

## Avaliação microbiológica da alimentação servida aos passageiros de um navio de cruzeiro na temporada 2009/2010. Detecção de *Bacillus cereus* em refeição à base de peixe

Microbiology evaluation of the meal served to passengers in a ship cruiser in the 2009/2010 season. Detection of *Bacillus cereus* in the fish-based meal

RIALA6/1331

Estevão de Camargo PASSOS\*, Ana Ruth Pereira de MELLO, Cícero Vagner de SOUSA, Ana Carolina Buchalla ALONSO, Eduardo GONZALEZ, Mário TAVARES

\*Endereço para correspondência: Núcleo de Ciências Químicas e Bromatológicas, Centro de Laboratório Regional de Santos, Instituto Adolfo Lutz. Rua Silva Jardim, 90, Vila Nova, Santos/SP, Brasil. CEP 11015-020. Fone (13) 3232-5112. E-mail: estevaopqc@yahoo.com.br

Recebido: 05.03.2010 – Aceito para publicação: 01.12.2010

### RESUMO

Em janeiro de 2010, foi realizada uma vistoria sanitária pelos técnicos da ANVISA, em um navio durante a escala no porto de Santos/SP, pela ocorrência de distúrbios gastrointestinais nos passageiros e tripulantes, após a escala em Búzios, RJ. Foram coletadas amostras dos alimentos preparados: ensopados de peixe, de carne, de frango e de porco; salada de batatas com maionese, saladas grega e mista com macarrão; molho de maionese com ketchup e amostras de água potável de cinco pontos. As amostras foram analisadas segundo as metodologias descritas no “Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods”, da American Public Health Association (2001) e “Standard Methods” (2005). Foi isolado *Bacillus cereus* no ensopado de peixe e coliformes a 35°C no reservatório de água potável do navio. Coliformes totais e termotolerantes, *Staphylococcus aureus* coagulase positiva, clostrídios sulfito redutores, *Bacillus cereus* e *Salmonella* spp não foram isolados dos demais alimentos, tampouco *Escherichia coli* das amostras de água. A ocorrência de *Bacillus cereus* no ensopado de peixe com valores acima do limite de tolerância estabelecido pela Resolução RDC nº 12/2001, da ANVISA/MS, pode ser a causa de surtos de toxinfecção alimentar nos passageiros e tripulantes de navios de cruzeiros.

**Palavras chaves.** alimentos, peixe, *Bacillus cereus*, água potável, coliformes, navio de cruzeiro.

### ABSTRACT

In January of 2010, ANVISA technicians carried out a sanitary inspection in a ship during the stopover at the port of Santos/SP due to an occurrence of gastroenteritis in the passengers and crew members after a stopover in the region of Buzios in Rio de Janeiro/RJ. They collected samples of the prepared foods: fish soup, mixed salad of pasta, meat soup, chicken soup, pork soup, potatoes salad with mayonnaise, mayonnaise and ketchup dressing and Greek salad, and samples of drink water from five sites. Conventional methodologies were used for analyzing the samples, according to Compendium of Methods for Microbiological Examination of Foods (American Public Health Association, 2001) and by Standard Methods (2005) recommendations. The results were analyzed following the Brazilian Ministry of Health legislation ANVISA RDC 12/2001 and Decree 518/2004. *Bacillus cereus* was isolated from fish soup meal and coliforms from drink water reservoir tank. The occurrence of these bacteria could be responsible for causing the food borne diseases in the passengers and crew members of the cruise ship.

**Key words.** food, fish, *Bacillus cereus*, drink water, coliforms, cruise ship.

## INTRODUÇÃO

Os navios de cruzeiros têm sido objeto de diversos estudos na ocorrência de surtos de doenças transmitidas por alimentos, como os descritos por Said et al<sup>1</sup> em 2009, que descreveram a associação de queijo não pasteurizado, patê e mariscos na transmissão de hepatite E; Rooney et al<sup>2</sup>, em 2004, revisaram os surtos ocorridos associados aos passageiros de cruzeiros, entre 1970 e 2003, identificaram a *Salmonella* spp como o agente patogênico mais frequente, seguida pela *E. coli*, *Shigella* spp, norovírus, *Vibrio* spp, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, os quais afetaram aproximadamente 10.000 pessoas; por Passos et al<sup>3</sup>, em 2008, que detectaram a presença de coliformes termotolerantes na salada de macarrão, e Verhoef et al<sup>4</sup>, em 2008, que associaram framboesas e água da torneira ao surto de norovírus.

