícies inadequadas, higiene insuficiente na produção e condições inapropriadas de tempo e temperatura durante a produção ou conservação dos alimentos (BATTAGLINI, 2010). Esses microrganismos são detectados por propagação em meios não seletivos, ricos em nutrientes, que permitam a multiplicação de uma ampla faixa de microrganismos (DOMINGUES *et al.*, 2007).

Microrganismos aeróbios mesófilos são genericamente definidos como microrganismos que requerem carbono orgânico como fonte de nutrientes, apresentando crescimento ótimo ente 20°C e 45°C. Sua contagem fornece uma estimativa da contaminação microbiana total e altas contagens usualmente estão relacionadas à baixa qualidade e reduzida vida de prateleira dos produtos (CARVALHO *et al.*, 2005), sendo sua detecção e enumeração empregadas tanto para o controle da qualidade, como da eficiência das práticas de desinfecção de equipamentos e utensílios durante a produção e beneficiamento do produto (ALBUQUERQUE *et al.*, 2006).

As técnicas adotadas pela portaria n° 518 de 25 de março de 2004, para detecção de microrganismos mesófilos aeróbios estritos e facultativos viáveis incluem a detecção inespecífica de bactérias ou esporos de bactérias, sejam de origem fecal, componentes da flora natural da água, ou resultantes da formação de biofilmes no sistema de distribuição, servindo, portanto, como indicador auxiliar da qualidade da água (BRASIL, 2004).

Desta maneira é importante a realização de estudos sobre o gelo, porque é um tema de grande relevância para a saúde pública, pois o gelo pode ser considerado uma via de contaminação, para a população consumidora.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. AMOSTRAGEM

Foram coletadas vinte e nove amostras de gelo, comercializado em pacotes de 3, 5 e 10 kg, vendidos em diversos estabelecimentos (postos de combustíveis, supermercados e sorveteria). As amostras foram provenientes das cidades de Amargosa (7), Conceição do Almeida (2), Cruz das Almas (9), Mangabeira (2), Sapeaçu (2) e Santo Antonio de Jesus (7), compreendendo entre o período de setembro de 2009 a agosto de 2010. O procedimento de coleta seguiu o protocolo, conforme o Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (APHA, 1998).

As amostras do gelo foram transportadas em caixa isotérmicas até o laboratório de Microbiologia e Parasitologia Animal, no campus da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, em Cruz das Almas, BA. Foram observadas cautelosamente as condições higiênicas, das embalagens e então realizadas análises microbiológicas, após a sua fusão, de maneira asséptica, dentro do refrigerador em recipientes esterilizados à temperatura de 121 °C.

3.2. ANÁLISE MICROBIOLÓGICA

3.2.1. Determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais e termotolerantes (APHA, 1998).

Teste presuntivo

Com uma pipeta, foram adicionados 10 mL da amostra, respectivamente, em 10 tubos contendo 10 mL de Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST), em concentração dupla e com tubos de Durham (de fermentação) invertidos. Os tubos foram incubados a 35 °C, em estufa bacteriológica, onde as leituras foram realizadas após 24 horas, observando se houve

desenvolvimento microbiano, caracterizado pela turvação do meio, com a produção de gás no interior dos tubos de fermentação, nos casos negativos foram reincubados, por 48 horas e refeita a leitura. A partir dos tubos, que apresentaram resultados positivos, prosseguiu-se para a etapa de confirmação de coliformes totais e termotolerantes.

Teste confirmativo para coliformes totais

Das alíquotas dos tubos positivos de Lauril Sulfato Triptose (LST), da prova presuntiva, foram transferidas amostras com uma alça de níquel cromo com 3 mm de diâmetro, para tubos de ensaio contendo Caldo Lactosado Bile Verde Brilhante (BVB) a 2% com tubos de Durham invertidos e incubados a $35 \pm 0,5^\circ \text{C}$ por 48 horas. Após o período, os que se apresentaram positivos, mediante a turvação com produção de gás, a partir da fermentação da lactose, foram considerados confirmativo para a presença de bactérias coliformes totais. Os números de tubos (BVB) com gás foram anotados e determinado o Numero Mais Provável (NMP) de coliformes totais/100 mL de gelo degelado, em uma tabela apropriada às diluições inoculadas (ANEXO A). O Caldo Bile Verde Brilhante 2% apresenta em sua composição bile bovina e um corante derivado do trifenilmetano (verde brilhante), responsável pela inibição dos microrganismos gram- positivos (APHA, 1998).

Teste confirmativo para coliformes termotolerantes

Com uma alça de níquel, foi transferida uma porção da cultura, a partir dos tubos que apresentaram resultados positivos de LST (Caldo Lauril Sulfato Triptose) na prova presuntiva, para tubos de ensaio contendo Caldo *Escherichia coli* (EC), com tubos de Durham invertidos. Os tubos foram incubados em banho-maria a $44,5 \pm 0,5^\circ \text{C}$, por 24 horas. Também foram considerados positivos os tubos que evidenciaram produção de gás, com desenvolvimento microbiano, confirmativos para coliformes termotolerantes. Os números de tubos de EC positivos determinaram o Número Mais Provável (NMP) de coliformes termotolerantes/100 mL. O caldo *Escherichia coli* (EC) apresenta em sua composição uma mistura de fosfatos, que lhe confere uma ação tamponante, impedindo a sua acidificação, em

que a seletividade do meio se deve à presença de sais biliares, responsáveis pela inibição dos microrganismos gram-positivos (APHA, 1998).

3.2.2. Determinação do Número Mais Provável (NMP) de *Streptococcus fecalis* (APHA, 1998).

Teste presuntivo

Com uma pipeta foram adicionadas 10 mL da amostra em 10 tubos contendo 10 mL de Caldo Azida Dextrose, em concentração dupla, sem tubos de fermentação e incubados em estufa à 35°C por 24 horas. Após este período foi observada a ocorrência de crescimento bacteriano e, os negativos foram reincubados até completar 48 horas. Considerou-se positiva as amostras em que houve turvação do meio e/ou formação de precipitado, através da fermentação da glicose presente. O Caldo Azida Dextrose é um meio seletivo para cocos gram-positivos, através da adição de Azida de sódio, para inibição de bactérias gram-negativas, mas isento de agentes diferenciais (APHA, 1998).

