



**Programa de pós-graduação *Stricto Sensu***  
**Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia de Alimentos**

*Campus Rio de Janeiro*

Débora Andrade de Moura

**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DO MATE VENDIDO NAS PRAIAS DA ZONA SUL DO  
RIO DE JANEIRO**

Rio de Janeiro - RJ

2018

Débora Andrade de Moura

**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DO MATE VENDIDO NAS PRAIAS DA ZONA SUL DO RIO DE JANEIRO**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos necessários para a obtenção do título de mestre em Ciências e Tecnologia de Alimentos, no programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia de Alimentos do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro (IFRJ).

Orientador: Professor Leonardo Emanuel de Oliveira Costa

Rio de Janeiro - RJ

2018

Ficha catalográfica elaborada por  
Sergio Pinheiro Rodrigues  
CRB7-3684

M929 Moura, Débora Andrade de.  
Avaliação microbiológica do mate vendido nas praias da zona sul do  
Rio de Janeiro / Débora Andrade de Moura. – Rio de Janeiro, 2018.  
51f. ; 21 cm.

Dissertação (Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia de  
Alimentos) – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio  
de Janeiro, 2018.

Orientador: Prof. Dr. Leonardo Emanuel de Oliveira Costa

1. Erva mate-análise microbiológica. I. Costa, Leonardo Emanuel  
de Oliveira. II. Nascimento, Janaina dos Santos. III. Título.

IFRJ/CMAR/CoBib

CDU 633.77

Débora Andrade de Moura

**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DO MATE VENDIDO NAS PRAIAS DA ZONA SUL DO RIO DE JANEIRO**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos necessários para a obtenção do título de mestre em Ciências e Tecnologia de Alimentos, no programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia de Alimentos do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro (IFRJ).

Data de aprovação: \_\_\_\_/05/2018

---

Professor Leonardo Emanuel de Oliveira Costa

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia – RJ

---

Professora Janaína dos Santos Nascimento

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia – RJ

---

Professora Hilana Ceotto Vigoder

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia – RJ

Rio de Janeiro - RJ

2018

## AGRADECIMENTOS

Agradeço,

Ao meu marido João Henrique, por seu amor, companheirismo, incentivo e principalmente pela paciência.

Ao meu filho Vicente, que ainda nem nasceu, mas que já me estimula a lutar com ainda mais garra pelos meus objetivos e pelo meu aperfeiçoamento tanto pessoal quanto profissional.

Ao meu cachorro Tronco, por sempre me receber com todo amor do mundo, e me confortar tantas vezes com seu amor incondicional.

Aos meus amigos e a minha família, pois muitas vezes me fiz ausente, privando-os e a mim mesma da convivência, companhia e presença e mesmo assim recebendo todo amor possível.

Ao meu orientador, Prof. Leonardo, pelos ensinamentos, pela paciência, pelo acolhimento e por me guiar e orientar na construção deste trabalho.

Aos professores do curso de Mestrado em Ciências e Tecnologia de Alimentos no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia (IFRJ), por todos os momentos vividos e por todos os ensinamentos compartilhados.

Ao Rennan, Camila e Carenn que me ajudaram a construir esse trabalho, agradeço pelo apoio, disponibilidade e comprometimento.

A Lygia Maria Paulo da Silva Braga, pelo apoio e contribuição no desenvolvimento desse trabalho.

Aos meus colegas do mestrado da turma de 2016 pela amizade e por compartilharem alegrias, sorrisos, assim como as dificuldades.

Sem vocês este trabalho não teria sido concluído, cada um teve sua importância para que eu pudesse chegar a este momento. Meu muito obrigado!

MOURA, Débora Andrade. AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DO MATE VENDIDO NAS PRAIAS DA ZONA SUL DO RIO DE JANEIRO. Dissertação apresentada para a obtenção do título de Mestre em Ciências e Tecnologia de Alimentos no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro (IFRJ). Programa de Pós-Graduação Profissional em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro (IFRJ), *Campus Maracanã*, Rio de Janeiro, RJ, 2018.

## RESUMO

O mate é uma bebida popular na cidade do Rio de Janeiro/RJ sendo vendida por ambulantes nas principais praias cariocas e já foi motivo de polêmica em períodos distintos e todas elas por questões sanitárias. Segundo a WHO, mais de 60% dos casos de doença veiculadas por alimentos ocorrem devido ao descuido higiênico-sanitário de manipuladores, do uso de técnicas inadequadas de processamento do alimento, e da deficiência de higienização e limpeza da estrutura e dos equipamentos utilizados no preparo dos alimentos. Desta forma objetivou-se com este trabalho avaliar a qualidade microbiológica do mate comercializado em tonéis nas praias cariocas. Para tal, foram realizadas a quantificação de coliformes termotolerantes e o isolamento de *Escherichia coli*, a quantificação de bactérias mesófilas aeróbias, a quantificação de bolores e leveduras, e a detecção da presença de *Salmonella*. As colônias típicas de *E. coli* e *Salmonella* foram identificadas utilizando-se o sistema Vitek2 de acordo com as recomendações do fabricante. Após a identificação, estes isolados foram submetidos ao teste de antibiograma. Ao todo foram analisadas 23 amostras de Mate. A contagem de bactérias mesófilas aeróbias variou de  $<1,0 \times 10^2$  UFC/mL a  $2,7 \times 10^7$  UFC/mL, sendo que apenas uma amostra apresentou valores acima do limite estabelecido pela WHO. A contagem de bolores e leveduras variou de  $1,1 \times 10^3$  UFC/mL a  $1,1 \times 10^6$  UFC/mL, sendo que 10 amostras (43%) encontravam-se acima do valor estipulado pela WHO. Para coliformes termotolerantes, 7 amostras (30%) se encontravam com limite acima do estabelecido na legislação vigente. No total, 12 amostras estariam fora da conformidade considerando os parâmetros da legislação brasileira e/ou WHO. Foram obtidos 97 isolados compreendendo 10 espécies de bactérias diferentes. A gram-negativa mais prevalente foi a bactéria *Klebsiella pneumoniae* (36%), seguida das bactérias do complexo *Enterobacter cloacae* (28%), *Klebsiella oxytoca* (13%) e *Raoutella planticola* (9%). Nenhuma das amostras apresentou bactérias do gênero *Salmonella* enquanto *E. coli* foi identificada em duas das 23 amostras analisadas. Em relação a resistência aos antibióticos, 81% dos isolados foram resistentes a ampicilina, seguidos da cefalotina (61%) e tobramicina (51%). Do total de 97 isolados, apenas cinco não apresentaram resistência a nenhuma classe de antibióticos, todos os demais apresentaram resistência a pelo menos um antibiótico, 16 isolados apresentaram resistência a uma classe, 24 isolados apresentaram resistência a duas classes de antibióticos e demais isolados (52) se mostraram multirresistentes apresentando resistência a pelo menos três classes de antibióticos. Podemos concluir que é necessária uma maior atenção das autoridades sanitárias na orientação, treinamento e fiscalização dos vendedores ambulantes visando garantir a segurança de alimentos e conseqüente saúde dos consumidores desses produtos. Além disso, o perfil de resistência aos antibióticos pode ser motivo de preocupação do ponto de vista da saúde pública uma vez que estas bactérias multirresistentes podem se instalar no intestino dos consumidores existindo a possibilidade de transferência dessa resistência para as bactérias da microbiota do consumidor.

**Palavras-chave:** erva-mate; análise microbiológica; multirresistência; antibióticos.

MOURA, Débora Andrade. AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DO MATE VENDIDO NAS PRAIAS DA ZONA SUL DO RIO DE JANEIRO. Dissertação apresentada para a obtenção do título de Mestre em Ciências e Tecnologia de Alimentos no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro (IFRJ). Programa de Pós-Graduação Profissional em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro (IFRJ), Campus Maracanã, Rio de Janeiro, RJ, 2018.

## ABSTRACT

Mate is a popular drink in the city of Rio de Janeiro/RJ that are being sold by street vendors in the main Carioca's beaches. In different periods of time the Mate selling by these street vendors are been controversial due to sanitary reasons According to the World Health organization (WHO), more than 60% of food-borne illness cases occur due to poor hygiene of food handlers, the use of inadequate food processing techniques, and the lack of hygiene and cleaning of the structure and equipment used in the preparation of food. Due to this, the main objective of these work was to evaluate the microbiological quality of the mate commercialized in barrels by street vendors in the Rio de Janeiro beaches. We analyzed 23 samples of Mate. For it sample we enumerated the number of thermotolerant coliforms, aerobic mesophilic bacteria, and yeast and molds. Also, we verified the presence of *Salmonella* and *Escherichia coli* in each sample. Typical colonies of *E. coli* and *Salmonella* were isolated and identified with vitek2 according to manufactures instructions. After the identification we carried out the antibiotic resistance profile of each isolate. The count of aerobic mesophilic bacteria ranged from  $<1.0 \times 10^2$  CFU/mL to  $2.7 \times 10^7$  CFU/mL, with only one sample showing values above the limit established by the WHO. The yeast and mold counts ranged from  $1.1 \times 10^3$  CFU/mL to  $1.1 \times 10^6$  CFU/mL, with 10 samples (43%) showing values above the limit established by the WHO. For thermotolerant coliforms, 7 samples (30%) had a limit higher than established in the Brazilian current legislation. In total, 12 samples would be out of compliance considering the parameters of the Brazilian legislation and/or WHO. We obtained 97 isolates from *Salmonella*'s and *E. coli*'s evaluation. The identifications of that isolates comprising 10 different species of bacteria. The most prevalent gram-negative was *Klebsiella pneumoniae* (36%), followed by *Enterobacter cloacae* complex (28%), *Klebsiella oxytoca* (13%) and *Raoutella planticola* (9%). None of the samples showed bacteria of the genus *Salmonella* while *E. coli* was identified in two of the 23 analyzed samples. Regarding antibiotic resistance, 81% of the isolates were resistant to ampicillin, followed by cephalothin (61%) and tobramycin (51%). Of the total of 97 isolates, only 5 showed no resistance to any class of antibiotics. From the 94 remaining isolates, 16 isolates presented resistance to 1 class of antibiotic, 24 isolates presented resistance to 2 classes of antibiotics and the remaining isolates (52) were considered multidrug resistance microorganism because presenting resistance to at least 3 classes of antibiotics. We can conclude that a greater attention of the sanitary authorities is needed to advice, training and supervise street vendors in Rio the Janeiro beaches is necessary to guarantee the safety of drinks and the consequent health of the consumers of these products. Also, the profile of resistance of antibiotics can be of health public concern because these microorganisms can be established in the consumer's guts and the possibility of transfer of these antibiotic resistance between these bacteria and the consumer's microbiota can occur.

**Keywords:** mate herb; microbiological analysis; multi-resistance; antibiotics.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	Fluxograma de processo para cancheamento e beneficiamento da erva-mate.	05
Figura 2	Etapas de cancheamento da erva-mate.	05
Figura 3	Venda do mate nas praias cariocas.	07
Figura 4	Flagrantes envolvendo a comercialização do mate.	08
Figura 5	Cultivo em meio sólido.	21
Figura 6	Proporção das espécies prevalentes na identificação dos 97 isolados obtidos da análise de <i>E. coli</i> e <i>Salmonella</i> provenientes das 23 amostras de Mate comercializados nas praias da Zona Sul do Rio de Janeiro.	27
Figura 7	Resistência dos 97 isolados obtidos das 23 amostras de Mate comercializados nas praias da Zona Sul do Rio de Janeiro	28
Quadro 1	Alguns micro-organismos patogênicos envolvidos em DTA.	09



## LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Composição de macronutrientes (g/100g) e valor energético (kJ/100g) da erva-mate.	04
Tabela 2	Quantificação microbiológica do mate comercializado nas praias da Zona Sul do Rio de Janeiro: quantificação de bactérias mesófilas, bolores e leveduras e de coliformes termotolerantes.	20
Tabela 3	Identificação e resultado do teste de susceptibilidade aos antimicrobianos dos 97 isolados obtidos das 23 amostras de chá mate comercializados nas praias da Zona Sul do Rio de Janeiro	22
Tabela 4	Porcentagem de estirpes resistentes aos antibióticos dos 97 isolados estudados neste trabalho.	28

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AMP	Ampicilina
CIP	Ciprofloxacina
CFL	Cefalotina
CLO	Cloranfenicol
COMLURB	Companhia de Limpeza Urbana
DTA	Doenças Transmitidas por Alimentos
EMB	Eosin Methylene Blue (Ágar Eosina Azul de Metileno)
EC	<i>E. coli</i>
ETEC	<i>E. coli</i> enterotoxígena
EPEC	<i>E. coli</i> enteropatogênica
EHEC	<i>E. coli</i> enterohemorrágica
EAEC	<i>E. coli</i> enteroagregativa
IPM	Imipenem
IRLF	Inspetorias Regionais de Licenciamento e Fiscalização
LST	Lauril Sulfato Triptose
NMP	Número Mais Provável
PCA	Plate Count Agar (Ágar Padrão para Contagem)
PDA	Potato Dextrose Agar (Ágar Batata Glicose)
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
RV	Rappaport Vassiliadis
SUT	Sulfametoxiazol + Trimetoprim
SC	Selenito Cistina
SEOP	Secretaria Municipal de Ordem Pública
TET	Tetraciclina
TOB	Tobramicina
TT	Tetrationato
UFC	Unidades Formadoras de Colônias
UPEC	<i>E.coli</i> uropatogenica
XLD	Deoxycholate-Lysine-Xylose Agar (Ágar Xilose-Lisina-Desoxicolato)
WHO	World Health Organization

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REFERENCIAL TEÓRICO .....	3
2.1. CARACTERIZAÇÃO DA “ERVA-MATE” e do “CHÁ MATE” .....	3
2.2. COMIDAS DE RUA .....	6
2.3. COMERCIALIZAÇÃO DO MATE NO RIO DE JANEIRO .....	7
2.4. DOENÇAS TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS (DTA) .....	9
2.5. ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS .....	10
2.5.1. Coliformes termotolerantes.....	10
2.5.2. Bactérias mesófilas aeróbias .....	11
2.5.3. <i>Salmonella spp.</i> .....	11
2.5.4. Bolores e leveduras.....	12
2.6. Resistência a antibióticos .....	12
3. JUSTIFICATIVA DO PROJETO.....	14
4. OBJETIVOS .....	15
4.1. OBJETIVO GERAL DO TRABALHO.....	15
4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	15
5. MATERIAIS E MÉTODOS .....	16
5.1. COLETA DAS AMOSTRAS .....	16
5.2. METODOLOGIA UTILIZADA PARA AS ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS .....	16
5.2.1. Diluição das amostras .....	16
5.2.2. Quantificação de coliformes termotolerantes e isolamento de <i>Escherichia coli</i> 17	
5.2.3. Quantificação de bactérias mesófilas aeróbias .....	17
5.2.4. Quantificação de bolores e leveduras.....	17
5.2.5. Detecção de <i>Salmonella spp.</i> .....	18
5.2.6. Identificação dos isolados.....	18
5.2.7. Perfil de resistência a antibióticos.....	18
6. RESULTADOS.....	20
6.1. Análises microbiológicas.....	20
6.1.1. Identificação dos isolados.....	22
6.1.2. Percentual de estirpes resistentes e percentual de resistência aos antibióticos.....	27
DISCUSSÃO.....	29
8. CONCLUSÃO.....	33
9. REFERÊNCIAS.....	34

## 1. INTRODUÇÃO

Segundo a Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) número 277, de 22 de setembro de 2005 (BRASIL, 2005), da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), erva-mate é o produto constituído por folhas e ramos da espécie *Ilex paraguariensis* St. Hil., através de processos como secagem e fragmentação e que irá ser destinado para preparação de bebidas como "chimarrão" ou "tererê" e ser adicionado de açúcares, ainda segundo esta resolução, se produzido exclusivamente com erva-mate pode ser designado apenas de "erva-mate" ou "mate".