Os alimentos preparados e processados nas cozinhas de estabelecimentos correm o risco de sofrerem contaminação a partir do ar do ambiente, das superfícies de bancadas e dos equipamentos utilizados; além disso, os manipuladores de alimentos, também, poderiam ser responsabilizados pela disseminação das bactérias patogênicas, como os trabalhos descritos por Soares et al<sup>5</sup> em dois restaurantes institucionais que verificaram a presença de *B. cereus*, potencialmente produtores de enterotoxinas, e Rodrigues et al<sup>6</sup> que observaram a ocorrência de intoxicação estafilocócica em restaurante institucional.

Segundo Zandonadi et al<sup>7</sup>, a prevenção da contaminação dos alimentos nos restaurantes “self-service” não é tarefa exclusiva dos manipuladores de alimentos, os consumidores também desempenham papel importante na cadeia analisada. Os consumidores devem ser conscientizados em suas atitudes de risco, uma vez que estes mantêm contato direto com os alimentos expostos no balcão de distribuição.

De acordo com Zandonadi et al<sup>7</sup>, nos surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA) a contaminação dos alimentos pode-se iniciar na produção da matéria-prima e se estende às etapas de transporte, recepção, armazenamento, e, durante a manipulação, pode haver contaminação por condições precárias de higiene de manipuladores, equipamentos, utensílios, ambiente e condições inadequadas de armazenamento dos produtos prontos para consumo. Ademais, observa-se também a falta de informação

desses profissionais quanto às normas de segurança alimentar na produção de refeições.

Em relação aos portos, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA<sup>8</sup> exerce o controle para tratar de assuntos internacionais na área de vigilância sanitária. Saliente-se que o fluxo de navios mercantes durante o ano todo é intenso, com chegadas e saídas diárias, e no tocante aos navios de cruzeiros, o fluxo é sazonal, iniciando-se nos meses de outubro e novembro, prolongando-se até abril, coincidindo com o inverno no hemisfério norte. Na temporada 2009/2010 estava prevista a atracação de 15 navios, com um total de 257 escalas, no porto de Santos, onde foram recebidos 820 mil passageiros, entre embarque, desembarque e trânsito no Terminal Marítimo de Passageiros Giusfredo Santini – CONCAIS<sup>9</sup> naquela temporada.

No dia 8 de janeiro de 2010, durante a temporada de 2009/2010 dos navios de cruzeiros no Brasil, técnicos da ANVISA do Posto Portuário de Santos/SP realizaram uma vistoria sanitária em um navio durante a escala no porto da mesma cidade, após a denúncia de alguns passageiros e tripulantes que relataram a ocorrência de distúrbios gastro-intestinais, como: vômitos, dores abdominais, cefaleia, diarreia, febre, náuseas, semelhantes à sintomatologia dos casos de doenças transmitidas por alimentos, durante a escala na região de Búzios no Rio de Janeiro.

O objetivo do presente trabalho foi realizar uma avaliação microbiológica de alimentos e água do navio de cruzeiro, envolvido em um provável surto de toxinfecção alimentar nos passageiros e tripulantes, ocorrido durante a viagem em janeiro de 2010.

## MATERIAL E MÉTODOS

Na vistoria sanitária pelos técnicos da ANVISA do Posto Portuário de Santos/SP foram colhidas amostras dos alimentos preparados: ensopados de peixe, de carne, de frango e de porco; saladas de batatas com maionese, grega, e mista com macarrão; molho de maionese com ketchup, além de amostras de água potável de cinco pontos: tanque reservatório, bebedouro do *buffet* dos passageiros nº 2, água de lavagem de verduras e frutas, ponto de oferta de lavagem de mãos da cozinha dos tripulantes e bebedouro dos tripulantes.

As amostras de alimentos e água foram transportadas à temperatura de refrigeração, em isopor contendo gelo reciclável, para o setor de

Microbiologia Alimentar, do Núcleo de Ciências Químicas e Bromatológicas, do Centro de Laboratório Regional de Santos, do Instituto Adolfo Lutz, onde foram registradas, identificadas, e mantidas à temperatura de refrigeração até a sementeira e inoculação nos meios de cultura apropriados.