Teste confirmativo para *Streptococcus fecalis*

A partir de cada tubo positivo de Caldo Azida Dextrose foi estriada, uma porção da cultura, com uma alça de níquel em placas contendo Ágar Pfizer Seletivo Enterococcus (PSE) e essas foram incubadas a 35 °C por 48h. O número de placas positivas foi determinado segundo o Número Mais Provável (NMP) de *streptococos fecalis*, em uma tabela de NMP apropriada às diluições inoculadas, sendo o resultado final expresso em NMP/100 mL⁻¹ da amostra. O Agar Pfizer Seletivo Enterococcus (PSE), além de Azida de sódio, contém também esculina e citrato férrico amoniacal para verificação da hidrólise da esculina. Ocorrendo a hidrólise, o produto da reação esculetina, reagirá com o citrato férrico, formando um complexo que se difunde pelo meio, resultando em colônias castanhas enegrecidas, com halo marrom, confirmativa de *streptococos fecalis* (APHA, 1998).

3.2.3. Determinação de microrganismos mesófilos aeróbios estritos e facultativos viáveis (APHA, 1998).

A contagem de microrganismos mesófilos aeróbios estritos e facultativos viáveis foi realizada pela técnica de plaqueamento em profundidade "Pour Plate Method", onde foram feitas diluições decimais seriadas de 10^{-1} a 10^{-6} das amostras, empregando-se como diluente a água peptonada a 0,1% esterilizada. Em seguida, foram transferidos 1 mL de cada diluição (de modo a permitir a contagem mínima estabelecida no padrão bacteriológico) para placas de Petri vazias e esterilizadas, utilizando-se duas placas para cada diluição, às quais foram adicionadas cerca de 25 mL de Ágar Contagem Padrão (Plate Count Agar), previamente fundido e aquecido a 43-45 °C, realizando movimentos delicados em forma de oito com a placa fechada sobre a bancada. Após a homogeneização e solidificação, as placas foram invertidas para evitar a água de condensação na superfície do ágar e incubadas em estufa bacteriológica a 35 °C por 48 horas. A contagem das colônias, foram efetuadas com o auxílio de um contador de colônias, equipado com uma placa de vidro, com capacidade para aumento de 1 a 2 vezes, possuindo um sistema eletrônico de registro das contagens. A média do número de colônias contadas nas placas foi multiplicada pelo fator de diluição correspondente e o resultado expresso em Unidades Formadoras de Colônia por mL de amostra (UFC. mL⁻¹).

4. RESULTADOS

Em relação às análises microbiológicas observou-se que 93,10% (27) das amostras apresentaram contaminação por coliformes totais (CT) e termotolerantes (CF) (tabela 1), com valores variando entre $< 1,1$ e $> 23,0$ NMP. 100 mL⁻¹. Em equivalência, apenas 6,89% das amostras de gelo degelado, representadas pelas amostras 23 e 25, não apresentaram significativamente contaminação por coliformes totais e termotolerantes. Referente às análises para *Streptococcus fecalis*, apenas 37,93% das amostras (11) apresentaram índices de contaminação por *Enterococos*, com valores entre 1,1 a 9,2 NMP. 100 mL⁻¹ (tabela 1).

Os números e as porcentagens das amostras de gelo, dentro e fora dos padrões estabelecidos, segundo a portaria 518 de 25 de março de 2004, estão expressos na figura 1. Observou-se, que quanto aos resultados determinados para coliformes totais e termotolerantes, apenas 6,89% (2) das 29 amostras estavam inseridas nos padrões microbiológicos de potabilidade da água, e 93,10% (27) não correspondiam aos padrões determinados. Para os microrganismos mesófilos aeróbios estritos e facultativos viáveis, 20,69% (6) das amostras estavam de acordo com o recomendado pela portaria.

Os microrganismos mesófilos aeróbios estritos e facultativos viáveis oscilaram em suas concentrações, com variância de $1,0 \times 10^1$ a $1,1 \times 10^6$ UFC mL⁻¹. Em seis amostras, correspondente a 20,69% das 29 amostras analisadas (tabela 2), a faixa de detecção ficou situada entre 10^1 a 10^2 UFC. mL⁻¹, com média geométrica de $1,02 \times 10^5$ unidades formadoras de colônias (UFC.mL⁻¹). Já em 21 amostras (72, 42%), os valores pertinentes à contagem de microrganismos mesófilos estiveram entre 10^3 a 10^4 UFC. mL⁻¹, com média geométrica $3,50 \times 10^5$ UFC. mL⁻¹ e apenas 2 amostras (6,89%) apresentaram a média geométrica de $1,02 \times 10^4$ UFC. mL⁻¹, entre a faixa de detecção de 10^5 a 10^6 UFC. mL⁻¹.

Em relação à caracterização das condições em que se apresentavam as embalagens de gelo, conforme tabela 3 e figura 2 foi observada uma taxa de 37,93% das amostras com embalagens danificadas, com presença de pequenas perfurações que permitiam a exposição do produto ao meio externo, tornando-se susceptível a contaminações e 62,06 % delas estavam intactas, sem nenhum detrimento.

Tabela 1. Concentrações de *Streptococcus fecalis* (EF), coliformes totais (CT), coliformes termotolerantes (CF) e dos microrganismos mesófilos (MES) das 29 amostras de gelo obtidas de setembro de 2009 a agosto de 2010.

AMOSTRAS	EF (NMP. 100 mL ⁻¹)	CT (NMP. 100 mL ⁻¹)	CF (NMP. 100 mL ⁻¹)	MES (UFC. mL ⁻¹)
1	0	>23	23,0	2,4 x 10 ⁴
2	1,1	>23	23,0	3,0 x 10 ⁴
3	0	>23	23,0	3,2 x 10 ³
4	0	>23	23,0	2,6 x 10 ²
5	0	23,0	23,0	3,0 x 10 ²
6	0	16,1	23,0	1,5 x 10 ³
7	1,1	23,0	23,0	6,0 x 10 ³
8	0,0	>23	23,0	3,0 x 10 ³
9	0	>23	23,0	5,0 x 10 ²
10	0	>23	23,0	1,2 x 10 ⁵
11	1,1	9,2	9,2	1,2 x 10 ⁴
12	0	>23	23,0	4,9 x 10 ³
13	0	>23	>23	2,5 x 10 ⁴
14	0	>23	>23	4,5 x 10 ³
15	3,6	>23	>23	9,4 x 10 ³
16	2,6	>23	>23	1,7 x 10 ⁴
17	1,1	>23	>23	4,9 x 10 ³
18	2,6	>23	>23	6,0 x 10 ³
19	0	>23	>23	6,0 x 10 ³
20	2,2	>23	>23	2,1 x 10 ⁴
21	0	>23	>23	8,5 x 10 ³
22	3,6	>23	>23	2,4 x 10 ⁴
23	9,2	<1,1	<1,1	3,2 x 10 ²
24	3,6	9,2	9,2	1,0 x 10 ¹
25	0	<1,1	<1,1	1,0 x 10 ¹
26	0	>23	>23	2,1 x 10 ⁴
27	0	>23	>23	1,1 x 10 ⁶
28	0	>23	>23	8,5 x 10 ⁴
29	0	>23	>23	2,9 X 10 ⁴