O mate é uma bebida popular na cidade do Rio de Janeiro sendo vendida por ambulantes nas principais praias cariocas. O comércio ambulante nas ruas das grandes cidades é um fenômeno mundial e tem especial importância em países em desenvolvimento como o Brasil, onde se constitui em uma alternativa de sobrevivência para vários segmentos da população, principalmente os mais desfavorecidos. Em 2009 existiu a proibição da comercialização de mate em tonel nas praias cariocas pela prefeitura do Rio de Janeiro, o motivo seria apresentação de "questões sanitárias" (BBC do Brasil, 2018). No entanto, a popularidade da bebida, gerou protestos por parte não só dos ambulantes, mas também da população. Toda esta polêmica levou a regulamentação, hoje a atividade de vendedor ambulante de mate é registrada como bem cultural de natureza imaterial do Rio de Janeiro desde 2012 (Rio de Janeiro, 2012). Em 2014, uma nova polêmica surgiu quando um morador da zona sul do Rio de Janeiro flagrou vendedores de mate abastecendo seus tonéis com água da torneira de um jardim (Conexão Jornalismo, 2014).

A crescente demanda pelos serviços de alimentação fora do lar desde os anos 2000 traz a qualidade sanitária dos alimentos servidos como uma questão fundamental de saúde (BRUNH, 1997; DAMASCENO *et al.*, 2002; SOUZA *et al.*, 2015). O regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos no Brasil, também conhecido como a Resolução RDC nº 12 de 2 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001) estabelece para o chá e para produtos similares as análises obrigatórias de coliformes a 45,0°C, com limite máximo de 10<sup>3</sup> NMP/mL e a ausência de *Salmonella sp.* em 25 mL do produto. Neste sentido, procedemos com as análises microbiológicas obrigatórias para coliformes termotolerantes e *Salmonella sp.* Adicionalmente incluímos a avaliação de bactérias mesófilas aeróbias e de bolores e leveduras.

A avaliação de coliformes é um parâmetro importante para medir as condições sanitárias do processamento de alimentos e, conseqüentemente, a segurança alimentar dos produtos pois é um indicador bem conhecido de contaminação fecal (TERAMURA *et al.*, 2017), essas bactérias atualmente são as mais envolvidas em surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTA) no Brasil (BRASIL, 2017). A identificação das bactérias mesófilas

aeróbias também tem sido usada como indicador da qualidade higiênica-sanitária dos alimentos e da probabilidade de contaminação pós-processamento (GOMEZ *et al.*, 2012). A presença de bolores e leveduras nos alimentos é um risco à saúde pública, principalmente quando ocorrem espécies produtoras de toxinas, ou seja, micotoxigênicas, desta forma, a avaliação micológica de alimentos e ingredientes alimentares tornou-se rotina na garantia de qualidade dos alimentos (BEUCHAT e MANN, 2016). Em relação ao gênero *Salmonella*, sua presença em alimentos representa uma preocupação em todo o mundo, a salmonelose representa uma importante DTA que continua sendo uma ameaça importante para a saúde nos países em desenvolvimento e desenvolvidos (EFSA, 2010), sendo atualmente o segundo micro-organismo mais envolvido em surtos de doenças de origem alimentar no Brasil (BRASIL, 2017).

## 2. REFERÊNCIAL TEÓRICO

### 2.1. CARACTERIZAÇÃO DA “ERVA-MATE” e do “CHÁ MATE”

A erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hill) tem origem na América do Sul, ocorrendo naturalmente na Argentina, Uruguai, Brasil e Paraguai (VIEIRA *et al.*, 2010). Pertencente à família das aquifoliáceas, pode atingir de sete a quinze metros de altura, possuindo folhas em formato oval, frutos pequenos de cor verde ou vermelho arroxeado (NADOLNY, 2014). Esta erva é rica em saponinas, alcalóides, flavonóides, vitaminas, taninos e polifenóis (HECK & MEJIA, 2008; BRACESCO *et al.*, 2011), sendo as metilxantinas e os compostos fenólicos essenciais que conferem a capacidade antioxidante aos extratos de erva-mate (SOTO-VACA *et al.*, 2012). Um estudo feito por LIMA e colaboradores em 2017, demonstrou que os efeitos antioxidantes e protetores obtidos pela utilização do extrato do mate podem ser determinados por um componente específico ou pela ação sinérgica de seus diversos componentes.

Várias propriedades farmacológicas têm sido atribuídas à erva-mate tais como: perda de peso e retardamento do esvaziamento gástrico (ANDERSEN e FOGH, 2001); atividade semelhante à peroxidase (ANESINI *et al.*, 2006); atividade antioxidante (BASTOS *et al.* 2006; PAGLIOSA *et al.*, 2010) e atividade antifúngica (FILIP *et al.*, 2000). A cafeína é a metilxantina mais abundante na composição da erva-mate, estimula o sistema nervoso central, induz a diurese, estimula os músculos cardíacos e relaxa os músculos lisos (FREITAS *et al.*, 2011).

Alguns estudos atribuem aos extratos de erva-mate atividade antimicrobiana contra patógenos alimentares (MARTIN *et al.*, 2013; BURRIS *et al.*, 2015). Um estudo analisou a atividade antimicrobiana dos extratos etanólico e metanólico, a qual parece estar relacionada à presença de compostos derivados de ácido clorogênico (MARTIN *et al.*, 2013). Outro estudo analisou os efeitos da digestão e da fermentação *in vitro* da erva-mate preparada de acordo com as três formas mais comuns de consumo (chimarrão, tererê e mate) e constatou que apesar da diminuição do conteúdo de fitoquímicos as bebidas mantiveram suas propriedades funcionais como atividade antioxidantes e antibactericida após a digestão e fermentação no cólon intestinal (CORREA *et al.*, 2017).

SOUZA e colaboradores (2015), realizaram à caracterização nutricional da erva-mate em relação a planta inteira, as folhas, e as hastes. Os resultados são demonstrados na tabela abaixo (Tabela 1). Segundo esse estudo, as hastes apresentam o menor teor de gordura, proteínas e cinzas, no entanto, apresentam o maior conteúdo em carboidratos.

Tabela 1 - Composição de macronutrientes (g/100g) e valor energético (kJ/100g) da erva-mate.

Macronutriente	Planta inteira	Folhas	Hastes
Cinzas	6,00 ± 0,01	6,6 ± 0,1	4,5 ± 0,1
Proteínas	26 ± 1	26,1 ± 0,1	20,8 ± 0,4
Gorduras	4,5 ± 0,1	4,9 ± 0,1	1,7 ± 0,1
Carboidratos	63,5 ± 1	62,4 ± 0,1	73 ± 1
Valor energético	1666 ± 14	1668 ± 4	1637 ± 7

FONTE: SOUZA *et al* (2015).

Apesar da Argentina ser atualmente o maior exportador de erva-mate, e o Uruguai possuir o maior consumo per capita (MÁRQUEZ *et al.*, 2013), é o Brasil que possui o maior cultivo da erva. Os principais estados brasileiros produtores de erva-mate são: Mato Grosso do Sul, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul, sendo o Rio Grande do Sul o maior produtor nacional com uma produção média de 278.044 toneladas por ano no período de 2013 a 2015, seguido do Paraná (212.777), Santa Catarina (80.228) e Mato Grosso do Sul com 2.587 (IBGE, 2015).

O processamento da erva-mate (Figura 1) é feito através do cancheamento, operação que conta com as etapas de colheita, transporte, recepção, sapeco, secagem e trituração, após essas etapas a erva-mate está pronta para o beneficiamento (NADOLNY, 2014), algumas etapas do processamento são apresentadas na Figura 2.

Após beneficiamento, a erva-mate é utilizada para preparação de bebidas tradicionais e populares, sendo algumas delas conhecidas como: "chimarrão", preparada com folhas secas verdes e água quente, "tererê", preparado com folhas secas verdes e água fria, e "mate", preparado com folhas assadas e água quente. Dessa forma, as preparações feitas com a erva-mate podem ser consumidas como um típico chá quente ou sob forma de uma bebida refrescante (BRASIL, 2005).

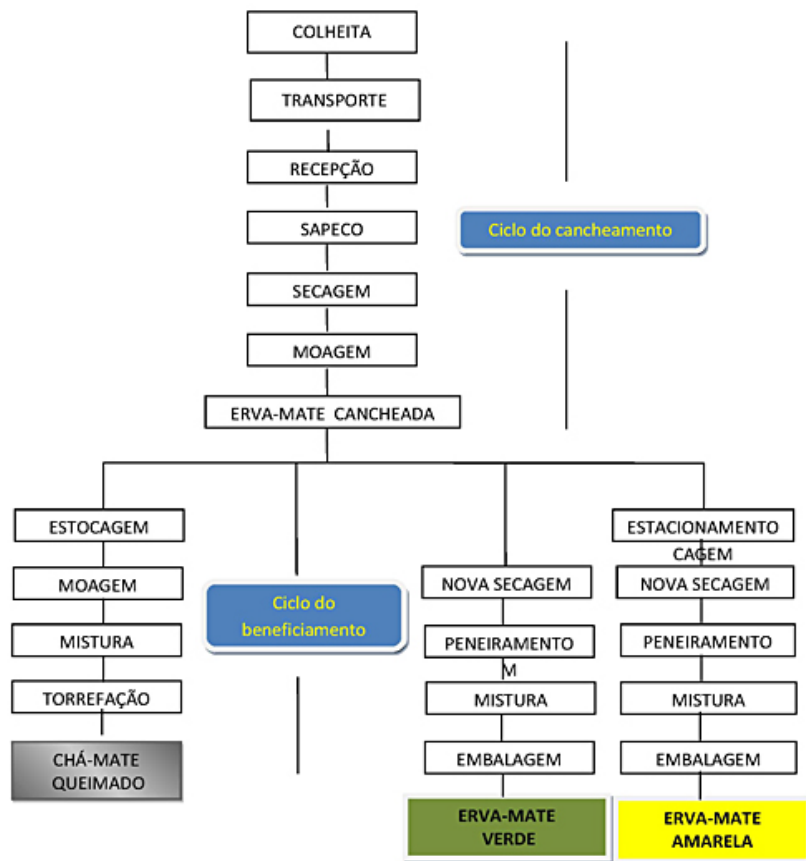


Figura 1 - Fluxograma para cancheamento e beneficiamento da erva-mate.



Figura 2. Etapas de cancheamento da erva-mate. A: Recebimento. B: Secagem. C: Sapecamento. D: Moagem. FONTE: Ervateira Taquapy (A); Maqui Ervas (B); Ervateira Sabatin (C); IB Equipamentos (D)



## 2.2. COMIDAS DE RUA

O crescimento e a expansão da indústria de alimentos e consequente aumento da venda de alimentos de rua, são atribuídos principalmente a questões socioeconômicas. Os alimentos comercializados na rua oferecem praticidade, variedade e baixo custo aos consumidores ao passo que geram emprego e renda aos que os comercializam. Fatores como a falta de infraestrutura, falta de conhecimento em segurança de alimentos e suas etapas (processamento, armazenamento, manipulação e transporte), falta e/ou baixa escolaridade dos manipuladores de alimentos, assim como, às condições insalubres de trabalho, fazem com que o consumo desses alimentos se torne uma preocupação no que diz respeito à segurança de alimentos (OMEMU e ANDEROJU, 2008; LUES e TONDER, 2008; FEGLO, 2012).

Os vendedores ambulantes ficam estrategicamente posicionados aonde o fluxo de pessoas é mais intenso, como calçadas, pontos de ônibus, trens e metrô, áreas próximas a instalações industriais, escolas e eventos (SOUZA *et al.*, 2015). Particularmente no Rio de Janeiro – RJ, por ser uma cidade turística e costeira é possível observar a grande venda de alimentos de forma informal na extensão das praias cariocas, principalmente na zona sul da cidade.

Estudos demonstram que o consumo de alimentos de rua no Brasil contribui para um número significativo de intoxicações e elevada contaminação microbiológica, sendo identificadas a presença de micro-organismos como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens* e *Salmonella spp.* (BREZOVSKY *et al.*, 2016; SILVA *et al.*, 2015; PEREIRA-SANTOS *et al.*, 2012; SERENO *et al.*, 2011; PRADO *et al.*, 2010).

Segundo a World Health Organization (WHO, 2015) os alimentos de rua são um risco para a população pois expõem as pessoas a doenças de natureza microbiológica. Desta forma, bilhões de pessoas são expostas a cada ano e milhões destas ficam doentes acarretando muitos óbitos como resultado do consumo de comida insegura. Muitos são os fatores que devem ser considerados para análise dos perigos causados por alimentos de rua, dentre eles, podem ser citados a manipulação inadequada dos alimentos, o material utilizado para armazenamento do alimento pronto e o transporte até o local de venda. A água utilizada, também se caracteriza como uma etapa crítica, pois quando contaminada, pode ser veículo para enteropatógenos como *E.coli*, *Salmonella spp.* entre outros (MUGAMPOZA *et al.*, 2013; RANE, 2011). Um estudo conduzido por Souza *et al.* 2015 em alimentos de rua comercializados na cidade de Uberaba (MG), revelou condições higiênico-sanitárias insatisfatórias e risco de contaminação dos alimentos disponíveis para venda. Os manipuladores não apresentavam conhecimento suficiente sobre segurança alimentar,

englobando fatores de higiene pessoal e cuidados na preparação e armazenamento dos alimentos.