Os alimentos e a água foram processados segundo a metodologia da American Public Health Association<sup>10</sup> e “Standard Methods”<sup>11</sup>; os resultados foram comparados segundo aos padrões microbiológicos estabelecidos pela Resolução RDC nº 12/2001<sup>12</sup> e Portaria nº 518/2004<sup>13</sup>, do Ministério da Saúde.

Foram pesquisados os bioindicadores de contaminação ambiental e fecal, coliformes a 35°C e coliformes termotolerantes, por meio da técnica do número mais provável (N.M.P.) para os alimentos; para a detecção de coliformes a 35°C e *Escherichia coli* nas amostras de água, foi empregada a técnica do substrato definido/presença ou ausência. Nos alimentos também foram pesquisados *Staphylococcus aureus* coagulase positiva, clostrídios sulfito redutores e *Bacillus cereus*, através da diluição de 25 g de amostra em 225 mL de diluente, seguido de plaqueamento de 0,1 ou 1 mL; portanto, os resultados foram referidos a 1g de amostra e expressos em UFC/g (Unidade Formadora de Colônia/grama); e a *Salmonella* spp através do método de presença ou ausência em 25 gramas da amostra.

## RESULTADOS

Os resultados das análises microbiológicas das amostras de alimentos e águas encontram-se descritos nas tabelas 1 e 2.

Foram pesquisados nos alimentos coliformes a 35°C e coliformes termotolerantes, *Staphylococcus aureus* coagulase positiva, clostrídios sulfito redutores, *Bacillus cereus* e *Salmonella* spp. Observa-se que no peixe ensopado foi detectada somente a presença de *Bacillus cereus*, com valor superior ao valor de tolerância aceito para amostra indicativa segundo a Resolução RDC 12/2001, da ANVISA/MS. As colônias isoladas apresentaram crescimento característico, coloração de Gram positivo bacilo esporulado, provas positivas para gelatinase, motilidade, hemólise e manitol. A cepa foi encaminhada ao Núcleo de Doenças Entéricas e Infecções por Patógenos Especiais, do Instituto Adolfo Lutz, que confirmou o diagnóstico bacteriológico. Nos outros alimentos, salada mista de macarrão, carne ensopada, frango ensopado, carne de porco ensopado, salada de batatas com maionese, molho de maionese com ketchup e salada grega não foram detectadas a presença desses agentes.

Em relação às amostras de água pesquisou-se a presença de coliformes a 35°C e *Escherichia coli* sendo detectado somente coliformes a 35°C no tanque do reservatório de água potável, contrariando os padrões microbiológicos da Portaria nº 518/2004.

**Tabela 1.** Resultados das análises de alimentos obtidas pela técnica do número mais provável, unidade formadora de colônia, presença/ausência em 25 gramas da amostra, coletados no navio durante a escala no porto de Santos/SP, em 2010

Amostra de alimentos	Coliformes termotolerantes (NMP/g) <sup>a</sup>	<i>Staphylococcus coagulase positiva</i> (UFC/g) <sup>b</sup>	<i>Bacillus cereus</i> (UFC/g)	Clostrídios sulfito-redutores (UFC/g)	<i>Salmonella</i> spp/25g (ausência/presença) <sup>c</sup>
Peixe ensopado com tomates	<3 <sup>d</sup> (20) <sup>e</sup>	<10 <sup>2</sup> (10 <sup>3</sup> )	>10 <sup>3</sup> (10 <sup>3</sup> )	<10 <sup>2</sup> (10 <sup>3</sup> )	ausência (ausência)
Salada mista com macarrão	4,3 (50)	<10 <sup>2</sup> (10 <sup>3</sup> )	<10 <sup>2</sup> (10 <sup>3</sup> )	NR <sup>f</sup>	ausência (ausência)
Carne ensopada	<3 (20)	<10 <sup>2</sup> (10 <sup>3</sup> )	<10 <sup>2</sup> (10 <sup>3</sup> )	<10 (10 <sup>3</sup> )	ausência (ausência)
Frango ensopado	<3 (20)	<10 <sup>2</sup> (10 <sup>3</sup> )	<10 <sup>2</sup> (10 <sup>3</sup> )	<10 (10 <sup>3</sup> )	ausência (ausência)
Carne de porco ensopado	<3 (20)	<10 <sup>2</sup> (10 <sup>3</sup> )	<10 <sup>2</sup> (10 <sup>3</sup> )	<10 (10 <sup>3</sup> )	ausência (ausência)
Salada de batata com maionese	<3 (10 <sup>2</sup> )	<10 <sup>2</sup> (10 <sup>3</sup> )	NR	NR	ausência (ausência)
Molho de maionese com ketchup	<3 (10)	NR	NR	NR	ausência (ausência)
Salada grega	43 (50)	<10 <sup>2</sup> (10 <sup>3</sup> )	<10 <sup>2</sup> (10 <sup>3</sup> )	NR	ausência (ausência)