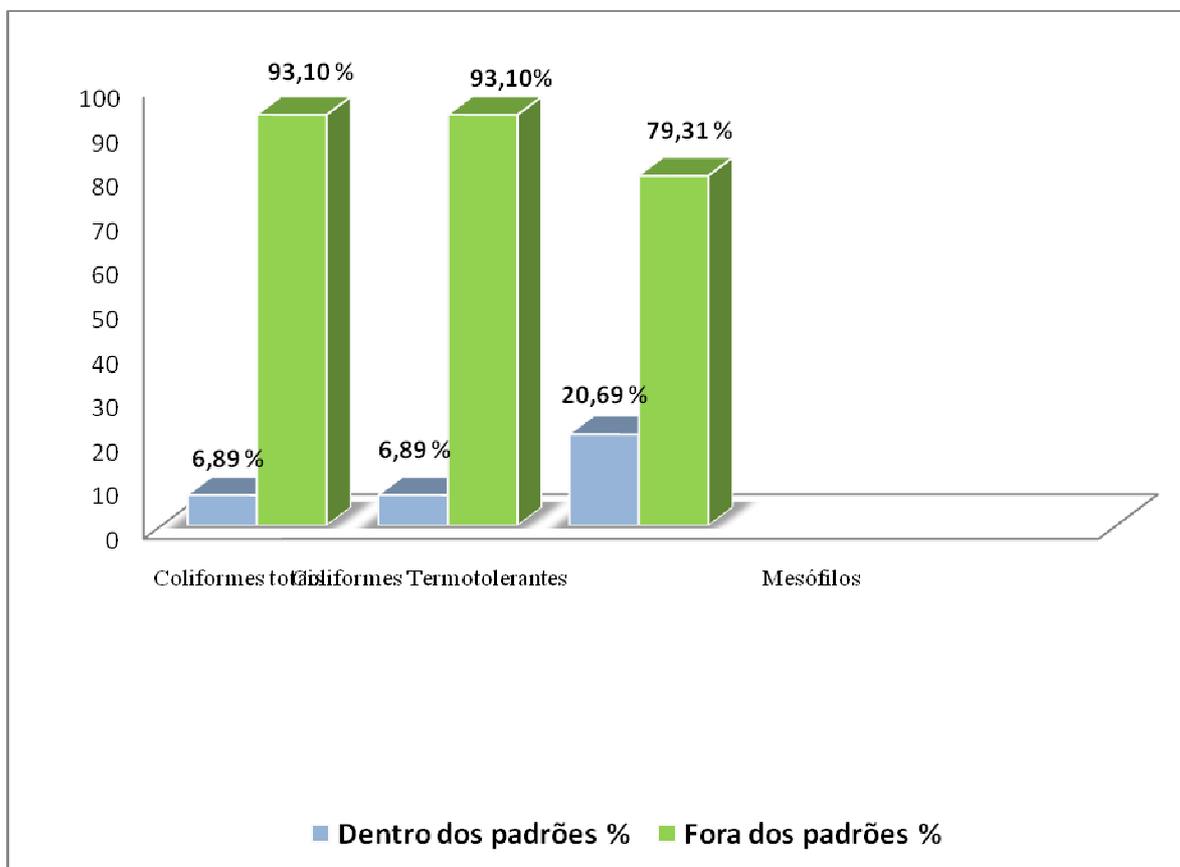


Figura 1: Distribuição percentual de coliformes totais, termotolerantes e de microrganismos mesófilos aeróbios estritos e facultativos viáveis, em amostras de gelo dentro e fora dos padrões microbiológicos de potabilidade da água de acordo com a Portaria nº 518 de 25/03/2004 (BRASIL, 2004).

Tabela 2. Distribuição das médias geométricas, expressas em Unidades Formadoras de Colônias (UFC. mL⁻¹), de microrganismos mesófilos (MES) em 29 amostras de gelo, coletadas entre o período de setembro de 2009 a agosto de 2010.

Microrganismos Mesófilos			
Faixa de detecção em número mais provável (UFC. mL⁻¹)	Média geométrica (UFC. mL⁻¹)	Nº	%
10^1 a 10^2	$1,02 \times 10^5$	6	20,69
10^3 a 10^4	$3,5 \times 10^5$	21	72,42
10^5 a 10^6	$1,02 \times 10^4$	2	6,89
TOTAL	----	29	100,00

Tabela 3. Relação das condições apresentadas, pelas embalagens das 29 amostras de gelo.