### 2.3. COMERCIALIZAÇÃO DO MATE NO RIO DE JANEIRO

No Rio de Janeiro, a comercialização do mate é feita em diversas esferas, podendo ser encontrado desde estabelecimentos como restaurantes, lanchonetes, padarias ou quiosques, através do processamento no próprio estabelecimento, em mercados, sob a forma industrializada pronta para consumo, até a venda informal por vendedores ambulantes nas praias cariocas. O comércio ambulante no Rio de Janeiro é entendido como o exercício de atividade econômica em área pública como vias de circulação, calçadas, praças, parques e praias, essa definição é dada pela Secretária Municipal de Ordem Pública (SEOP). Este comércio é feito a título precário, ou seja, pode ser revogado a qualquer tempo, havendo motivo que o justifique. Para realizar o pedido de concessão do título basta preencher o requerimento de forma presencial nas Inspetorias Regionais de Licenciamento e Fiscalização (IRLF) de acordo com a Lei nº 1876, de 29 de junho de 1992 e Decreto nº 31519 de 9 de dezembro de 2009.

A comercialização do chá mate em praias cariocas, é típica e tradicional e ocorre há mais de 40 anos. Os ambulantes utilizam roupas customizadas e levam o mate em galões apoiados nos ombros (Figura 3).



Figura 3 – Venda do mate nas praias cariocas. A: Vendedor ambulante de mate nas praias do Rio de Janeiro (RJ) há 40 anos atrás. FONTE: William Douglas (27/04/2010). B: Vendedor ambulante de mate nas praias do Rio de Janeiro (RJ) nos dias atuais (29/12/2014). FONTE: O Globo.

Em 2012 a venda de mate nas praias cariocas tornou-se um “patrimônio imaterial cultural” apesar das polêmicas envolvendo essa prática (Jornal Extra, 2010; Rio de Janeiro, 2012). No ano de 2014, uma polêmica foi gerada referente ao processamento do produto, nesta ocasião um morador do bairro Ipanema na zona sul do Rio de Janeiro flagrou vendedores de mate abastecendo seus tonéis com água da torneira de um jardim conforme é demonstrado na figura 4. A (Conexão Jornalismo, 2014). Segundo a legislação a água para fabricação de bebidas, incluindo os chás, deve atender ao padrão oficial de potabilidade (BRASIL, 2009). Ainda em 2014 (agosto), uma operação realizada pela SEOP com apoio da COMLURB (Companhia de Limpeza Urbana) encontrou um depósito clandestino utilizado por vendedores ambulantes em Copacabana, zona sul do Rio de Janeiro. Nesta ação, os agentes encontraram dentre diversos alimentos comercializados na rua, seis galões de mate e materiais para o preparo deste produto armazenados em um banheiro alugados sobre um vaso sanitário, além de diversos materiais em desuso, é possível visualizar a falta de higiene das instalações na figura 4 - B.



Figura 4. Flagrantes envolvendo a comercialização do mate. A: Vendedores ambulantes abastecendo galões de mate com água da torneira de um jardim em Ipanema, zona sul do Rio de Janeiro/RJ. FONTE: Conexão Jornalismo (03/01/2014) - B: SEOP encontra depósito ilegal de comida de rua em Copacabana (Rio de Janeiro/RJ). FONTE: SEOP (27/07/2016)

Apesar da situação de comercialização desses vendedores ser precária e insalubre, isso não o exime de oferecer alimentos seguros do ponto de vista microbiológico. Segundo a legislação para chás (RDC 263 de 2005), os produtos devem ser obtidos, processados, embalados, armazenados, transportados e conservados em condições que não produzam,

desenvolvam e/ou agreguem substâncias físicas, químicas ou biológicas que coloquem em risco a saúde do consumidor.

## 2.4. DOENÇAS TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS (DTA)

A RDC n°. 12 de 2 de janeiro de 2001 define como DTA aquela que foi causada pela ingestão de um alimento contaminado por um agente infeccioso específico, ou pela toxina por ele produzida. São síndromes geralmente constituídas por sintomas como dores estomacais, náuseas, vômitos e/ou diarreia, acompanhadas ou não de febre, esses sintomas podem ocorrer de forma mais repentina (entre 24 e 72 horas após a ingestão do alimento contaminado) ou de forma mais tardia, levando dias ou até semanas para se manifestar (WHO, 2006), podem ocorrer ainda, outros sintomas não digestivos, envolvendo outros órgãos e sistemas como por exemplo, rins, fígado, sistema nervoso central, entre outros. São causadas não somente por bactérias, mas também por toxinas produzidas por bactérias, por vírus, por parasitas e por substâncias tóxicas como metais pesados e agrotóxicos (BRASIL, 2006). O quadro 2.5 apresenta alguns micro-organismos patogênicos envolvidos em DTA.

	<b>INFECÇÕES</b>	<b>TOXIINFECÇÕES</b>	<b>INTOXICAÇÕES</b>
<b>Micro-organismos</b>	<i>Salmonella spp.</i> <i>Shigella spp.</i> <i>Yersinia enterocolitica</i> <i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Escherichia coli</i> <i>enterotoxigênica</i> <i>Vibrio cholerae</i> <i>Vibrio parahaemolyticus</i> <i>Clostridium perfringens</i> <i>Bacillus cereus</i> (cepa <i>diarreica</i> )	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Bacillus cereus</i> (cepa <i>emética</i> ) <i>Clostridium botulinum</i>
<b>Sintomas</b>	Diarreias frequentes e sem volume, contendo sangue e pus Dores abdominais intensas Febre e desidratação leve	Diarreia intensa, sem sangue ou leucócitos Febre discreta ou ausente Desidratação	Vômitos

QUADRO 1 – Alguns micro-organismos patogênicos envolvidos em DTA. FONTE: BRASIL, 2010.

Fatores intrínsecos como pH, umidade, nutrientes e extrínsecos como temperatura de armazenamento e transporte, contribuem para o crescimento de micro-organismos nos

alimentos. A contaminação de um alimento pode ocorrer durante o processamento, por uso de recipientes e utensílios sujos, por uso de água não tratada e pelos próprios manipuladores através de contaminação cruzada. Para os imunodeprimidos, doentes, idosos, crianças e grávidas as consequências das doenças de origem alimentar são, geralmente, mais graves e por muitas vezes, fatais (BRASIL, 2010; WHO, 2006). No caso do mate comercializado por ambulantes, não sabemos ao certo como esse produto é produzido, visto que cada ambulante pode fazer a produção da bebida em local desconhecido. O transporte, fator de extrema importância nesse processo também é desconhecido.

Segundo a World Health Organization (WHO), entre 2007 e 2015, nos quase 600 milhões de casos de doença ocorridos no mundo, os agentes causadores de DTA foram responsáveis por 230 mil dos 420 mil óbitos, sendo que dentre estes, a *S. enterica* não tifoide respondeu por 59.000 óbitos, *E. coli* enteropatogênica (EPEC) por 37.000 óbitos e a *E. coli* enterotoxigênica (ETEC) por 26.000 óbitos (WHO, 2015). No Brasil, os registros para DTA's apontaram 683 surtos com 11.635 pessoas doentes em 2007, esse valor declinou em 2016 para 543 surtos com 9.907 pessoas doentes, sendo a região Sudeste a que apresentou ao longo dos anos a maior ocorrência desses surtos, e a diarreia o sintoma mais prevalente (BRASIL, 2017).

## **2.5. ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS**

Alimentos ofertados a população devem estar dentro dos limites de segurança oferecidos para que o seu consumo seja seguro. O objetivo em atender a estes aspectos é evitar que os alimentos ofereçam risco à saúde humana (BRASIL, 2005). O regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos no Brasil, também conhecido como a RDC nº. 12 de 2 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001) estabelece para chá e produtos similares as análises obrigatórias de coliformes a 45,0°C/g e a análise de *Salmonella sp.* em 25 mL do produto, o limite de detecção para coliformes a 45°C é de 10<sup>3</sup>/UFC/mL e para *Salmonella sp.* é ausência em 25,0 mL do produto. Esta resolução não estabelece outros parâmetros a serem investigados no produto em questão. Já a WHO indica que os chás devem possuir no máximo 10<sup>7</sup>/UFC/mL bactérias mesófilas aeróbias e no máximo 10<sup>4</sup>/UFC/mL bolores e leveduras (WHO, 1998).

### **2.5.1. Coliformes termotolerantes**

Conforme definição encontrada na RDC 12 de 2001, a denominação de "coliformes a 45,0°C" é equivalente à denominação de "coliformes de origem fecal" e de "coliformes termotolerantes". A maioria dos coliformes é encontrada no meio ambiente e possuem limitada relevância higiênica. Por serem destruídos com certa facilidade pelo calor, a contagem dessas bactérias pode ser útil em testes de contaminações pós-processamento (FORSYTHE, 2002). Trata-se de um grande grupo de gram-negativos, não esporulados, em forma de bastonete, que pertencem a família *Enterobacteriaceae*. São resistentes a altas temperaturas, capazes de crescer e fermentar a lactose a 45,0°C, podemos citar entre estes as bactérias *Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.* e *Citrobacter spp.* (PARUCH e MAHLUM, 2012). A *Escherichia coli* é uma bactéria comumente encontrada no trato gastrointestinal de humanos e animais e embora desempenhe papéis importantes na promoção da estabilidade da microbiota luminal e na manutenção da homeostase intestinal normal, algumas linhagens tem a capacidade patogênica para causar doenças diarreicas e extra intestinais significativas. Linhagens patogênicas de *E. coli* aumentam a incidência de morbidade e mortalidade em todo o mundo. A *E. coli* é uma bactéria membro da família *Enterobacteriaceae*, Gram-negativa, em forma de haste com flagelos peritriquios, não formadora de esporos, podendo ser imóvel ou móvel, aeróbia ou anaeróbia, com temperatura ótima de crescimento de 37°C, catalase positiva e oxidase negativa. Suas doses infectantes variam de acordo com o tipo de cepa e com a idade do indivíduo exposto a mesma (BIEN *et al.*, 2012; CROXEN *et al.*, 2013). Encontrada em grande quantidade no intestino grosso, possui diversas linhagens: *E. coli* enterotoxigênica (ETEC), *E. coli* enteropatogênica (EPEC), *E. coli* enteroinvasiva (EIEC), *E. coli* enterohemorrágica (EHEC), *E. coli* enteroagregativa (EAEC) e *E. coli* uropatogênica (UPEC) (CROXEN, 2013).

### **2.5.2. Bactérias mesófilas aeróbias**

O grupo das bactérias mesófilas aeróbias consegue se multiplicar entre 10°C e 45°C, sendo a temperatura ideal a 30°C. Contagens elevadas de bactérias aeróbias mesófilas em alimentos indicam condições higiênico-sanitárias insatisfatórias, também são utilizadas para fornecer uma ideia sobre o tempo útil de conservação dos alimentos (REIS *et al.*, 2013, SILVA, 2012). Correspondem a grande maioria daqueles de importância em alimentos, todas as bactérias patogênicas de origem alimentar são mesófilas, alguns exemplos desse grupo são *Proteus*, enterococos e *Pseudomonas* (FRANCO e LANDGRAF, 2005).

### **2.5.3. *Salmonella spp.***

O gênero *Salmonella* pertence à família *Enterobacteriaceae* e compreende bacilos Gram-negativos, anaeróbias facultativas, não produtores de esporos e em formato de bastonetes (DOMINGO *et al.*, 2014). São relativamente resistentes ao calor, porém são caracterizadas como mesófilas com temperatura de crescimento ótimo entre 35°C e 37°C, a maioria é produtora de gás, H<sub>2</sub>S, lisina e ornitina descarboxilase, são urease e indol negativas e reduzem nitrato a nitrito (OLIVEIRA *et al.*, 2011).

A *Salmonella* tornou-se uma das principais causas de DTA's em todo o mundo se tornando grande preocupação de saúde pública, a intoxicação por *Salmonella* pode afetar qualquer pessoa, especialmente os com imunidade enfraquecida (BAJPAI *et al.*, 2012). A salmonelose representa uma importante doença transmitida por alimentos que continua a representar uma ameaça importante e inaceitável para o ser humano (CARRASCO *et al.*, 2011).

#### **2.5.4. Bolores e leveduras**

Esses micro-organismos possuem interesse não somente na área de microbiologia como também na indústria de alimentos. São organismos eucariotas, heterotróficos, divididos em bolores e leveduras. Se proliferam com facilidade por serem mais tolerantes a fatores extremos como baixos valores de atividade de água, pH e temperatura (MOSS, 2000). Bolores e leveduras são um importante grupo de microorganismos na indústria de alimentos, sendo amplamente dispersos e encontrados em vários ambientes. As leveduras são importantes pois fermentam alimentos como pães, cerveja e vinho, geralmente associadas a fermentação de açúcares como glicose e sacarose, mas podendo fermentar uma variedade de outros compostos como álcoois, ácidos orgânicos e hidrocarbonetos. Já os bolores, são organismos aeróbicos e precisam de oxigênio para crescer, estando geralmente confinados as superfícies dos alimentos, sendo utilizados na fabricação de queijos, como os queijos brie, camembert e azul (BETTS, 2013).

#### **2.6. Resistência a antibióticos**

Segundo a World Health Organization (2017), os antibióticos são medicamentos utilizados para tratar infecções bacterianas. A resistência a antibióticos ocorre quando as bactérias conseguem modificar seus mecanismos de resistência em resposta ao uso desses antibióticos tornando-os menos eficazes, essas bactérias tornam-se então resistentes. Um

dos problemas envolvendo a resistência a antibióticos é a forma como os mesmos são prescritos e utilizados, muitas vezes é possível comprar os antibióticos sem receita, da mesma forma, muitos são prescritos em excesso por profissionais de saúde. Desde 2015 ocorre a Semana Mundial de Conscientização sobre Antibióticos, e algumas entidades internacionais já foram formadas no sentido de encontrar soluções para o problema, podemos citar: o Sistema Global de Vigilância de Resistência Antimicrobiana (GLASS), a Parceria Global de Pesquisa e Desenvolvimento de Antibióticos (GARDP), o Grupo de Coordenação Interinstitucional sobre Resistência Antimicrobiana (IACG).

A resistência pode ser inerente a bactéria, ou seja, característica de todos os isolados da espécie, ou adquirida. A resistência adquirida ocorre quando bactérias ganham os genes que codificam um mecanismo de resistência via mutação ou transferência de material genético de outras bactérias, da mesma espécie ou de espécies diferentes, essa transferência pode ocorrer por conjugação, transdução ou transformação. O antibiograma é um método microbiológico empregado para se determinar a resistência de um micro-organismo a antibióticos específicos (OLIVEIRA *et al.*, 2014). Um número que não para de crescer de infecções não tratáveis e a diminuição da eficácia dos regimes de antibióticos levarão ao aumento da morbidade e mortalidade (MACGOWN e MACNAUGHTON, 2017).