<sup>a</sup>NMP: Número mais Provável/g., <sup>b</sup>UFC: Unidade formadora de colônias/g., <sup>c</sup>Metodologia para pesquisa de *Salmonella* em 25g da amostra: ausência/presença., <sup>d</sup>Resultados obtidos., <sup>e</sup>Valores de tolerância para amostra indicativa segundo a Resolução RDC 12/2001 da ANVISA/MS., <sup>f</sup>NR: não realizado por não ser exigido na Resolução RDC 12/2001 da ANVISA/MS.

**Tabela 2.** Resultados das análises das amostras de água obtidas pela técnica do substrato definido/presença ou ausência em 100 mL, coletadas no navio durante a escala no porto de Santos/SP, em 2010

Origem	Coliformes totais/100mL	<i>Escherichia coli</i> /100mL
Água casa das máquinas – tanque reservatório	Presença	Ausência
Bebedouro do <i>buffet</i> dos passageiros nº 2	Ausência	Ausência
Água de lavagem verduras e frutas	Ausência	Ausência
Ponto de oferta de lavagem de mãos da cozinha dos tripulantes	Ausência	Ausência
Bebedouro dos tripulantes	Ausência	Ausência

## DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

Os passageiros e tripulantes de navios de cruzeiros estão suscetíveis a adquirirem surtos de intoxicações alimentares provocados por agentes virais e bacterianos, o que tem sido objeto de estudos descritos por Cramer et al<sup>14</sup> e Cramer et al<sup>15</sup>.

Em terra firme, a ocorrência e a identificação dos agentes envolvidos em surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTA) têm sido observadas com certa frequência como os relatados por Soares et al<sup>5</sup> e Rodrigues et al<sup>6</sup>.

Segundo Zandonadi et al<sup>7</sup>, durante a manipulação dos alimentos pode haver contaminação por condições precárias de higiene de manipuladores, equipamentos, utensílios, ambiente e condições inadequadas de armazenamento dos produtos prontos para consumo, ressalta-se ainda que a contaminação dos alimentos pode-se iniciar na produção da matéria-prima e se estende às etapas de transporte, recepção, armazenamento e produção de refeições.

No presente trabalho, a presença de *Bacillus cereus* no ensopado de peixe e coliformes a 35°C na água potável do reservatório do navio, poderia servir como fonte disseminadora das doenças transmitidas por alimentos para os tripulantes, bem como para os passageiros do cruzeiro. Ressalta-se que os alimentos foram elaborados no dia da vistoria sanitária e, provavelmente, os alimentos devem ter sido consumidos no dia de embarque dos novos passageiros. Não houve posteriormente comunicação de novos surtos referente àquela embarcação.

Destaca-se que a pesquisa dos agentes envolvidos nas doenças transmitidas por alimentos deve ser realizada para pesquisa da presença de células viáveis, como na detecção da toxina elaborada pelos mesmos, como é o caso

do *Bacillus cereus* e *Staphylococcus coagulase positiva*, cujos sintomas apresentados pelas pessoas acometidas por toxinfecção alimentar são semelhantes.

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária exerce o controle na fiscalização e na qualidade sanitária a ser realizada nas embarcações de navios de passageiros e navios mercantes. O Regulamento Sanitário Internacional deverá abranger determinados procedimentos com a participação efetiva dos Laboratórios de Saúde Pública e apoio das Vigilâncias Epidemiológicas e Sanitárias dos municípios das regiões dos portos, aeroportos e fronteiras, das Secretarias Estaduais da Saúde, entre outros órgãos.