Amostras	Embalagens Intactas	Embalagens danificadas
1	Não	Sim
2	Não	Sim
3	Não	Sim
4	Sim	Não
5	Sim	Não
6	Não	Sim
7	Não	Sim
8	Não	Sim
9	Sim	Não
10	Sim	Não
11	Sim	Não
12	Sim	Não
13	Sim	Não
14	Sim	Não
15	Sim	Não
16	Sim	Não
17	Sim	Não
18	Sim	Não
19	Sim	Não
20	Não	Sim
21	Não	Sim
22	Não	Sim
23	Sim	Não
24	Sim	Não
25	Sim	Não
26	Sim	Não
27	Não	Sim
28	Sim	Não
29	Não	Sim
Total %	62,06	37,93

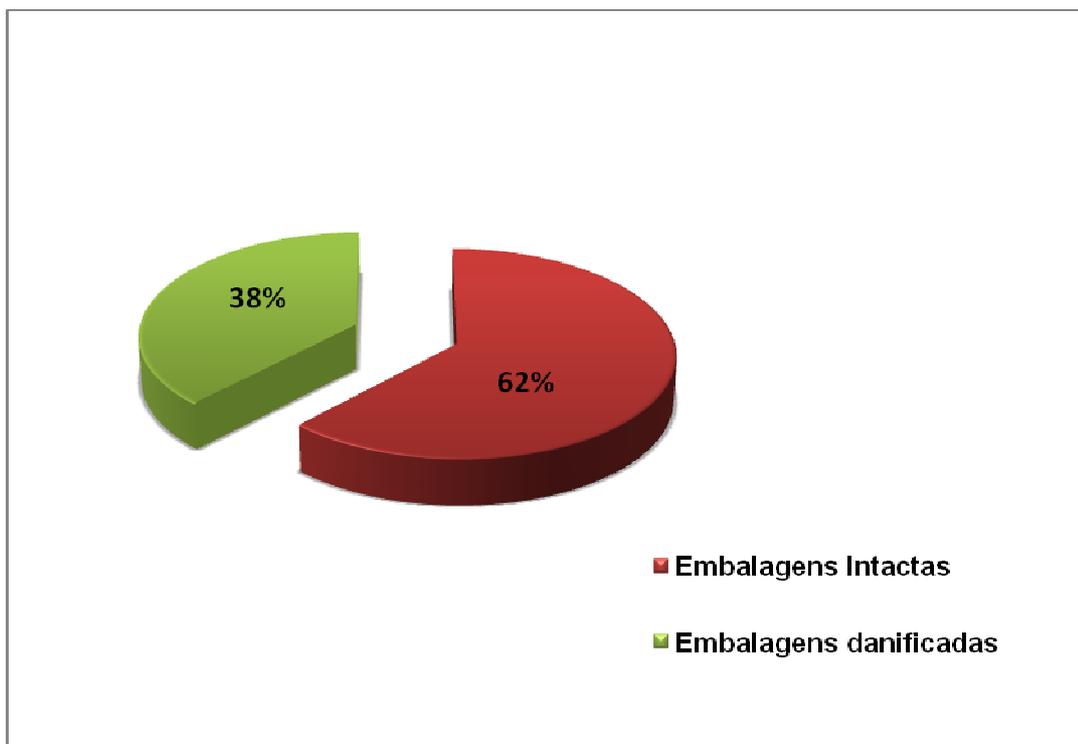


Figura 2: Porcentagens das condições das embalagens das vinte e nove amostras de gelo.

5. DISCUSSÃO

Em conformidade com os resultados apresentados no presente trabalho, Giampietro e Rezende-Lago (2009), em estudos realizados sobre a qualidade microbiológica do gelo empacotado, utilizado na conservação de pescado fresco, obtidas em quatro diferentes estabelecimentos comerciais de Ribeirão Preto, SP, verificaram que das 30 amostras analisadas, 96,7% (29) e 73,3% (22), apresentaram, respectivamente, contaminação por coliformes totais e termotolerantes, com população mesofílica superior a 10^4 UFC. mL⁻¹, trazendo riscos ao produto armazenado nesse gelo, bem como à população consumidora.

A água utilizada para preparar gelo deve estar isenta de microrganismos patogênicos, diante do risco potencial de transmissão de doenças de veiculação hídrica através do consumo de gelo contaminado, colocando em risco a saúde de consumidores vulneráveis ou imunodeprimidos. Estudos têm demonstrado que, embora, os seus números sejam reduzidos no processo de congelamento e de exposição a algumas bebidas, os microrganismos não são totalmente eliminados (DICKENS, 1985).

A Resolução RDC nº 274, de 22 de setembro de 2005, em que foi estabelecido o Regulamento Técnico para Águas Envasadas e Gelo, preconizam que o gelo deve ser preparado, a partir da água cujos parâmetros microbiológicos, químicos e radioativos atendam à norma de qualidade da água para consumo humano, sem oferecer riscos à saúde (BRASIL, 2005).

A presença de altos índices de coliformes totais e termotolerantes, *Enterococos* e microrganismos mesófilos encontrados no gelo, não se destinam apenas a detectar contaminação fecal, mas também, refletir as gerais condições higiênicas durante e/ou após o processo de produção do gelo, através da utilização de utensílios contaminados, em que as bactérias coliformes, oriundas do ambiente podem formar biofilmes na superfície dos equipamentos (NICHOLS *et al.*, 2000).

A elevada contaminação, constatada nas amostras de gelo indicam, provavelmente, que ocorreu contaminação em alguma das etapas do processo produtivo, ou que a água utilizada como matéria-prima se encontrava contaminada, o que pode acontecer durante o seu trajeto do reservatório à fábrica, no próprio reservatório, ou ainda, por algum tipo de manuseio inadequado da mesma, após a saída do reservatório (SHAMSUDDEEN *et al.*, 2010).

Wilson *et al.* (1997) reportando a qualidade microbiológica do gelo para consumo humano verificaram que 95% das amostras apresentaram contagens de microrganismos

mesófilos superiores a 500 UFC. mL⁻¹, 69% contaminadas com bactérias do grupo coliforme e em apenas três das 194 amostras analisadas foi encontrada *Escherichia coli*.

Nichols *et al.* (2000) analisaram no Reino Unido 3.672 amostras de gelo utilizado para gelar bebidas (96,1%) e para conservação de alimentos prontos para consumo (3,9%). Das utilizadas para armazenar alimentos, 29% apresentaram populações mesofílicas superiores a 10³ UFC. mL⁻¹ e 23% apresentaram presença de coliformes, 5% *E. coli* e 8% *Enterococos* a 10² UFC. mL⁻¹. Segundo autores, das amostras de gelo utilizadas para refrigerar as bebidas, apenas 9% continham coliformes, 1% *E. coli*, 12,3% *Enterococos*, e 11% mesófilos a 37 °C acima de 10³ UFC. mL⁻¹. Tal fato demonstrou que a qualidade microbiológica do gelo preparado e utilizado em determinadas instalações no Reino Unido era um motivo de preocupação para a população consumidora.