### 3. JUSTIFICATIVA DO PROJETO

A comercialização do mate gelado com ou sem suco de limão se tornou patrimônio cultural das praias cariocas. O grito do ambulante carregando os dois tonéis, um com o mate e o outro com o suco de limão já é marca registrada das praias cariocas (Rio de Janeiro, 2012).

O mate nas praias cariocas já foi proibido devido à falta de higiene e falta de treinamento na manipulação de alimentos por parte dos ambulantes que comercializam o produto. A falta de higiene na manipulação de produtos alimentícios pode torná-los impróprios para o consumo humano. A inobservância das boas práticas na manipulação de alimentos pode expô-lo à contaminação por micro-organismos do ambiente e por micro-organismos presentes na mão dos manipuladores. Segundo a WHO, mais de 60% dos casos de doença veiculadas por alimentos ocorrem devido ao descuido higiênico-sanitário de manipuladores, do uso de técnicas inadequadas de processamento do alimento, e da deficiência de higienização e limpeza da estrutura e equipamentos utilizados (WHO, 2009).

Atualmente, os ambulantes possuem título de vendedores ambulantes e teoricamente foram treinados com boas práticas de manipulação (BPF) dos alimentos. As praias cariocas são diariamente frequentadas por turistas do mundo inteiro além dos próprios cariocas e brasileiros de todas as regiões do país. Garantir a segurança dos alimentos comercializados nestas praias é fundamental.

O intuito desse trabalho foi verificar se o mate comercializado nas praias cariocas é uma bebida segura do ponto de vista microbiológico, neste caso, se atende aos parâmetros estabelecidos na legislação vigente para chás obtidos por processamento térmico e se está próprio a ser consumido pela população.

## **4. OBJETIVOS**

### **4.1. OBJETIVO GERAL DO TRABALHO**

Avaliar a qualidade microbiológica do mate comercializado em tonéis por ambulantes nas praias da Zona Sul do Rio de Janeiro, e determinar o perfil de resistência das bactérias isoladas.

### **4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Quantificar os coliformes termotolerantes;
- Isolar e identificar a *E.coli*;
- Quantificar as bactérias mesófilas aeróbias, bolores e leveduras;
- Pesquisar a presença de *Salmonella spp.* e em caso positivo, identificá-la;
- Verificar o perfil de resistência aos antibióticos das bactérias isoladas;
- Avaliar a qualidade microbiológica do mate frente à legislação brasileira.

## **5. MATERIAIS E MÉTODOS**

### **5.1. COLETA DAS AMOSTRAS**

As amostras de mate foram adquiridas de forma aleatória (uma de cada vendedor ambulante) nas praias da Zona Sul do Rio de Janeiro (RJ). O período de maio a julho de 2017. De cada vendedor ambulante foi adquirido uma amostra de 200 mL de mate, sendo adquiridas em copo descartável fornecido pelo vendedor, para realização das análises microbiológicas. Cada uma dessas amostras foi vertida e armazenada em um frasco graduado esterilizado e armazenado em bolsa térmica devidamente higienizada. As amostras foram transportadas para o Laboratório de Microbiologia do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro (*Campus Maracanã* - Rio de Janeiro) onde foram processadas.

### **5.2. METODOLOGIA UTILIZADA PARA AS ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS**

Foram utilizadas as metodologias de contagem em placas e a técnica de número mais provável segundo a Instrução Normativa 62 (Brasil, 2003) para análises iniciais das amostras (BRASIL, 2003). Para as amostras que apresentaram crescimento de colônias típicas em meio EMB e em meios específicos para *Salmonella spp.* foi feito isolamento e posteriormente técnica de esgotamento. Para identificação das bactérias isoladas foi utilizado o equipamento VITEK® 2 Compact (bioMérieux Diagnostics Inc., Durham, NC, Estados Unidos) através de colaboradores parceiros na Seção de Esterilidade, Processos e Insumos (SEPIN)/Laboratório de Controle Microbiológico (LACON)/DEQUA/VQUAL/BIO-MANGUINHOS na Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ).

#### **5.2.1. Diluição das amostras**

Para cada amostra de mate foi retirada uma alíquota de 25,0 mL a qual foi adicionada à 225 mL de água peptonada a 0,1% referente a diluição  $10^{-1}$ , dessa diluição foi retirado 1 mL e adicionado a 9 mL de água peptonada a 0,1% para diluição  $10^{-2}$  e assim sucessivamente até a obtenção da diluição  $10^{-5}$ , conforme metodologia recomendada na Instrução Normativa 62 (Brasil, 2003). Essas diluições seriadas foram utilizadas para análises microbiológicas de coliformes termotolerantes, bolores e leveduras e bactérias mesófilas aeróbias conforme descritas a seguir.

### **5.2.2. Quantificação de coliformes termotolerantes e isolamento de *Escherichia coli***

De acordo com a Instrução Normativa 62 (BRASIL, 2003) foi realizada a determinação do número mais provável (NMP) de coliformes termotolerantes através da técnica de tubos múltiplos. Desta forma, foi realizado a adição de 1,0 mL da amostra nas diluições sucessivas (0,1; 0,01 e 0,001) em triplicata, em tubos contendo 10 mL de caldo de enriquecimento Lauril Sulfato Triptose (LST) munidos de tubos de Durham invertidos os quais posteriormente foram incubados a  $37,0 \pm 1,0$  °C por 24 horas. Os tubos de LST que foram positivos (apresentaram turvação e presença de gás) foram transferidos para tubos contendo caldo E.C. munidos de tubos de Durham invertidos para a determinação de coliformes termotolerantes, os quais foram incubados em banho-maria (marca Quimis, modelo Q304M-2105,160 W) a  $44,5 \pm 0,5$  °C por 24h a 48h. Foram considerados para contagem do número mais provável os tubos que apresentaram turvação e presença de gás. Os resultados foram expressos em NMP/mL através da utilização da tabela de número mais provável. Os tubos positivos de coliformes termotolerantes (caldo E.C.) foram estriados por alça em placas contendo ágar eosina azul de metileno (EMB), as quais foram incubadas invertidas em estufa a  $37,0 \pm 1,0$  °C por 24 horas.

### **5.2.3. Quantificação de bactérias mesófilas aeróbias**

De acordo com a Instrução Normativa 62 (Brasil, 2003) foi realizada a determinação do número de bactérias mesófilas aeróbias. Desta maneira, a amostra foi diluída em água peptonada estéril (até a diluição  $10^{-5}$ ) e cada diluição foi plaqueada pelo método de “*spread plate*”: 0,1 mL de cada diluição (em duplicata) foi transferido para meio já solidificado ágar padrão para contagem (PCA). Com o auxílio de alça de *Drigalski* ou bastão do tipo *hockey*, o inóculo foi cuidadosamente espalhado por toda a superfície do meio, até sua completa absorção, as placas foram então invertidas a  $37,0 \pm 1,0$  °C, a contagem de colônias foi realizada após 48 horas de incubação. O resultado foi expresso em UFC/mL.

### **5.2.4. Quantificação de bolores e leveduras**

De acordo com a Instrução Normativa 62 (Brasil, 2003) foi realizada a determinação do número de bolores e leveduras. Desta maneira, a amostra foi diluída em água peptonada estéril (até a diluição  $10^{-5}$ ) e cada diluição plaqueada pelo método de “*spread plate*”: 0,1 mL de cada diluição (em duplicata) transferido para meio já solidificado ágar batata glicose (PDA)

2,0 % pH 3,5 (ajustado com ácido tartárico) para contagem. A contagem de colônias foi realizada entre 5 e 7 dias de incubação a  $25,0 \pm 1,0$  °C. O resultado foi expresso em UFC/mL.

#### **5.2.5. Detecção de *Salmonella* spp.**

De acordo com a Instrução Normativa 62 (Brasil, 2003) foi realizada a determinação da presença de *Salmonella* spp. em 25,0 mL de amostra. Desta forma, foi realizado o pré-enriquecimento em água peptonada estéril 1,0 % (25,0 mL de amostra em 225,0 mL de água peptonada). Após a incubação de 20 horas a  $37,0 \pm 1,0$  °C foi realizado o enriquecimento seletivo inoculando 1,0 mL das amostras nos meios líquidos: caldo selenito-cistina (SC) e caldo tetracionato (TT) e 0,1 mL em caldo rappaport-vassiliadis (RV). Os enriquecimentos seletivos de RV e TT foram incubados em banho-maria (marca Quimis, modelo Q304M-2105,160 W) a  $41,0 \pm 0,5$  °C por 24 a 30 horas, enquanto o enriquecimento SC foi incubado a  $36,0 \pm 1,0$  °C por 24 a 30 horas. Posteriormente, o isolamento de *Salmonella* foi realizado nos seguintes meios de cultura: ágar XLD, ágar Rambach, ágar bismuto sulfito e ágar *Salmonella Shigella* (SS) a  $37,0 \pm 1,0$  °C por 24 horas.

#### **5.2.6. Identificação dos isolados**

Após obtenção das colônias típicas para *E. coli* (escuras com brilho verde metálico) no ágar EMB e colônias típicas para *Salmonella* spp. (rosa) no ágar Rambach e escuras com brilho metálico no ágar bismuto sulfito, foi feito processo de purificação através de uma colônia isolada que foi selecionada e semeada em ágar nutriente e incubada a  $37,0 \pm 1,0$  °C por 24 horas. Em seguida, foi feito o crescimento de massa para posterior armazenamento em glicerol (mantido em congelador a -20°C). Ao todo foram obtidas 97 colônias típicas que se apresentaram como bactérias Gram-negativas pelo método de Gram. Estes isolados foram ativados em TSA a 37°C por 24 horas. Após a ativação foi preparada uma suspensão bacteriana em um tubo de acrílico contendo 3,0 mL de solução salina estéril a 0,85% (*Air Life™ Sodium Chloride Inhalation Solution – Care Fusion*). Os isolados foram identificados utilizando o equipamento VITEK® 2 Compact (bioMérieux Diagnostics Inc., Durham, NC, Estados Unidos) na Seção de Esterilidade, Processos e Insumos (SEPIN)/Laboratório de Controle Microbiológico (LACON)/DEQUA/VQUAL/BIO-MANGUINHOS na Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), de acordo com as instruções do fabricante.

#### **5.2.7. Perfil de resistência a antibióticos**

Para determinação do perfil de resistência aos antibióticos foi utilizada a técnica de difusão a partir de disco, conforme as recomendações do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (2012). Foram utilizados os seguintes antibióticos: ampicilina (AMP), ciprofloxacina (CIP), cefalotina (CFL), cloranfenicol (CLO), imipenem (IPM), tetraciclina (TET), tobramicina (TOB) e sulfametoxiazol + trimetoprim (SUT). A escolha dos antibióticos foi feita com base nas tabelas disponíveis no manual M02-A11 (CLSI, 2012). Após o período de incubação de 24 h a 37,0°C, avaliou-se o diâmetro das zonas de exibição.

## 6. RESULTADOS

### 6.1. Análises microbiológicas

Foram avaliadas 23 amostras de chá mate vendidos por ambulantes nas praias da zona sul do Rio de Janeiro-RJ. A legislação (Resolução RDC nº 12 de 2 de janeiro de 2001) não apresenta valores de referência para bactérias mesófilas aeróbias totais assim como para bolores e leveduras, dessa forma, utilizamos como padrão os valores estipulados pela WHO, a qual estabelece, que para chás feito de plantas, a tolerância de micro-organismos aeróbios é de  $10^7$  UFC/mL e para bolores e leveduras a tolerância é de  $10^4$  UFC/mL (WHO, 1998).

Os resultados para as bactérias mesófilas aeróbias totais são evidenciados na tabela 2. A contagem de bactérias mesófilas aeróbias variou de  $<1,0 \times 10^2$  UFC/mL (amostra I) a  $2,7 \times 10^7$  UFC/mL (amostra J). Apenas a amostra J (4,35%) apresentou valores acima do limite estabelecido pela WHO ( $10^7$  UFC/mL) para esse grupo de bactérias.

Os resultados para bolores e leveduras são evidenciados na Tabela 2. A contagem de bolores e leveduras variou de  $1,1 \times 10^3$  UFC/mL (amostra V) a  $1,1 \times 10^6$  UFC/mL (amostra J), do total de amostras. Quarenta e três por cento das amostras (10 amostras) encontravam-se acima do valor estipulado pela WHO ( $10^4$  UFC/mL).

Para coliformes termotolerantes, sete amostras (30%) se encontravam acima do limite estabelecido na legislação vigente ( $10^3$ /mL) (Tabela 2), apresentando valores iguais ou maiores que 1.100 NMP/mL.

Todos os tubos com caldo E.C. positivos foram semeados em Agar BEM. Destes, 17 amostras (74%) demonstraram a formação de colônias escuras com brilho verde metálico típicas de *E. coli* (Figura 5) e 36% das amostras apresentaram colônias roxas atípicas (Figura 5).

Para *Salmonella spp.* das 23 amostras, 17 (74%) apresentaram colônias típicas no meio ágar Rambach, as quais exibiam cor rosa (Figura 5), e no meio ágar bismuto sulfito, onde apresentavam cor escura com brilho metálico (Figura 5).

Tabela 2 - Quantificação microbiológica do mate comercializado nas praias da Zona Sul do Rio de Janeiro: quantificação de bactérias mesófilas, bolores e leveduras e de coliformes termotolerantes.

Amostras	Bactérias mesófilas aeróbias (UFC/ml)	Bolores e leveduras (UFC/ml)	Coliformes termotolerantes (NMP/ml)
A	$1,5 \times 10^3$	<b><math>4,8 \times 10^4</math></b>	9,2
B	$2,5 \times 10^3$	$1,3 \times 10^3$	3,6

C	$9,9 \times 10^4$	$6,7 \times 10^4$	460
D	$1,1 \times 10^5$	$1,5 \times 10^5$	>1100
E	$1,0 \times 10^3$	$3,0 \times 10^3$	3,6
F	$1,4 \times 10^3$	$5,9 \times 10^4$	43
G	$9,3 \times 10^4$	$1,1 \times 10^6$	>1100
H	$1,1 \times 10^5$	$8,0 \times 10^4$	>1100
I	$<1,0 \times 10^2$	$8,9 \times 10^4$	3,6
J	$2,7 \times 10^7$	$1,1 \times 10^6$	20
L	$2,7 \times 10^3$	$1,1 \times 10^3$	3,6
M	$4,0 \times 10^3$	$8,0 \times 10^3$	150
N	$1,5 \times 10^3$	$1,8 \times 10^3$	23
O	$1,6 \times 10^3$	$2,5 \times 10^3$	>1100
P	$4,1 \times 10^4$	$5,0 \times 10^3$	>1100
Q	$9,0 \times 10^3$	$1,4 \times 10^3$	11
R	$9,5 \times 10^3$	$1,0 \times 10^3$	21
S	$2,7 \times 10^4$	$5,5 \times 10^3$	93
T	$1,1 \times 10^5$	$1,4 \times 10^3$	43
U	$4,8 \times 10^4$	$1,6 \times 10^3$	93
V	$4,2 \times 10^4$	$1,1 \times 10^3$	150
X	$1,7 \times 10^5$	$6,4 \times 10^4$	>1100
Z	$5,6 \times 10^4$	$3,3 \times 10^5$	1100

Os resultados em destaque, representam as amostras com valores acima da legislação e/ou da literatura.