O Laboratório de Saúde Pública tem um papel fundamental na execução das metodologias empregadas na análise dos alimentos e água, complementando as ações de fiscalização da ANVISA por meio dos exames laboratoriais, e, no futuro, essas ações devem ser efetuadas rotineiramente em todos os portos brasileiros.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem aos técnicos da ANVISA do Posto Portuário de Santos/SP pelo apoio logístico na colheita das amostras e ao Núcleo de Doenças Entéricas e Infecções por Patógenos Especiais do Instituto Adolfo Lutz na identificação da cepa isolada.

## REFERÊNCIAS

1. Said B, Ijaz S, Kafatos G, Booth L, Thomas HL, Walsh A et al. Hepatitis E Outbreak on Cruise Ship. *Emerg Infect Dis*. 2009; 15(11):1738-44.

2. Rooney RM, Cramer EH, Mantha S, Nichols G, Bartram JK, Farber JM et al. A Review of Outbreaks of Foodborne Disease Associated with Passenger Ships: Evidence for Risk Management. *Public Health Rep*. 2004;119:427-34.
3. Passos EC, Mello ARP, Sousa CV, Silva CR, Paschoal RC, Tavares M. Avaliação microbiológica da alimentação servida aos tripulantes de um navio de cruzeiro ancorado no porto de Santos, São Paulo, em dezembro de 2007. *Bol Inst Adolfo Lutz*. 2008;18:47-8.
4. Verhoef L, Depoortere E, Boxman I, Duizer E, van Duynhoven Y, John Harris J et al. Emergence of New Norovirus Variants on Spring Cruise Ships and Prediction of Winter Epidemics. *Emerg Infect Dis*. 2008; 14(2):238-43.
5. Soares CM, Valadares GF, Azeredo RMC, Kuaye AY. Contaminação ambiental e perfil toxigênico de *Bacillus cereus* isolados em serviços de alimentação. *Ciêñ Rural, Santa Maria*. 2008;38(2):504-10.
6. Rodrigues KL, Moreira AN, Almeida ATS, Chiochetta D, Rodrigues MJ, Brod CS et al. Intoxicação estafilocócica em restaurante institucional. *Ciêñ Rural, Santa Maria*. 2004;34(1):297-9.
7. Zandonadi RP, Botelho RBA, Sávio KEO, Akutsu RC, Araújo WMC. Atitudes de risco do consumidor em restaurantes de auto-serviço. *Rev Nutr*. 2007;20(1):19-26.
8. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Institucional. Sobre a Anvisa. Apresentação. Brasília, 2008. [acesso 2008 Mar 17]. Disponível em [<http://www.anvisa.gov.br/institucional/anvisa/apresentacao.htm>].
9. Floriano, C. Estatísticas - Terminal Marítimo de Passageiros Giusfredo Santini Concais S.A. Relatório da temporada 2009-2010. Santos, 2010. [acesso 2010 Fev 17]. Disponível em [<http://www.concais.com.br/numeros.php>].
10. Downes FP, Ito K, editors. *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*. 4 ed. Washington: Edwards Brothers; 2001.
11. Eaton AE, Clesceri LS, Rice EU, Greenberg AE. *Standard Methods for the examination of water and wastewater*. 21 ed. Baltimore: United Book Press; 2005.
12. Brasil. Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. *Diário Oficial [da] Republica Federativa do Brasil*. Brasília, DF. 10 jan 2001. Seção 1, nº7-E. p. 45-53.
13. Brasil. Ministério da Saúde. Portaria nº 518, de 25 de março de 2004. Aprova a Norma de Qualidade da Água para Consumo Humano. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*, DF, 26 mar 2004. Seção 1, nº 59, p. 266-70.
14. Cramer EH, Blanton CJ, Blanton LH, Vaughan GH Jr, Bopp CA, Forney DL. Epidemiology of gastroenteritis on cruise ships, 2001-2004. *Am J Prev Med*. 2006;30(3):252-7.
15. Cramer EH, Gu DX, Durbin RE. Diarrheal Disease on Cruise Ships, 1990-2000 The Impact of Environmental Health Programs. *Am J Prev Med*. 2003;24(3):227-33.