A segurança microbiológica do gelo comercial usado para refrigerar bebidas e peixes foi também avaliada em Ogbomoso na Nigéria, utilizando-se 40 amostras de gelo coletadas em quatro estabelecimentos, de fábricas de gelo a lojas de varejo. Todas as amostras apresentaram altos índices de contaminação por microrganismos mesófilos aeróbios estritos e facultativos viáveis, com variação da carga microbiana entre 1,88 a 3,20 x 10⁴ UFC. mL⁻¹. Os isolados obtidos das amostras de gelo incluíram *Pediococcus cerevisiae*, *Bacillus subtilis*, *Streptococcus pyogenes*, *Bacillus firmus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus equi*, *Staphylococcus epidermidis* e *Micrococcus luteus* (LATEEF *et al.*, 2006).

Rodrigues Neto *et al.* (2009), avaliando a qualidade bacteriológica de 27 amostras de gelo comercializado em Recife-PE, observaram que 15 delas estavam em desacordo com a legislação vigente, e que 14 apresentaram resultados positivos, para coliformes termotolerantes, expressando a predominância da bactéria *Klebsiella pneumoniae*.

Pode ser irreal esperar que o gelo utilizado para refrigerar bebidas e alimentos possa atender os padrões para água potável, uma vez que é exposto às contaminações, à medida que passa pelo processo de manipulação em lojas de varejo (NICHOLS *et al.*, 2000).

Nichols *et al.* (2000), Pawsey e Howard (2001) e Wilson *et al.* (1997) são de opinião de que pode ser demasiado exigir que o gelo atenda aos padrões de qualidade da água, uma vez, que transpõe todo um processo de produção onde a manipulação está implícita. Diferentemente, Falcão *et al.* (2002) entendem que o gelo, produzido e embalado, deveria ser da mesma qualidade microbiológica da água, onde *E. coli* e *Enterococos* devem estar ausentes em 100 mL de amostra, e assim permanecer uma vez aberta a embalagem do gelo, dado que é

ingerido diretamente quando adicionado a bebidas ou indiretamente quando usado para refrigerar alimentos.

A qualidade microbiológica do gelo depende de uma série de fatores, incluindo a qualidade microbiológica da água utilizada na sua preparação, associada às práticas de higiene, manipulação e armazenamento, a fim de assegurar a manutenção da sua qualidade (DICKENS *et al.*, 1985).

Apesar do gelo apresentar uma temperatura de formação e de conservação negativas, a carga microbiológica presente permanece viável, no entanto, cessando apenas as atividades metabólicas, sem ocorrer o desenvolvimento microbiano (HAMEDY *et al.*, 2004; MENDES, 2009). Segundo Vieira *et al.*, (1997), o gelo não é considerado um meio de cultivo para bactérias, devido a falta de nutrientes necessários ao seu desenvolvimento, entretanto, ele assume o papel de veículo desses microrganismos, para os alimentos refrigerados, bastando para tal ser preparado com água poluída ou contaminada com alguma bactéria que suporte temperaturas a 0°C, a qual imediatamente afetará a qualidade do alimento.

Em um estudo, realizado por Dickens *et al.* (1985), no Reino Unido, foi evidenciado o declínio progressivo da sobrevivência de *Salmonella typhi*, *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei* e *Escherichia coli* enteropatogênica em amostras de gelo, onde todas tiveram uma taxa de recuperação inferior a 20% após uma semana de congelamento, quando comparadas com as características da água que não foi congelada.

Falcão (2010), após analisar 60 amostras de gelo em cubos, barras e em escamas de fábricas que utilizavam água clorada da rede de abastecimento e/ou de poços artesianos em Araraquara, constatou contaminação por coliformes fecais e a presença de vários microrganismos patogênicos, com resistência a vários tipos de antibióticos, como a resistência múltipla que pode dificultar o tratamento de uma pessoa que tenha sido infectada por esses microrganismos, como a bactéria *Yersinia enterocolitica* e a *Salmonella enteritidis*, que apresentaram resistência a vários tipos de antibióticos. A contaminação das amostras de gelo analisadas foi decorrente do uso de água contaminada durante a fase de produção, representando um perigo potencial para a população que utiliza o gelo, direta ou indiretamente nos alimentos. É complacente destacar a importância do uso de embalagens em condições higiênicas adequadas, pois mesmo que durante a produção do gelo as medidas higiênico-sanitárias sejam adotadas, ao se utilizar embalagens contaminadas o gelo se contaminará.

No presente trabalho 37,93% das embalagens de gelo adquiridas no comércio apresentaram-se danificadas, expondo o gelo ao ambiente externo propiciando a contaminação do mesmo. Este fato, conseqüentemente, pode estar relacionado com a fragilidade das embalagens, compostas de sacos plásticos de pequena espessura, que são facilmente danificados durante seu manuseio, uma vez que o gelo se quebra com certa facilidade e perfura o plástico, podendo ser uma porta de entrada para microrganismos patogênicos durante o transporte e a comercialização do gelo (FALCÃO *et al.*, 2002; WILSON *et al.*, 1997).

Em embalagens que apresentam vazamento, por exemplo, podem ocorrer alterações dos resultados obtidos, havendo a possibilidade de resultados falso-positivos, pois o vazamento indica que o gelo teve contato com o meio externo, possibilitando a contaminação por microrganismos do ambiente, não relacionados ao processo de produção (FSAI, 2002).

Em uma investigação realizada em Hong Kong para avaliar a qualidade microbiológica de 101 amostras de gelo comercializadas em varejo, cerca de 80% apresentaram contaminação por coliformes e mesófilos, com níveis superiores a 10×10^2 UFC. mL⁻¹, e foi relatado que a provável causa de contaminação do gelo embalado estava relacionada ao tratamento anti-higiênico durante o transporte do gelo, resultando na contaminação da superfície externa do saco (FEHD, 2005a).

Desta maneira foi possível verificar que inúmeros estudos, desenvolvidos em diferentes países, têm mostrado que a qualidade microbiológica do gelo fabricado e consumido interruptamente, tanto de forma direta ou indireta, em alimentos e bebidas, pode ser um motivo de preocupação para saúde coletiva, mediante que o gelo pode ser um veículo de transmissão de agentes patogênicos, provocando surtos alimentares (MOYER *et al.*, 1993; VIEIRA *et al.*, 1997; WILSON *et al.*, 1997).

Em função do gelo estar exposto às contaminações no seu processo de produção, se faz necessária a realização de estudos futuros sobre a qualidade microbiológica da água de origem, utilizada na sua fabricação, evidenciando assim, em que parte do processo ocorreu falhas.