Figura 5. Cultivo em meio sólido. A: colônias típicas de *E.coli* em ágar EMB. B: colônias atípicas em ágar EMB. C: colônias típicas de *Salmonella* spp. em ágar Rambach. D: colônias típicas de *Salmonella* spp. em ágar bismuto sulfito.



### 6.1.1. Identificação dos isolados

Foram obtidos 97 isolados das análises microbiológicas a partir de colônias típicas para *Salmonella spp* e *E.coli*. A identificação detalhada dos 97 isolados pode ser visualizada na Tabela 3. A figura 6 apresenta a distribuição quantitativa das bactérias identificadas nas amostras, sendo que, a gram-negativa mais prevalente foi a bactéria *Klebsiella pneumoniae* (36%), seguida das bactérias *Enterobacter cloacae complex* (28%), *Klebsiella oxytoca* (13%) e *Raoutella planticola* (9%).

Não foram identificados isolados de *Salmonella*. Duas amostras apresentaram presença de *E.coli* (amostras M e G), o que demonstra uma contaminação de origem fecal dessas amostras, indicando más práticas de higiene na fabricação e manipulação desses produtos. Dessas duas amostras, a amostra G estava em desacordo com a legislação para quantificação de coliformes termotolerantes (acima de 10<sup>3</sup>/mL), enquanto a amostra M, apresentou um valor dentro do aceitável (150 NMP/mL).

A prevalência de termotolerantes nos isolados corrobora com os resultados encontrados nas análises de termotolerantes feitas neste estudo.

Tabela 3. Identificação e resultado do teste de susceptibilidade aos antimicrobianos dos 97 isolados obtidos das 23 amostras de chá mate comercializados nas praias da Zona Sul do Rio de Janeiro

Amostra	Código do isolado	Isolados	AMP	IPM	CLO	CFL	CIP	TOB	TET	SUT
A	1101	<i>Pantoea spp.</i> 98%	I	S	S	R	S	R	S	S
A	1BS	<i>Klebsiella pneumoniae pneumoniae</i> 98%	R	S	S	R	S	S	S	S
B	2BS	<i>Klebsiella pneumoniae pneumoniae</i> 94%	R	R	R	R	R	R	R	R
C	2RA	<i>Klebsiella oxytoca</i> 98%	R	R	S	I	I	S	S	S
C	3101	<i>Pantoea spp.</i> 90%	R	I	I	R	R	R	S	I
C	3102	<i>Enterobacter cloacae complex</i> 95%	R	S	S	X	S	S	S	S
C	3103	<i>Klebsiella pneumoniae pneumoniae</i> 99%	R	R	S	I	R	R	R	I
C	2RA	<i>Klebsiella pneumoniae pneumoniae</i> 99%	I	S	S	S	S	S	R	R
D	3BS	<i>Enterobacter cloacae complex</i> 98%	R	S	S	R	S	S	S	S

D	3BS	<i>Enterobacter cloacae</i> complex 98%	R	R	R	R	I	R	S	S
E	4102	<i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>pneumoniae</i> 99%	R	I	R	R	R	R	S	R
E	4103	<i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>pneumoniae</i> 98%	I	S	S	R	S	S	S	S
E	5103	<i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>pneumoniae</i> 98%	R	R	S	R	R	I	I	S
F	5BS	<i>Enterobacter cloacae</i> complex 98%	R	S	S	I	I	S	S	S
F	5RA	<i>Enterobacter cloacae</i> complex 98%	R	I	S	S	S	S	R	R
F	6101	<i>Enterobacter cloacae</i> complex 98%	I	I	S	R	S	S	S	S
G	6BS	<i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>pneumoniae</i> 98%	R	S	S	S	S	R	S	S
G	6BS	<i>Escherichia coli</i> 99%	I	S	S	S	S	S	S	S
G	6RA	<i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>pneumoniae</i> 97%	R	R	S	S	S	I	S	S
H	7101	<i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>pneumoniae</i> 98%	R	S	S	S	S	S	R	R
H	7RV	<i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>pneumoniae</i> 97%	R	R	I	I	S	R	S	S
I	7SC	<i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>pneumoniae</i> 97%	R	R	S	I	I	S	R	S
I	8101	<i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>pneumoniae</i> 98%	R	S	S	S	I	S	S	S
J	8TT	Low discrim: <i>Enterobacter</i> complex 51%/ <i>asburiae</i> 49%	R	R	S	R	I	R	I	S
J	9101	Low discrim: <i>Enterobacter</i> complex 51%/ <i>asburiae</i> 49%	R	I	S	R	S	R	S	S
J	9RV	<i>Enterobacter cloacae</i> complex 98%	R	S	S	R		S	S	S
J	10103	<i>Enterobacter amnigenus</i> 1 99%	R	S	S	R	S	S	R	S
J	10RV* *	<i>Serratia marcescens</i> 99%	R	I	S	R	I	R	S	S
L	10RV* *	<i>Enterobacter cloacae</i> complex 98%	R	S	S	R	S	S	S	S

<b>M</b>	11101	<i>Klebsiella pneumoniae pneumoniae 97%</i>	R	R	S	I	I	R	R	I
<b>N</b>	12102	<i>Klebsiella pneumoniae pneumoniae 96%</i>	R	R	I	R	R	R	I	R
<b>N</b>	12103	<i>Klebsiella pneumoniae pneumoniae 96%</i>	I	S	S	R	S	R	S	S
<b>N</b>	12SC	<i>Klebsiella pneumoniae pneumoniae 97%</i>	R	S	S	I	S	S	S	S
<b>N</b>	13102	<i>Klebsiella pneumoniae pneumoniae 97%</i>	R	R	R	I	R	R	I	R
<b>O</b>	13RA	<i>Enterobacter aerogenes 97%</i>	R	S	S	R	S	R	S	R
<b>O</b>	13SS	<i>Klebsiella pneumoniae pneumoniae 98%</i>	R	R	I	R	R	R	R	I
<b>O</b>	13XLD	<i>Klebsiella pneumoniae pneumoniae 98%</i>	R	S	S	S	S	S	R	R
<b>O</b>	14101	<i>Enterobacter aerogenes 98%</i>	R	R		R	I	S	S	I
<b>O</b>	14101	<i>Enterobacter aerogenes 98%</i>	R	R	I	R	I	R	I	S
<b>O</b>	14101	<i>Enterobacter aerogenes 98%</i>	R	R	S	R	R	S	S	I
<b>O</b>	14102	<i>Klebsiella pneumoniae pneumoniae 96%</i>	R	R	S	I	I	R	I	S
<b>O</b>	14102	<i>Enterobacter aerogenes 98%</i>	R	R	I	R	R	S	R	R
<b>P</b>	14NT	<i>Klebsiella oxytoca 93%</i>	R	I	S	R	I	R	S	S
<b>P</b>	14RV	<i>Klebsiella pneumoniae pneumoniae 96%</i>	R	R	S	S	S	S	S	S
<b>P</b>	14XLD	<i>Klebsiella oxytoca 93%</i>	R	R	R	R	R	R	S	I
<b>P</b>	15102	<i>Enterobacter cloacae complex 96%</i>	R	S	S	R	S	S	S	S
<b>P</b>	15102	<i>Klebsiella pneumoniae pneumoniae 92%</i>	R	R	R	R	R	R	S	S
<b>P</b>	15103	<i>Klebsiella pneumoniae pneumoniae 97%</i>	R	I	R	R	R	R	R	R
<b>P</b>	15103	<i>Klebsiella pneumoniae pneumoniae 96%</i>	R	R	S	R	I	R	R	I
<b>Q</b>	15RA	<i>Enterobacter cloacae complex 99%</i>	R	I	S	R	R	R	R	R
<b>Q</b>	15SS	<i>Enterobacter cloacae complex 98%</i>	R	S	S	R	S	S	S	S
<b>Q</b>	15XLD	<i>Klebsiella pneumoniae pneumoniae 98%</i>	R	S	S	S	S	S	S	S

Q	16101	<i>Klebsiella pneumoniae pneumoniae 85%</i>	I	S	S	S	I	S	S	S
Q	16103	<i>Klebsiella pneumoniae pneumoniae 98%</i>	R	R	S	R	I	R	S	R
Q	16NTS S	<i>Klebsiella pneumoniae pneumoniae 98%</i>	I	S	S	I	I	R	R	S
R	16NTX LD	<i>Enterobacter cloacae complex 98%</i>	R	R	R	R	I	R	R	I
R	16TSC	<i>Enterobacter cloacae complex 98%</i>	R	S	S	S	I	S	S	S
R	16TTT	<i>Klebsiella pneumoniae pneumoniae 96%</i>	I	S	S	R	S	R	S	S
R	17101	<i>Enterobacter cloacae complex 98%</i>	R	I	S	R	R	R	R	R
R	17101	<i>Enterobacter cloacae complex 97%</i>	R	S	S	R	S	I	S	S
R	17101	<i>Enterobacter cloacae complex 98%</i>	R	S	S	S	I	S	S	S
R	17102	<i>Klebsiella pneumoniae pneumoniae 96%</i>	R	I	S	S	I	R	S	R
R	17102	<i>Enterobacter cloacae complex 97%</i>	R	R	S	R	R	R	S	R
R	17102	<i>Klebsiella pneumoniae pneumoniae 97%</i>	S	S	S	S	S	R	S	S
R	17NTS S	<i>Klebsiella pneumoniae pneumoniae 97%</i>	R	S	S	R	S	S	R	R
S	17NTX LD	<i>Raoutella planticola 99%</i>	R	I	I	R	R	R	R	R
S	17RVT	<i>Klebsiella oxytoca 92%</i>	I	S	S	R	S	S	S	S
S	17RVT	<i>Raoutella planticola 99%</i>	I	S	R	R	R	R	S	S
S	18101	<i>Raoutella planticola 99%</i>	I	S	S	S	S	S	S	S
S	18101	<i>Raoutella planticola 97%</i>	I	S	S	R	S	S	S	S
S	18102	<i>Klebsiella pneumoniae pneumoniae 98%</i>	R	S	S	I	I	S	S	S
S	18102*	<i>Klebsiella pneumoniae pneumoniae 98%</i>	I	S	S	S	S	S	S	S
T	18NTS S	<i>Raoutella planticola 99%</i>	R	S	S	S	S	R	S	S
T	18TRV	<i>Raoutella planticola 99%</i>	R	S	S	S	I	S	S	S

T	18TSC	<i>Klebsiella oxytoca</i> 99%	I	S	S	R	R	S	R	S
T	19101 T	<i>Klebsiella oxytoca</i> 99%	R	S	S	R	S	S	S	S
U	19101 T*	<i>Raoutella planticola</i> 99%	I	S	S	R	I	R	I	S
U	19101 T**	<i>Klebsiella oxytoca</i> 99%	R	S	S	R	S	S	S	S
U	19RVT	<i>Klebsiella oxytoca</i> 99%	S	S	S	S	I	S	S	S
U	19RVT	<i>Klebsiella oxytoca</i> 99%	I	S	S	S	I	R	S	S
U	20101 T	<i>Klebsiella oxytoca</i> 99%	R	S	S	S	I	R	S	S
V	20101 T	<i>Raoutella planticola</i> 99%	R	S	S	S	S	S	S	S
V	20101 T	<i>Klebsiella oxytoca</i> 99%	R	S	S	S	S	S	R	S
V	20RVT	<i>Klebsiella oxytoca</i> 99%	R	S	S	R	S	S	S	S
V	20RVT *	<i>Klebsiella oxytoca</i> 99%	R	S	S	R	I	S	S	S
X	21101 T	<i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>pneumoniae</i> 93%	R	R	S	R	R	R	S	R
X	21101 T	<i>Enterobacter cloacae</i> complex 98%	R	R	S	R	I	S	I	S
X	21BS	<i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>pneumoniae</i> 97%	R	R	R	R	R	R	I	I
X	21RVT	<i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>pneumoniae</i> 95%	R	R	R	I	R	R	R	S
X	21RVT *	<i>Enterobacter cloacae</i> complex 98%	R	R	R	R	I	R	S	I
X	22101 T	<i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>pneumoniae</i> 98%	R	I	S	R	S	R	S	S
Z	22102 T	Low discrim: <i>Klebsiella pneumoniae pneumoniae</i> 50%/ <i>Raoutella planticola</i> 50%	R	R	S	R	R	R	S	I
Z	22103 T	Low discrim: <i>Klebsiella pneumoniae pneumoniae</i> 50%/ <i>Raoutella planticola</i> 50%	R	I	I	R	R	R	R	R
Z	22103 T	Low discrim: <i>Klebsiella pneumoniae pneumoniae</i> 50%/ <i>Raoutella planticola</i> 50%	R	R	I	I	R	R	S	I

Z	22RVT	<i>Enterobacter cloacae complex</i> 92%	R	I	S	R	I	R	S	R
Z	22SCT	<i>Klebsiella pneumoniae pneumoniae</i> <i>pneumoniae</i> 97%	R	R	S	R	I	R	S	S
Z	23103 T	<i>Enterobacter cloacae complex</i> 99%	R	R	S	R	S	I	S	I

Antibióticos: AMP= ampicilina, IPM= imipenem, CLO= cloranfenicol, CFL= cefalotina, CIP = ciprofloxacina, TOB = tobramicina, TET= tetraciclina e SUT= sulfametoxazol-trimetropim; resultado do teste de resistência: R = Resistente, S = Sensível e I = Intermediário.

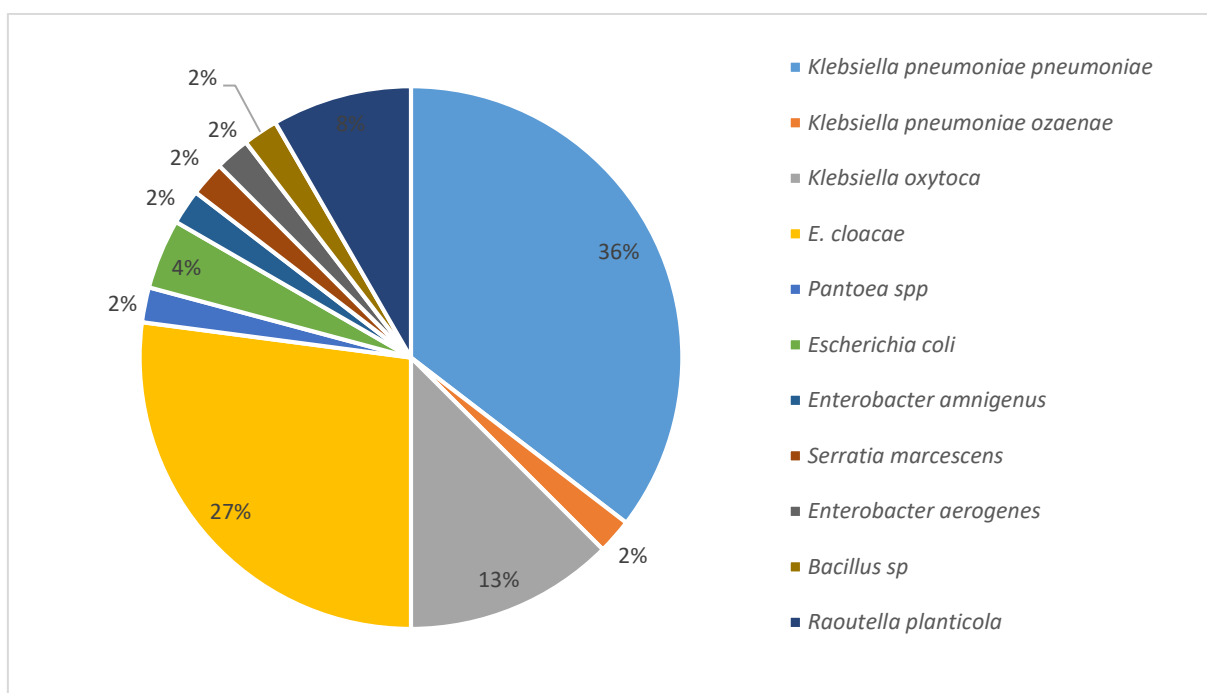


Figura 6. Proporção das espécies na identificação dos 97 isolados obtidos da análise de *E. coli* e *Salmonella* proveniente das 23 amostras de Mate comercializados nas praias da Zona Sul do Rio de Janeiro.

### 6.1.2. Percentual de estirpes resistentes e percentual de resistência aos antibióticos

Os isolados obtidos foram analisados quanto a sua resistência a diferentes classes de antibióticos. A tabela 4, traz a porcentagem dos isolados a cada antibiótico utilizado. Neste estudo, 81% dos isolados foram resistentes a ampicilina, seguidos da cefalotina (61%) e tobramicina (51%).

Tabela 4 – Porcentagem de estirpes resistentes aos antibióticos dos 97 isolados estudados neste trabalho.

CLASSES DE ANTIBIÓTICO	ANTIBIÓTICOS	PORCENTAGEM
Penicilina	AMP	81%
Cefens	CFL	62%
Aminoglicosídeos	TOB	52%
Carbapenens	IPM	36%
Quinolonas	CIP	27%
Tetraciclina	TET	24%
Inibidor da via dos folatos	SUT	23%
Fenicóis	CLO	13%

A Figura 7, resume o número de isolados e a resistência dos mesmo de acordo com as oito classes de antibióticos avaliadas neste trabalho *in vitro*.

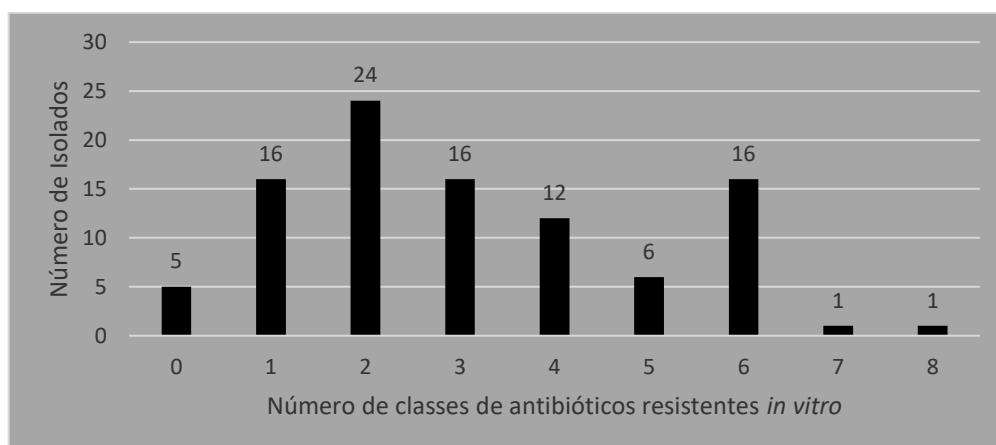


Figura 7. Resistência dos 97 isolados obtidos das 23 amostras de Mate comercializados nas praias da Zona Sul do Rio de Janeiro.

Do total de 97 isolados, apenas cinco não apresentaram resistência a nenhuma classe dos antibióticos testados. Todos os demais apresentaram resistência a pelo menos um antibiótico: 16 isolados apresentaram resistência a uma classe, 24 isolados apresentaram resistência a duas classes e demais isolados (52) se mostraram multirresistentes apresentando resistência a pelo menos três classes de antibióticos.

## 7. DISCUSSÃO

Foram avaliadas 23 amostras de chá mate vendidos por ambulantes nas praias da zona sul do Rio de Janeiro-RJ. Neste trabalho foi observada a forma como o produto é comercializado nas praias, o mate é armazenado em galões que ficam expostos diretamente a luz solar e não ficam sobre nenhum tipo de refrigeração. Os mesmos são levados pelos vendedores ambulantes com auxílio de alças presas aos galões e apoiadas aos ombros, não existe local para armazenamento dos produtos e o vendedor ambulante é o responsável por cobrar (manipular o dinheiro) e servir o mate ao cliente. Para as bactérias aeróbias mesófilas, apenas uma das vinte e três amostras apresentou contagem acima do limite estabelecido pela WHO, enquanto para bolores e leveduras, dez amostras apresentavam-se com valores acima do estabelecido por esta organização. Para coliformes termotolerantes, sete amostras se encontravam acima do limite estabelecido na legislação brasileira, não constatamos presença de *Salmonella* neste estudo. Para a comparação, utilizamos alguns estudos de análise microbiológica de erva-mate *in natura* e alguns estudos de caldo de cana prensado e vendido na hora em ruas e praias, esses alimentos foram escolhidos tendo em vista não termos encontrado estudos com análise do mate pronto para o consumo vendidos na rua e/ou em praias. Um estudo realizado em Dourados (MS) analisou cinco amostras de mate tererê e cinco de mate chimarrão, o qual evidenciou que a contagem de bactérias mesófilas aeróbias apresentava valores de contaminação maiores que a referência da literatura (WHO, 1998) em mais de 40% das amostras, já a contagem de bolores e leveduras se apresentava dentro dos parâmetros da literatura (RENOVATTO e AGOSTINI, 2008), em contrapartida, um estudo realizado em São Mateus do Sul (PR), avaliou contagem de bolores e leveduras, de bactérias mesófilas aeróbias, de coliformes a 35° C, de coliformes a 45° C e pesquisa de *Salmonella spp./25g* e demonstrou que as amostras analisadas obtiveram resultados em conformidade à legislação vigente para *Salmonella* e coliformes e de acordo com a literatura para bolores e leveduras e aeróbias mesófilas (BARBOZA *et al.*, 2006). MOURA *et al.*, 2011 avaliou 15 amostras de erva-mate comercializadas no município de Canoinhas-SC, quantificando bactérias mesófilas aeróbias, bolores e leveduras, coliformes totais e termotolerantes, e pesquisa de *Salmonella spp.*, sendo que os resultados obtidos apontaram que apenas uma das amostras estava fora dos padrões estabelecidos pela legislação para *Salmonella spp.* estando a quantificação das demais bactérias de acordo com a legislação de referência e literatura. Parodes e colaboradores (2014) fizeram a caracterização microbiológica da erva-mate beneficiada para consumo na forma de chimarrão na região do Médio Alto Uruguai no Rio Grande do Sul, avaliando coliformes a 45°C, bolores e leveduras, bactérias aeróbias mesófilas e *Salmonella spp.* demonstrando que todas as amostras estavam dentro da



conformidade em relação a legislação de referência e a literatura. Desta forma, dos estudos analisados para erva-mate *in natura*, apenas o estudo de Dourados apresentou valores acima da literatura para aeróbias mesófilas e o estudo de Canoinhas para presença de *Salmonella* demais estudos não apresentaram amostras fora dos parâmetros da legislação ou literatura. Em relação aos estudos para caldo de cana, um estudo realizado em caldos de cana comercializados por ambulantes em Ribeirão Preto (SP), analisou coliformes termotolerantes, *Salmonella spp.*, bolores e leveduras e bactérias mesófilas aeróbias, das noventa amostras analisadas, 31% estavam em desacordo com as legislações em vigor para coliformes a 45°C, populações de bolores e leveduras maiores que a literatura foram encontrados em 48% das amostras, enquanto, que para *Salmonella spp.* os resultados foram ausência para todas as amostras (PRADO *et al.*, 2010). Outro estudo realizado em Salvador (BA) analisou sete amostras de caldo de cana vendidos na orla das praias e constatou que as amostras se encontravam com valores acima do estabelecido na legislação para coliformes totais e termotolerantes, sendo que uma das amostras apresentou identificação positiva para *E. coli* e outra amostra apresentou presença de *Salmonella spp.* (SILVA *et al.*, 2010). SPRENGER *et al.*, 2016 avaliaram quarenta e nove amostras de caldos de cana comercializados em Curitiba (PR), realizando a contagem de bolores e leveduras, mesófilos aeróbicos, coliformes totais e fecais, *Escherichia coli* e *Salmonella spp.*, para coliformes totais foram encontradas 34% das amostras com valores acima da legislação vigente, para coliformes termotolerantes foram apresentadas 10,64% com valores acima da legislação. Do total de amostras, 4,26% apresentaram presença de *E. coli* e para *Salmonella spp.* o resultado foi ausência. Logo, dois estudos apresentaram amostras com valores acima da legislação para aeróbias mesófilas, bolores e leveduras e coliformes termotolerantes, sendo que um estudo apresentou presença para *Salmonella*. Os resultados satisfatórios obtidos em alguns estudos para erva-mate *in natura* demonstram que o produto industrializado e comercializado em supermercados está em sua maioria dentro dos padrões microbiológicos exigidos na legislação brasileira e na literatura, o que de fato corrobora para o entendimento de que a contaminação demonstrada nas amostras analisadas neste trabalho está ligada principalmente ao processamento e distribuição do chá mate após o preparo conforme é possível verificar nos alimentos preparados e vendidos na rua conforme demais estudos demonstrados acima. Pode-se inferir que a falta de orientação sobre segurança de alimentos envolvendo as etapas de manipulação, processamento, armazenamento, transporte e distribuição de forma inadequada são fatores que levam a contaminação desse alimento. Também deve ser considerado a natureza transitória dos vendedores e à dinâmica de venda como transitar com o mate por longos períodos de tempo debaixo de altas temperaturas, manipular o dinheiro da venda e servir o produto simultaneamente, dentre outros.

O aumento da prevalência de bactérias multirresistentes tem se tornado um motivo de preocupação de saúde mundial, infecções causadas por essas bactérias podem aumentar a morbidade e mortalidade e requerem uso de medicamentos caros e longo período de hospitalização. Produtos frescos podem ser contaminados por água contendo bactérias multirresistentes, assim como frutas e vegetais podem ser contaminados por manipuladores de alimentos que carregam essas bactérias (DOYLE, 2015). A World Health Organization (WHO) publicou em fevereiro de 2017, uma lista de bactérias resistentes, as quais, deve ser dada prioridade nas pesquisas de novos antibióticos, doze famílias de agentes patogênicos estão incluídas neste documento. Na primeira das três categorias de urgência estão os gêneros *Acinetobacter*, *Pseudomonas* e várias espécies do gênero *Enterobacteriaceae*. Destas, a família *Enterobacteriaceae* foi classificada como “prioridade crítica”, por serem resistentes a carbapenems (WHO, 2017). No presente estudo todas as bactérias identificadas pertencem a família *Enterobacteriaceae*, sendo que dentro desse gênero, obtivemos 35 isolados de *Klebsiella pneumoniae* e *Klebsiella oxytoca* que se apresentaram resistentes ao imipenem (carbapenems).

A *Klebsiella pneumoniae* é uma bactéria gram-negativa, coliforme termotolerante, encapsulada, não-móvel que vive no meio ambiente. Coloniza facilmente a superfície da mucosa humana, o trato gastrointestinal e a orofaringe. É responsável por uma ampla quantidade de infecções, principalmente pulmonares, do trato urinário e bacteremias. Essa bactéria torna-se cada vez mais resistente a antibióticos, tornando difícil o seu tratamento (PACZOSA e MECSAS, 2016). Em um estudo conduzido por ALBIEIRO et al (2015) a respeito das bactérias encontradas na erva-mate antes e após processamento, a *K. pneumoniae* foi a terceira bactéria mesófila mais encontrada e a gram-negativa mais presente. Essa bactéria e suas espécies são importantes patógenos causadores de infecções sejam elas hepáticas, biliares, do trato urinário dentre outras, essas bactérias tornam-se um importante problema de saúde nos últimos anos por serem multirresistentes (HERZOG et al, 2014). Essa bactéria foi identificada como causa de um surto de origem alimentar que afetou 156 pessoas na Espanha, essa cepa foi isolada de algumas superfícies de cozinha e manipuladores de alimentos (CALBO et al., 2011). Em um outro estudo, conduzido na Malásia, das 78 amostras, 25 (32%) foram positivas para *K. pneumoniae*, todos os isolados eram resistentes a mais de um antibiótico, observou-se resistência à ampicilina (100%), eritromicina (100%), rifampicina (100%), estreptomicina (96%), sulfametoxazol (80%), tetraciclina (48%), cefuroxima (44%), trimetoprima (44%), ciprofloxacina (36%) e gentamicina (32%) (HARYANI et al., 2007). No presente estudo, dos 43 isolados de *K. pneumoniae*, 35 (81%) foram resistentes a ampicilina, 21 (60%) a imipenem, 7 (16%) a cloranfenicol, 20 (47%) a cefalotina,

15 (35%) a ciprofloxacina, 27 (63%) a tobramicina, 14 (33%) a tetraciclina, e 13 (30%) a sulfametoxazol.