6. CONCLUSÕES

- ✓ No presente estudo foi possível apurar que as vinte e nove amostras de gelo analisadas apresentaram características microbiológicas impróprias, em discrepância com os padrões vigentes legais, mediante a presença de bactérias coliformes totais e termotolerantes, microrganismos mesófilos aeróbios estritos e facultativos viáveis e *Enterococos*, em elevadas concentrações, sugerindo condições higiênico-sanitárias ineficientes, determinando-as impróprias para o consumo humano.

- ✓ O gelo contaminado apresenta riscos à população consumidora, através da veiculação de microrganismos patogênicos, que podem ser consumidos de forma direta ou indireta.

- ✓ Parte das embalagens que acondicionavam o gelo estavam danificadas, expondo o gelo à contaminação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBUQUERQUE, W. F.; VIEIRA, R. H. S. F. e VIEIRA, G. H. F. **Isolamento de *Staphylococcus aureus* do gelo, água, bancadas e vendedores de pescado da feira do Mucuripe, Fortaleza, Ceará.** Revista Ciência Agronômica, v.37, n.3, p.299-303, 2006.

ALVES, N. C.; ODORIZZI, A.C. e GOULART, F. C. **Análise microbiológica de águas minerais e de água potável de abastecimento, Marília, SP.** Revista de Saúde Pública, v.36, n.6, p.749-51, 2002.

APHA. AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Standard methods for the examination of water and wastewater.** 20 ed. Washington: American Public Health Association, p. 47-66, 1998.

ASSIS, R. C. S. e ARAÚJO, T. M. **Avaliação da qualidade bacteriológica e físico-química, para consumo humano, da água do manancial subterrâneo, em áreas urbanas de Feira de Santana - Bahia – Brasil.** In: XXVIII Congresso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental, Cancún-México, 2002.

BARRELL, R. A.; HUNTER, P. R. e NICHOLS, G. **Microbiological standards for water and their relationship to health risk.** Community Diseases Public Health, v. 3, n.1, p. 8-13, 2000.

BARRETO, E. F. **Análise microbiológica da água fornecida a unidades de alimentação de regiões administrativas do distrito federal.** Anuário da produção de iniciação científica discente, v. XII, n.13, p. 7-15, 2009.

BATTAGLINI, A. P. P. **Qualidade microbiológica do ambiente, alimentos e água, em restaurantes da ilha do mel/ Londrina PR.** 2010. 65f, Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual de Londrina, Paraná, 2010.

BRASIL. Leis e Decretos. Portaria nº 518 de 25 de março de 2004. **Norma de qualidade da água para consumo humano.** Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias/1469_00.htm>. Acesso em: 02 de Maio de 2010.

BRASIL. **Resolução de Diretoria Colegiada- RDC nº 274, de 22 de setembro de 2005.** Aprova o Regulamento Técnico para águas envasadas e gelo. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 22 dez. 2005. Seção1, Disponível em:< <http://legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=18835>>. Acesso em: 22 de junho de 2009.

BURNETT, I. A.; WEEKS, G. R. e HARRIS, D. M. **A hospital study of ice-making machines: their bacteriology, design, usage and upkeep.** Journal of Hospital Infection, v. 28, p.305-313, 1994.

BUZANELLO, E. B.; MARTINHAGO, M. W. ; ALMEIDA, M. M. e PINTO, F. G. S. **Determinação de Coliformes Totais e Termotolerantes na Água do Lago Municipal de Cascavel, Paraná.** Revista Brasileira de Biociências, Porto Alegre, v. 6, supl. 1, p. 59-60, 2008.

CAMARGO, M. F. e PAULOSSO, L. V. **Avaliação qualitativa da contaminação microbiológica das águas de poços no município de Carlinda – MT.** In: Seminário: Ciências Biológicas e da Saúde, Londrina, v. 30, n. 1, p. 77-82, 2009.

CARVALHO, A. C. F. B.; CORTEZ, A. L. L.; SALOTTI, B. M.; BÜRGER, K. P. e VIDAL-MARTINS, A. M. C. **Presença de Microrganismos Mesófilos, Psicrótrópicos e Coliformes em diferentes amostras de produtos avícolas.** Arquivo do Instituto de biologia, São Paulo, v.72, n.3, p.303-307, 2005.

CEREDA, R.F. ***Enterococcus faecalis* resistant to vancomycin and teicoplanin (Van A phenotype) isolated from a bone marrow transplanted patient in Brazil.** Brazilian Journal Infections Diseases, v. 5, n. 1, p. 40-46, 2001.

CHAGAS, S. D.; IARIA, S. T. e CARVALHO, J. P. P. **Bactérias indicadoras de poluição fecal em águas de irrigação de hortas que abastecem o município de Natal – Estado do Rio Grande do Norte (Brasil).** Revista de Saúde Pública, São Paulo, v.15, n.6, 1981.

DICKENS, D. L.; DUPONT, H. L. e JOHNSON, P. C. **Survival of Bacterial Enteropathogens in the Ice of Popular Drinks.** JAMA, v.253, n.21, p. 3141-3143, 1985.

DOMINGUES, V. O.; TAVARES, G. D.; STUKER,F.; MICHELOT, T. M.; REETZ, L. G. B.; BERTONCHELI, C. M. e HORNER, R. **Contagem de bactérias heterotróficas na água**

para consumo humano : comparação entre duas metodologias. Revista do Centro de Ciências da Saúde, Santa Maria, v.33, p.15-19, 2007.

FALCÃO, J. P. **Análise revela contaminação do gelo por coliformes fecais e inúmeros microrganismos patogênicos,** UNESP, 2010. Disponível em: <<http://www.unesp.br/aci/jornal/153/pesquisa.htm>> Acesso em: 23 de maio de 2010.

FALCÃO, J. P.; DIAS, A. M. G.; CORREA, E. F. e FALCÃO, D. P. **Microbiological quality of ice used to refrigerate foods.** Food Microbiology, v. 19, p. 269-276, 2002.

FALCÃO, J. P.; FALCÃO, D. P. e GOMES. T. A.T. **Ice as a vehicle for diarrheagenic *Escherichia coli*.** International Journal of Food Microbiology, v. 91, p. 99-103, 2004.

FERREIRA JÚNIOR, L. G. **Monitoramento e avaliação da contaminação de água potável através do método do substrato definido-cromogênico a nível municipal do SUS.** 2002, 117p. Dissertação Mestrado, Fundação Oswaldo Cruz, Escola Nacional de Saúde Pública, Rio de Janeiro, 2002.

FEHD. FOOD AND ENVIRONMENTAL HYGIENE DEPARTMENT. **The Government of the Hong Kong Special Administrative Region. The Microbiological Quality of edible ice from ice manufacturing plants and retail businesses in Hong Kong.** Risk Assessment Studies Report N^o. 22. 2005. Disponível em: <http://www.cfs.gov.hk/english/programme/programme_rafs/files/edible_ice_ra.pdf> Acesso em: 20 de agosto de 2010.

FEHD. FOOD AND ENVIRONMENTAL HYGIENE DEPARTMENT. **The microbiological quality of ice used in drinking.** Risk Assessment Studies Report N^o 21. 2005. Disponível em: <<http://depts.washington.edu/einet>> Acesso em: 4 de novembro de 2009.

FSAI. FOOD SAFETY AUTHORITY OF IRELAND. **1st Quarter National Microbiological Survey (NS1): Microbiological quality of Ice for Cooling Drinks,** v.1, n.28. 2002. Disponível em: <http://www.fsai.ie/surveillance/food_safety/microbiological/icecooling_drinks.pdf> Acesso em: 20 de agosto de 2010.

FOULQUIÉ- MORENO, M.R.; SARANTINOPOULOS, P.; TSAKALIDOU, E. DEVUYST, L. **The role and application of enterococci in food and health.** International Journal of Food Microbiology, v.106, p.1-24, 2006.

GARBOGGINI, I. L. A. **Pesquisa de *Salmonella spp.*, *Campylobacter spp.*, Coliformes totais e *Escherichia coli* em águas de nascentes (bicas) em Piracicaba – SP.** 1999. 89p. Dissertação Mestrado - Faculdade de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ), Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1999.

GEUS, J. A. M. e LIMA, I. A. **Análise de coliformes totais e fecais: Um Comparativo entre técnicas oficiais VRBA e Petrifilm EC aplicados em uma indústria de carnes.** In: II Encontro de Engenharia e Tecnologia dos Campos Gerais, 2008.

GIAMPIETRO, A. e REZENDE-LAGO, N. C. M. **Qualidade do gelo utilizado na conservação de pescado fresco.** Arquivo do Instituto de Biologia, São Paulo, v.76, n.3, p.505-508, 2009.

GODOY, B. P.; BORRULLC, C.; PALÀC, M.; CAUBETC, I.; BACHA, P.; NUÍNA, C. e ESPINETA, L. **Brote de gastroenteritis por agua potable de suministro público.** Gaceta Sanitaria, v.17, n.3, p.204-209, 2003.

GOMES, B. C. **Enterococos em amostras de alimentos e águas: avaliação da virulência e do desempenho como indicadores de higiene.** 2007. 167p. Tese de doutorado Universidade de São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, São Paulo, 2007.

HAMEDY, A.; KHOSRAVI, A. e OMIDY, A. **Contamination of Ice and ice water by *Vibrio Cholera*, in different Regions of Mashad, Iran.** The Internet Journal of Infectious Diseases, v. 3, n. 2, 2004.

HARDIE, J. M. e WHILEY, R. A. **Classification and overview of the genera *Streptococcus* and *Enterococos*.** Journal of Applied Microbiology, v. 83, p. 1S-11S, 1997.

HÖRNER, R.; LISCANO, M. G. H.; MARASCHIN, M. M.; SALLA, A.; MENEGHETTI, B.; DAL FORNO, N. L. F. e RIGHI, R. A. **Suscetibilidade antimicrobiana entre amostras de *Enterococcus* isoladas no Hospital Universitário de Santa Maria.** Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial, v.41, n.6, 2005.

INGHAM, S. C. e SCHIMDT, D. **Alternative indicator bacteria analyses for evaluating the sanitary condition of beef carcasses.** Journal of Food Protection, v.63, p.51-55, 2000.

ISAAC-MARQUEZ, A. P.; LEZAMA-DAVILA, C. M.; KU-PECH, R. P. e TAMAY-SEGOVIA, P. **Calidad sanitaria de los suministros de agua para consumo humano en Campeche.** Salud Pública México, v. 36, p.655-661, 1994.

LATEEF, A.; OLOKE, J. K.; GUEGUIM, E. B. K. e PACHECO, E. **The Microbiological Quality of Ice Used to Cool Drinks and Foods in Ogbomoso Metropolis, Southwest, Nigéria.** Journal of Food Safety, v, 8, p. 39-43, 2006.

MACÊDO, J. A. B. **Águas & Águas.** Juiz de Fora - MG: ORTOFARMA. São Paulo: Varela, 2001. 504p.

MENDES, A. L. S. **Qualidade microbiológica do gelo para consumo em bebidas. Um estudo nos estabelecimentos das zonas balneárias do Porto.** 2009. 123p. Dissertação de Mestrado, Faculdade de Medicina Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, 2009.

MOYER, N. P.; BREUER, G. M.; HALL, N. H.; KEMP, J. L.; FRIELL, L. A.; RONALD, G. W. e HAUSLER, W. J. **Quality of Package Ice Purchased at Retail Establishments in Iowa.** Journal of Food Protection, v. 56, p.426-431, 1993.

NICHOLS, G.; GILLESPIE, I. e LOUVOIS, J. **The microbiological quality of ice used to cool drinks and ready-to-eat food from retail and catering premises in the United Kingdom.** Journal of Food Protection, v. 63, p.78-82, 2000.

OBIRI-DANSO, K.; OKORE-HANSON, A. e JONES, K. **The microbiological quality of drinking water sold on the streets in Kumasi, Ghana.** The Society for Applied Microbiology, Letters in Applied Microbiology, v.37, n. 4, p. 334-339, 2003.

OMS. ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. **Aspectos Microbiológicos. In: Guias para la calidad del agua potable.** 2 ed. Genebra: Organização Mundial de Saúde, v.1, cap.3, p.8-30, 1995.

OPS. ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD. **La salud y el ambiente en el desarrollo sostenible.** Publicación Científica, v.572, Washington, D.C. 2000.