As bactérias do complexo *Enterobacter cloacae* são amplamente encontradas na natureza, são bacilos gram-negativos, anaeróbios facultativos, pertencentes à família *Enterobacteriaceae* (PAAUW *et al.*, 2008). Essas bactérias são associadas em uma ampla gama de manifestações clínicas como bacteremia, meningite, septicemia, infecção da pele dentre outras. Um estudo conduzido por Haryani e colaboradores (2008) encontrou um total de sete isolados de *Enterobacter cloacae* em seis tipos de alimentos de rua comercializados na Malásia, os resultados dos testes de sensibilidade aos antibióticos mostraram que esses isolados foram resistentes a ampicilina, eritromicina, rifampicina e sulfametoxazol, demonstrando ainda vários graus de resistência à estreptomicina (85,71%), ciprofloxacina e tetraciclina (42,86%), trimetoprim e cefuroxima (28,57%), sendo, no entanto, suscetíveis ao cloranfenicol e gentamicina. Outro estudo, realizado em Alice, África do Sul, analisou comidas vendidas na rua e identificou que todas as cepas de *E. cloacae* foram suscetíveis à ciprofloxacina, enquanto existiram vários graus de suscetibilidade ao ácido nalidíxico 32 (97%), estreptomicina 31 (94%), gentamicina e cloranfenicol 30 (91%), observou-se ainda, resistência marcada (100%) à amoxicilina, penicilina G, vancomicina e eritromicina, enquanto 26 (79%) e 19 (58%) dos isolados foram resistentes à ampicilina e à tetraciclina, respectivamente. A resistência múltipla aos antibióticos foi um fenômeno comum observado em todos os isolados de *E. cloacae* (NYENJE *et al.*, 2012).

As bactérias *Klebsiella oxytoca* são membros gram-negativos, não móveis, em forma de bastonete, pertencente à família *Enterobacteriaceae*. É um patobionte intestinal e agente causador da colite hemorrágica associada a antibióticos, apresentando resistência natural a penicilinas. Exerce seu efeito em humanos através de uma citotoxina (HERZOG *et al.*, 2014; DARBY *et al.*, 2014). Ainda no estudo de NYENJE *et al.*, 2012, dentre as 252 amostras de alimentos de rua testadas, a *Klebsiella oxytoca* representou 8% das espécies encontradas.

## 8. CONCLUSÃO

Das vinte e três amostras analisadas, 30% encontravam-se com valores acima do estabelecido na legislação para coliformes termotolerantes, sendo classificadas como impróprias para o consumo humano. Em relação aos parâmetros estabelecidos pela WHO, encontravam-se impróprias 43% das amostras em relação a bolores e leveduras e 4,35% das amostras em relação as bactérias mesófilas aeróbias.

No total, doze amostras ou 52% estariam fora da conformidade considerando os parâmetros da legislação brasileira e/ou WHO, não estando aptas ao consumo humano. A presença dessas bactérias nos alimentos pode se tornar um perigo à saúde pública.

Do total de noventa e sete isolados, apenas cinco não apresentaram resistência a nenhuma classe de antibióticos, todos os demais apresentaram resistência a pelo menos um antibiótico, sendo que cinquenta e dois isolados se mostraram multirresistentes. Desses, trinta e cinco isolados apresentaram resistência ao imipenem, considerado um dos antibióticos mais eficazes atualmente utilizado, o que representa um grande risco para saúde pública. Esses resultados apontam para o fato de que o mate pronto comercializado nas praias pode ser veículo importante de transmissão de bactérias multirresistentes as pessoas que os consomem, sendo um potencial risco a saúde.

Uma série de estudos mostram que os alimentos vendidos na rua são deficientes em questões de higiene dos equipamentos, dos manipuladores e das condições de preparo, estocagem, armazenamento e transporte o que contribui para os resultados demonstrados.

É necessária maior atenção das autoridades sanitárias na orientação, treinamento e fiscalização dos vendedores ambulantes visando garantir a segurança de alimentos e consequente saúde dos consumidores desses produtos.

Em vista aos estudos relatados nesse trabalho, percebe-se que a segurança de alimentos de rua é um problema nacional, sendo necessário a criação de políticas públicas e leis que regulamentam o comércio informal de alimentos para garantir a segurança desses alimentos e consequentemente da população que o consome.

## 9. REFERÊNCIAS

- ALBIERO, Gabriela; SILVA, Patrícia Valente; COSTA, Marisa. Sanitary quality and diversity of culturable bacteria and yeasts in processed and *in natura yerba mate (Ilex paraguariensis A. St.-Hil.)*. *Revista Brasileira de Biociências*, v. 13, n. 2, p. 90-95, abr./jun. 2015.
- ANESINI, Claudia; FERRARO, Graciela; FILIP, Rosana. Peroxidase-like activity of *Ilex paraguariensis*. **Food Chemistry**, v. 97, p. 459-464, 2006.
- BAJPAI, Vivek K.; BAEK, Kwang-Hyun; KANG, Sun Chul. Control of *Salmonella* in foods by using essential oils: A review. **Food Research International**, v. 45, p. 722–734, 2012.
- BARBOZA, Liane; WASZCZYNSKYJ, Nina; FREITAS, Renato. Avaliação microbiológica de erva-mate (*Ilex paraguariensis St. Hil.*). **Instituto Adolfo Lutz**, v. 65, n. 2, p. 123-126, 2006.
- BASTOS, Deborah; ISHIMOTO, Emília; MARQUES, Marcia; FERRI, Adalberto; TORRES, Elizabeth. Essential oil and antioxidant activity of green mate and mate tea (*Ilex paraguariensis*) infusions. **Journal of food composition and analysis**, v. 19, p. 538–543, 2006.
- BBC NEWS - BRASIL. **A rotina dos vendedores de mate nas praias do rio, sob calor de 40º e com 50 kg nas costas**. Disponível em: <<http://www.bbc.com/portuguese/geral-42643527>>. Acesso em: 14 abr. 2018.
- BETTS, ROY. Produced as a service to the food industry by Thermo Fisher Scientific. Microbial update yeasts and moulds. **International Food Hygiene**, v. 24, n. 4, 2013.
- BEUCHAT, Larry R.; MANN, David A. Comparison of New and Traditional Culture-Dependent Media for Enumerating Foodborne Yeasts and Molds. **Journal of Food Protection**, v. 79, n. 1, p. 95-111, 2016.
- BIEN, Justyna; SOKOLOVA, Olga; BOZKO, Przemyslaw. Role of Uropathogenic *Escherichia coli* Virulence Factors in Development of Urinary Tract Infection and Kidney Damage. **International Journal of Nephrology**, v. 2012, p. 1-15, 2012.
- BRACESCO, N.; SANCHEZ, A.G.; CONTRERAS, V.; MENINI, T.; GUGLIUCCI, A. Recent advances on *Ilex paraguariensis* research: Minireview. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 136, p. 378– 384, 2011.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução RDC ANVISA/MS nº 12 de 02 de janeiro de 2001. **Regulamento Técnico sobre os Padrões Microbiológicos para Alimentos**. Diário Oficial da União. 2001.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução RDC ANVISA/MS nº 277, de 22 de setembro de 2005. **Aprova o Regulamento técnico para café, cevada chá, erva-mate e produtos solúveis**. Diário Oficial da União. 2005.
- BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 62. **Oficializar os Métodos Analíticos oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água Secretaria de defesa Agropecuária**. Diário Oficial da União. 2003.
- BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Decreto nº 6.871, de 4 de junho de 2009. **Regulamenta a Lei no 8.918, de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas**. Diário Oficial da União 04/06/2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual integrado de vigilância, prevenção e controle de doenças transmitidas por alimentos**. Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2010. 158 p.: il. – (Série A. Normas e Manuais Técnicos).

BRASIL. Ministério da Saúde - **Secretaria de Vigilância em Saúde** - Departamento de Vigilância das Doenças Epidemiológicas. Coordenação Geral de Doenças Transmissíveis. Unidade de Vigilância das Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar. Disponível em <<http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2017/maio/29/Apresentacao-Surtos-DTA-2017.pdf>>. Acesso em: 16 de julho de 2017.

BREZOVSKYA, F. R.; VALIATTI, T. B.; ROMÃO, N.F.; PASSONI, G. P.; SOBRAL, F. O. S. Avaliação Microbiológica e Microscópica do Caldo de Cana Comercializado em Ji-Paraná. **Ensaio e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde**, v. 20, n. 2, p. 111-115, 2016.

BRUHN, Christine M. Consumer Concerns: Motivating to Action. **Emerging Infectious Diseases**, v. 3, n. 4, p. 511-515, out./dez. 1997.

BURRIS, Kellie P.; HIGGINBOTHAM, Kristen L.; STEWART, JR. C. N. Aqueous extracts of yerba mate as bactericidal agents against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a microbiological medium and ground beef mixtures. **Food Control**, v. 50, p. 748-753, 2015.

CALBO, E.; FREIXAS, N.; XERCAVINS, M.; RIERA, M.; NICOLÁS, C.; MONISTROL, O.; SOLÉ, M. M.; SALA, M.R.; VILA, J.; GARAU, J. Foodborne nosocomial outbreak of SHV1 and CTX-M-15-producing *Klebsiella pneumoniae*: epidemiology and control. **Clinical Infectious Diseases**, v. 52, n. 6, p. 743-749, mar. 2015.

CARRASCO, Elena; MORALES-RUEDA, Andrés; GARCÍA-GIMENO, Rosa María. Cross-contamination and recontamination by *Salmonella* in foods: A review. **Food Research International**, v. 45, p. 545–556, set./nov. 2011.

CONEXÃO JORNALISMO. **A rotina dos vendedores de mate nas praias do rio, sob calor de 40° e com 50 kg nas costas**. Disponível em: <<http://www.conexaojornalismo.com.br/colunas/gastronomia/nutricao/flagrante-vendedores-de-mate-reabastecem-galao-com-agua-de-jardim-em-ipanema-35-21344>>. Acesso em: 01 2017.

CORREA, V. G.; GONÇALVES, G. A.; SÁ-NAKANISHI, A. B.; FERREIRA, I.C.F.R.; MARROS, L.; DIAS, M.I.; KOEHNLEIN, A. E.; SOUZA, C. G.M.; BRACHT, A. PERALTA, M. Effects of in vitro digestion and *in vitro* colonic fermentation on stability and functional properties of yerba mate (*Ilex paraguariensis* A. St. Hil.) beverages. **Food Chemistry**, v. 237, p. 453-460, dez. 2017.

CROXEN, M. A.; LAW, R.J.; SCHOLZ, K. M. Recent Advances in Understanding Enteric Pathogenic *Escherichia coli*. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 26, n. 4, p. 822-880, out. 2013.

DAMASCENO, K. S. F. S. C.; ALVES, M. A.; FREIRE, I. M. G.; TORRES, G. F.; AMBRÓSIO, C. L. B.; GUERRA, N. B. Condições higiênicas sanitárias de "self services" do entorno da UFPE e das saladas cruas por eles servidas. **Higiene Alimentar**, v. 16, p. 74-78, nov./dez. 2002.

DARBY, A.; LERTPIRIYAPONG, K.; SARKAR, U.; SENEVIRANTE, U.; PARK, D.S.; GAMAZON, E. R.; BATCHELDER, C.; CHEUNG, C.; BUCKLEY, E. M.; TAYLOR, N. S.; SHEN, Z.; TAMMEMBAUM, S. R.; WISHNOK, J. S.; FOX, J. G. Cytotoxic and Pathogenic Properties of *Klebsiella oxytoca* Isolated from Laboratory Animals. **PloS One**, v. 9, n. 7, jan./jul. 2014.

- DOYLE, Marjorie E. Multidrug-Resistant Pathogens in the Food Supply. **Foodborne pathogens and disease**, v. 12, n. 4, p. 261-269, 2015.
- DOMINGO, I.; BRUNELLI, S.R.; BALDOTTO, S.B. *Salmonella spp.* – UMA REVISÃO. 2014
- ERVATEIRA SABADIN. **Processamento ervateira sabadin**. Disponível em: <<http://www.ervateirasabadin.com.br/processamento>>. Acesso em: 10 ago. 2017.
- EFSA - European Food Safety Authority. The Community Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in the European Union in 2008. *EFSA Journal*, v.8, n.1, p. 14, 2010.
- FEGLO, P.; SAKYI, K. Bacterial contamination of street vending food in Kumasi, Ghana. **Journal of Medical and Biomedical Sciences**, v. 1, n. 1, p. 1-8, 2012.
- FILIP, R.; LOTITO, S. B.; FERRARO, G.; FRAGA, C. G. Antioxidant activity of *Ilex paraguariensis* and related species. **Nutrition Research**, v. 20, n. 10, p. 1437-1446, 2000.
- FORSYTHE, Stephen J. **Microbiologia da segurança alimentar**. Trad. Maria Carolina Minardi Guimarães e Cristina Leonhardt – Porto Alegre: Artmed, 2002, p. 216, p. 211.
- FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2005. 182p. ISBN 85-7379-121-7
- FREITAS, G. B. L. D. et al. Erva-mate, muito mais que uma tradição, um verdadeiro potencial terapêutico. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 8, n. 3, p. 101-113, 2011.
- GÓMEZ, D.; ARINO, A.; CARRAMINANA, J. J.; ROTA, C.; YANGUELA, J. Sponge versus mini-roller for the surface microbiological control of *Listeria monocytogenes*, total aerobic mesophiles and *Enterobacteriaceae* in the meat industry. **Food Control**, v. 27, p. 242-247, out./mar. 2012.
- HARYANI, Y. et al. Characterization of Enterobacter cloacae Isolated from Street Foods. **ASEAN Food Journal**, v. 15, n. 1, p. 57-64, 2008.
- HARYANI, Y.; NOORZALEHA, A. S.; FATIMAH, A. B.; NOORJAHAN, B. A.; PATRICK, J. B.; SHAMSINAR, A. T.; LAILA, R. A. S.; SON, R. Incidence of *Klebsiella pneumonia* in street foods sold in Malaysia and their characterization by antibiotic resistance, plasmid profiling, and RAPD-PCR analysis. **Food Control**, v. 18, p. 847-853, 2007.
- HECK, Caleb; SCHMALKO, Miguel; MEJIA, Elvira. Effect of Growing and Drying Conditions on the Phenolic Composition of Mate Teas (*Ilex paraguariensis*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 18, p. 8394-8403, 2008.
- HERZOG, K. A. T.; SCHNEDITZ, G.; LEITNER, E.; FEIERL, G.; HOFFMANN, K. M.; ZOLLNER-SCHWETZ, I.; KRAUSE, R.; GORKIEWICZ, G. ZECHNER, E. L.; HOGENAUER, C. Genotypes of *Klebsiella oxytoca* isolates from patients with nosocomial pneumonia are distinct from those of isolates from patients with antibiotic-associated hemorrhagic colitis. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 52, n. 5, p. 1607-1616, jan./fev. 2014.
- IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção Agrícola Municipal, 2013-2015**. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/pesquisa/pam/tabelas>>. Acesso em: 25 de mar. 2018
- JORNAL EXTRA. **Eduardo paes libera a venda de mate em tonel nas praias**. Disponível em: <<https://www.youtube.com/watch?v=asz3-jnmy60>>. Acesso em: 05 ago. 2017.
- LB EQUIPAMENTOS. **Soque erva mate**. Disponível em: <<http://www.lbequipamentos.ind.br/soque-erva-mate.html>>. Acesso em: 10 ago. 2017.

- LIMA, M. E.; COLPO, A. C.; MAYA-LÓPEZ, M.; ROSA, H.; TÚNEZ, I.; GALVÁN-ARZATE, S.; SANTAMARIA, A.; FOLMER, V. Protective effect of Yerba mate (*Ilex paraguariensis* St. Hill.) against oxidative damage *in vitro* in rat brain synaptosomal/mitochondrial P2 fractions. **Journal of functional foods**, v. 34, p. 447-452, abr./mai. 2017.
- LUES, J F R; TONDER, V. The occurrence of indicator bacteria on hands and aprons of food handlers in the delicatessen sections of a retail group. **Food Control**, v. 18, n. 4, p. 326-332, mai. 2007.
- MACCARI, A J; MAZUCHOWSKI, J Z. **Produtos alternativos e desenvolvimento da tecnologia industrial na cadeia produtiva da erva-mate**: Curitiba: câmara setorial produtiva da erva-mate do paraná. 1 ed. Curitiba, PA: 2000. 160 p.
- MACGOWAN, Alasdair; MACNAUGHTON, Emily. Antibiotic resistance. **Medicine Journal**, v. 41, n. 11, p. 642-648, nov. 2013.
- MAQUIERVAS. **Secador**. Disponível em: <<http://www.maquiervas.com.br/index.php/2015/06/28/misturador-de-erva-mate>>. Acesso em: 10 ago. 2017.
- Manual Clinical and Laboratory Standards Institute - CLSI. **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Second Informational Supplement**. M100-S22. v. 32, n. 3, Replaces M100-S21. v. 31, n. 1, 2012.
- MARTIN, J. G. P.; PORTO, E.; ALENCAR, S. M.; GLÓRIA, E. M.; CORRÊA, C. B.; CABRAL, I. S. R. Antimicrobial activity of yerba mate (*Ilex paraguariensis* St. Hill.) against food pathogens. **Revista Argentina de Microbiologia**, v. 45, n. 2, p. 93-98, ago./jan. 2013.
- MOURA, T. C. D.; MACHADO, M. A.; GUESSER, D. F.; ISAKA, G. V. Avaliação da qualidade microbiológica da erva-mate chimarrão produzida e comercializada na cidade de Canoinhas-SC. **Seminário de pesquisa extensão e inovação IFSC**, 2011.
- MOSS, M. Spoilage problems. Problems caused by Fungi. In: Robinson, R., Batt, C. & Patel, P. **Encyclopedia of food microbiology**. Academic Press, London, UK, p. 2056-2062, 2000.
- MUGAMPOZA, D.; BYARUGABA, G. W. B.; NYPMYINTONO, A.; NAKITTO, P. Occurrence of *Escherichia coli* and *Salmonella spp.* in street-vended foods and general hygienic and trading practices in Nakawa Division, Uganda. **American Journal of Food and Nutrition**, v. 3, n. 3, p. 167-175, 2013.
- MÁRQUEZ, V.; MARTINEZ, N.; GUERRA, M.; FARINA, L.; BOIDO, E.; DELLACA, E. Characterization of aroma-impact compounds in yerba mate (*Ilex paraguariensis*) using GC-olfactometry and GC-MS. **Food Research International**, v. 53, n. 2, p. 808-815, out. 2013.
- NYENJE, M. E.; ODJADJARE, C. E.; TANIH, N. F.; GREEN, E.; NDIP, R. N. Foodborne pathogens recovered from ready-to-eat foods from roadside cafeterias and retail outlets in Alice, eastern cape province, South Africa: public health implications. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 9, p. 2608-2619, mai./jul. 2012.
- O GLOBO. "olha o mate, vale um selfie", diz vendedor de mate no arpoador. Disponível em: <<http://blogs.oglobo.globo.com/gente-boa/post/olha-mate-vale-um-selfie-diz-vendedor-de-mate-no-arpoador-557667.html>>. Acesso em: 10 ago. 2017.
- OLIVEIRA, Jaqueline; RAMOS, Carlos José Raupp; SILVA, Vanessa Gomes. Antibiograma com cepas ATCC (American Type Culture Collection). **ANAIS do SEPE – Seminário de Ensino, Pesquisa e Extensão da UFFS**, v. 4, 2014.



OLIVIEIRA, A. V.; SILVA, R. A.; ARAÚJO, A. S.; BRANDÃO, P. A.; COSTA, F. B. Padrões microbiológicos da carne de frango de corte – Referencial teórico. *Revista Verde (Mossoró – RN – Brasil)*. **Revista Verde**, v. 6, n. 3, p. 1-16, jul./set. 2011.

OMEMU, A. M.; ADEROJU, S. T. Food safety knowledge and practices of street food vendors in the city of Abeokuta, Nigeria. **Food Control**, v. 19, p. 396-402, 2008.

PAAUW, A.; CASPERS, M. P. M.; SCHUREN, F. H. J.; LEVERSTEIN-VAN HALL, M. A.; DELETOILE, A.; MONTIJN, R. C.; VERHOEF, J.; FLUIT, A. C. Genomic Diversity within the *Enterobacter cloacae* complex. **PLoS One**, v. 3, n. 8, p. 1-11, jul./ago. 2008.

PACZOSA, Michelle K; MECSASB, Joan. *Klebsiella pneumoniae*: going on the offense with a strong defense. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 80, n. 3, p. 629–661, set. 2016.

PAGLIOSA, C. M.; VIEIRA, M. A.; PODESTÁ, R.; MARASCHIN, M.; ZENNI, B. A. L.; AMANTE, E. R.; AMBONI, R. D. M. C. Methylxanthines, phenolic composition, and antioxidant activity of bark from residues from mate tree harvesting (*Ilex paraguariensis* A. St. Hil.). **Food Chemistry**, v. 122, p. 173-178, nov./jan. 2010.

PARODES, B. M.; ZANDONÁ, G. P.; SANTOS, J. S. S.; CANCIAN, R.; FERNANDES, M.; TURCHETTO M.; MONEGO, M. A.; VON LAER, A. E.; LIMBERGER-BAYER, M. Caracterização microbiológica de erva-mate (*Ilex Paraguariensis* St. Hil.) beneficiada na região do Médio Alto Uruguai - RS. **Anais do 12º Congresso Latinoamericano de Microbiologia e Higiene de Alimentos - MICROAL 2014: Blucher Food Science Proceedings**, São Paulo, v. 1, n. 1, nov. 2014.

PARUCH, Adam M.; MAEHLUM, Trond. Specific features of *Escherichia coli* that distinguish it from coliform and thermotolerant coliform bacteria and define it as the most accurate indicator of faecal contamination in the environment. **Ecological Indicators**, v. 23, p. 140-142, jan./mar. 2012.

PEREIRA-SANTOS, M.; FREITAS, F.; SILVA, R. M.; SANTOS, V. A.; LOBO, L. N.; MATOS, V. S. R.; SILVA, I. M. M. Características higiênicas sanitárias da comida de rua e proposta de intervenção educativa. **Revista Baiana de Saúde Pública**, v. 36, n. 4, p. 885-898, out./dez. 2012.

PRADO, P. T.; BERGAMINI, S. M. M.; RIBEIRO, A. G. A.; CASTRO, E. C. S. C.; OLIVEIRA, M. A. A. Avaliação do perfil microbiológico e microscópico do caldo de cana *in natura* comercializado por ambulantes. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 69, n. 1, p. 55-61, 2010.

PREFEITURA DO RIO DE JANEIRO. **Prefeitura declara vendedores de mate e biscoito de polvilho patrimônio cultural carioca**. Disponível em: <<http://www.rio.rj.gov.br/web/guest/exibeconteudo?article-id=2617686>>. Acesso em: 03 jun. 2017.

RANE, Sharmila. Street vended food in developing world: hazard analyses. **Indian Journal Microbiology**, v. 51, n. 1, p. 100-106, jan./mar. 2011.

REIS, K. T. M. G.; SOUZA, C. H. B.; SANTANA, E. H. W. S.; ROIG, S. M. Qualidade microbiológica do leite cru e pasteurizado produzido no Brasil: revisão. **UNOPAR Científica Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 15, p. 411-421, 2013.

RENOVATTO, Yndilla Pedrosa; AGOSTINI, Juliana. Qualidade microbiológica e físico-química de amostras de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) comercializadas em Dourados, MS. **Interbio**, v. 2, n. 2, p. 12-20, 2008.

RIO DE JANEIRO (Estado). Prefeitura do Rio de Janeiro. **Prefeitura declara vendedores de mate e biscoito de polvilho Patrimônio Cultural Carioca Portal da prefeitura do Rio de Janeiro**, 2012 Disponível em: <<http://www.rio.rj.gov.br/web/guest/exibeconteudo?article-id=2617686>>. Acesso em: 03 de junho de 2016.

RIO DE JANEIRO (Estado). Secretaria do Governo Municipal. Lei nº 1876, de 29 de junho de 1992 - **Dispõe sobre o comércio ambulante no Município e dá outras providências**. Diário Oficial da União, 1992.

SEOP. **Ordem pública estoura depósito clandestino utilizado em copacabana**.

Disponível em: <<http://www.rio.rj.gov.br/web/seop/exibeconteudo?id=4838248>>. Acesso em: 16 jul. 2016.

SILVA, A. S.; GALVÃO, L. G. V.; SANTOS, J. C.; CAMPOS, M. C. Avaliação microbiológica do caldo de cana comercializado na orla marítima da cidade de Salvador Bahia. **Candombá – Revista Virtual**, v. 6, n. 2, p. 74-85, jul./dez. 2015.

SILVA, M. C. Avaliação da qualidade microbiológica de alimentos com a utilização de metodologias convencionais e do sistema SimPlate. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, 2012.

SISTEMAS DE PRODUÇÃO EMBRAPA. **Cultivo da Erva-Mate**. Disponível em: <[https://www.spo.cnptia.embrapa.br/conteudo?p\\_p\\_id=conteudoportlet\\_war\\_sistemasdeproducao6\\_1ga1ceportlet&p\\_p\\_lifecycle=0&p\\_p\\_state=normal&p\\_p\\_mode=view&p\\_p\\_col\\_id=column-1&p\\_p\\_col\\_count=1&p\\_r\\_p\\_-76293187\\_sistemaproducaoid=3601&p\\_r\\_p\\_-996514994\\_topicoid=2915](https://www.spo.cnptia.embrapa.br/conteudo?p_p_id=conteudoportlet_war_sistemasdeproducao6_1ga1ceportlet&p_p_lifecycle=0&p_p_state=normal&p_p_mode=view&p_p_col_id=column-1&p_p_col_count=1&p_r_p_-76293187_sistemaproducaoid=3601&p_r_p_-996514994_topicoid=2915)>. Acesso em: 10 ago. 2017.

SOTO-VACA., A.; GUTIERREZ, A.; LOSSO, J. N.; XU, Z.; FINLEY, J. W. Evolution of phenolic compounds from color and flavor problems to health benefits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 27, p. 6658–6677, 2012.

SOUSA, Cristina Paiva De. Segurança alimentar e doenças veiculadas por alimentos: utilização do grupo coliforme como um dos indicadores de qualidade de alimentos. **Revista APS**, v. 9, n. 1, p. 83-88, jan./jun. 2006.

SOUZA, A. H.; CORREA, R. C. G.; BARROS, L.; CALHELHA, R. C.; SANTOS-BUELGA, C.; PERALTA, R. M.; BRACHT, A.; MATSUSHITA, M.; FERREIRA, I. C. F. Phytochemicals and bioactive properties of *Ilex paraguariensis*: an *in-vitro* comparative study between the whole plant, leaves and stems. **Food Research International**, v. 78, p. 286-294, jul./dez. 2015.

SOUZA, G. C.; SANTOS, C. T. B.; ANDRADE, A. A.; ALVES, L. Comida de rua: avaliação das condições higiênico-sanitárias de manipuladores de alimentos. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 20, n. 8, p. 2329-2338, ago. 2015.

SPRENGER, L. K.; RISOLIA, L. W.; HAMDAR, S. Z.; MOLENTO, M. B. Análise microbiológica de caldos de cana comercializados em Curitiba, Paraná. **Archives of Veterinary Science**, v. 21, n. 4, p. 01-07, mai./jan. 2016.

TAQUAPY. **Erva-mate (processo de fabricação)**. Disponível em: <<http://www.taquapy.com.br/?pg=erva-mate>>. Acesso em: 10 ago. 2017.

TERAMURA, H.; SOTA, K.; IWASAKI, M.; OGIHARA, H. Comparison of the quantitative dry culture methods with both conventional media and most probable number method for the enumeration of coliforms and *Escherichia coli*/coliforms in food. **Letters in Applied Microbiology**, v. 65, n. 1, p. 57-65, jul. 2017.

VIEIRA, M. A.; MARASCHIN, M. PAGLIOSA, C. M.; PODESTÁ, R. SIMAS, K. N.; ROCKEMBACH, I.; AMBONI, R. D.; AMANTE, E.R. Phenolic acids and methylxanthines

composition and antioxidant properties of mate (*Ilex paraguariensis*) residue. **Journal of Food Science**, v. 75, n. 3, p. 280-285, 2010.

WHO. **Antibiotic resistance**. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/antibiotic-resistance/en/>>. Acesso em: 15 abr. 2018.

WHO. **Who publishes list of bacteria for which new antibiotics are urgently needed**. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2017/bacteria-antibiotics-needed/en>>. Acesso em: 31 mar. 2018.

WHO - World Health Organization. **Quality control methods for medicinal plant materials**. Geneva: WHO, 1998. 115p.

WHO - World Health Organization. **Foodborne disease burden epidemiology reference group 2007-2015**. 2015

WHO – World Health Organization - **Five Keys for Safer Food: Manual**, 2006.