PARADELLA, T. C.; KOGA-ITO, C. Y. e JORGE, A. O. C. ***Enterococcus faecalis*: considerações clínicas e microbiológicas.** Revista de Odontologia da UNESP, v. 36, n.2, p. 163-68, 2007.

PAWSEY, R. K. e HOWARD, P. **Drinking ice as a vector for gastrointestinal disease.** British Food Journal, v. 103, n. 4, p.253 –263, 2001.

PUPPO, C. F. M. **Qualidade higiênico-sanitária para a comercialização do pescado em peixarias do município de São Paulo.** 2009. Trabalho de conclusão do curso de Medicina Veterinária realizado no Centro Universitário FMU, Faculdades Metropolitanas Unidas – FMU, 2009.

RAMOS, G. D. M. **Avaliação da qualidade da água consumida pela população do distrito do Sana –Macaé -RJ.** 2008. Dissertação de mestrado. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro-Instituto de Tecnologia, 2008.

RESENDE, A. **perfil microbiológico da água mineral comercializada no Distrito Federal.** Revista Saúde e Biologia, v.3, n.2, p.16-22, 2008.

REYNOLDS, K. A.; MENA, K. D. e GERBA, C.P. **Risk of waterborne illness via drinking water in the United States.** Rev. Environmental Contamination Toxicology, v.192, p.117-58, 2008.

RODRIGUES NETO, A. A.; VASCONCELOS, U.; ALMEIDA, F. R. e CALAZANS, G. M. T. **Avaliação bacteriológica do gelo em pacote comercializado em Recife, PE.** Revista de Higiene Alimentar, v.23, p.172-175, 2009.

ROLIM, R. G. **Fatores relacionados ao uso e qualidade bacteriológica e físico-química das águas de poços e minas em propriedades rurais e peri-urbanas no município de Botucatu.** 2005. 92p. Dissertação mestrado, Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2005.

SADEGHI, G. H.; MOHAMMADIAN, M.; NOURANI, M. M. ; P EYDA, M. e SLAMI, A. E. **Microbiological Quality Assessment of Rural Drinking Water Microbiological Quality Assessment of Rural Drinking Water Supplies in Iran.** Journal of Agriculture & Social Sciences, 2006.

SÁNCHEZ-PÉREZ, H. J.; VARGAS-MORALES, M. G. e MÉNDEZ-SANCHEZ, J. D. **Sa calidad bacteriológica del agua para consumo humano em zonas de alta marginación de Chiapas.** Salud pública, México, v.42, n. 5, 2000.

SANT'ANA, A. S.; SILVA, S. C. F. L.; FARANI JR., I. O. ; AMARAL, C. H. R. e MACEDO, V. F. **Qualidade microbiológica de águas minerais.** Ciência e Tecnologia de Alimentos. Campinas, v.23, p.190-194, 2003.

SHAMSUDEEN, U.; BUKAR, A.; USMANAD, A. D.; KABIR, M. H. e ABDULMALIK, S. A. **Bacteriological quality of water used for ice making in some parts of Kano metropolis, Nigeria.** Bayero Journal of Pure and Applied Sciences, v.3, n. 1, p. 199 – 201, 2010.

SILVA, E. F. e SALGUEIRO, A. A. **Avaliação da qualidade bacteriológica de água de poços na região metropolitana de Recife – PE.** Revista Higiene Alimentar, São Paulo, v. 15, n.90/91, p.73-78, 2001.

SILVA, V. C.; NASCIMENTO, A. R.; MOURÃO, A. C.; NETO, S. V. C. e COSTA, F. N. **Contaminação por Contaminação por Enterococcus da água das praias do município de São Luís, Estado do Maranhão.** Acta Science Technology, Maringá, v. 30, n. 2, p. 187-192, 2008.

SOUZA, L. C. IARIA, S. T.; PAIM, G. V. e SOUZA, C. A. M. L. **Bactérias coliformes totais e coliformes de origem fecal em águas usadas na dessedentação de animais.** Revista Saúde pública, São Paulo, v.17, n.112-122, 1983.

TOGNERI, A. M.; CORSO, A.; GONZÁLEZ, J.; LOPARDO, H.; PODESTÁ, L. B.; GAGETTI, P.; PÉREZ, M.; RODRÍGUEZ, V.; RODRÍGUEZ, M.; RÍOS, L. e DINERSTEIN, E. **Análisis clínico-epidemiológico de la portación intestinal de enterococos resistentes a vancomicina en una unidad de terapia intensiva. Ciudad Autónoma de Buenos Aires.** Revista Argentina Microbiologica, v.37, n.1, 2005.

VIEIRA, R. H. F.; SOUZA, O. V. e PATEL, T. R. **Bacteriological quality of ice used in Mucuripe Market. Fortaleza, Brazil.** Food Control, Surrey, v. 8, n.2, p.83-85, 1997.

WILSON, I. G.; HOGG, G. M. e BARR, J. G. **Microbiological quality of ice in hospital and community.** Journal of Hospital Infection v.36, p.171-180, 1997.

WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Microbial facts sheets. In: Guidelines for drinking-water quality.** Geneva: World Health Organization, v.1, n.3, p.221-295, 2004. Disponível em: <<http://www.who.int/foodsafety/en/>> Acesso em: 1de outubro de 2010.

WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Programmers and projects.** Food safety. 2009. Disponível em: <<http://www.who.int/foodsafety/en/>> Acesso em: 1de outubro de 2010.

ANEXO

ANEXO A- Número Mais Provável (NMP) e intervalo de confiança a nível de 95% de probabilidade, para diversas combinações de tubos positivos e negativos na inoculação de 10 porções de 10 mL de amostra por tubo (Standard Methods for the examination of Water and Wastewater, 19.ed. APHA, AWWA, WEF, 1995).

Número de tubos positivos	NMP/100m L	Intervalo de confiança (95%) (valores aproximados)	
		Mínimo	Máximo
0	<1,1	0	3,0
1	1,1	0,03	5,9
2	2,2	0,26	8,1
3	3,6	0,69	10,6
4	5,1	1,3	13,4
5	6,9	2,1	16,8
6	9,2	3,1	21,1
7	12,0	4,3	27,1
8	16,1	5,9	36,8
9	23,0	8,1	59,5
10	>23,0	13,5	Infinito