

QUANTIFICAÇÃO DE ESTAFILOCOCOS COAGULASE POSITIVA E *Bacillus cereus* EM DOCES PRODUZIDOS E COMERCIALIZADOS NO RIO GRANDE DO SUL, BRASIL

CAMILA BORGES DE CANTOS¹; DENISE OLIVEIRA PACHECO²; JÉSSICA SILVEIRA VITÓRIA³; THALIA DUARTE VASCONCELOS DA SILVA⁴; MÁRCIA AROUCHA GULARTE⁵; ELIEZER AVILA GANDRA⁶.

¹ Universidade Federal de Pelotas – camilaborgesscts@gmail.com 1

² Universidade Federal de Pelotas – denisepacheco.qa@gmail.com 2

³ Universidade Federal de Pelotas – jessicasilveiravitoria@gmail.com 3

⁴ Universidade Federal de Pelotas – tduartevasconcelos@gmail.com 4

⁵ Universidade Federal de Pelotas – marciaguarte@hotmail.com

⁶ Universidade Federal de Pelotas – gandraea@hotmail.com

1. INTRODUÇÃO

Segundo a Associação Brasileira de Indústrias de Alimentos, o mercado de doces global terá uma Taxa de Crescimento Anual Composto de 3,99% no período de 2022 a 2027, uma vez que, nos últimos anos, houve um significativo aumento das compras de alimentos por meio da Internet, seja por entrega no formato *delivery* ou pela retirada no local. Uma pesquisa da Fundação Oswaldo Cruz, em parceria com a Universidade Federal de Minas Gerais e a Universidade Estadual de Campinas, mostrou que 63% dos entrevistados com idade entre os 18 e 29 anos consomem doces mais de duas vezes por semana. Além disso, conforme o levantamento intitulado de Consumo Equilibrado, publicado no site Minuto Ligado, o mercado de doces no Brasil, o qual inclui *bombonieres*, confeitarias e fábricas, chega a faturar 12 bilhões de reais a cada ano.

Em contrapartida, além de alimentos com qualidade sensorial, os consumidores prezam cada vez mais por alimentos seguros do ponto de vista microbiológico, então é fundamental que as indústrias implantem medidas preventivas e corretivas, a fim de evitar perigos aos consumidores e prejuízos a imagem do produto ou do estabelecimento onde foi produzido.

Neste sentido, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) desde a década de 1990 vem regulamentando a produção de alimentos seguros, por exemplo, através da Portaria nº 326, de 30 de julho de 1997 (BRASIL, 1997) que aprova o Regulamento Técnico sobre Condições Higiênico-Sanitárias e de Boas Práticas de Fabricação para Estabelecimentos Produtores/ Industrializadores de Alimentos, da RDC nº 275 de 21 de outubro de 2002 (BRASIL, 2002) onde se encontram os Procedimentos Operacionais Padronizados e uma lista de verificação de Boas Práticas de Fabricação (BPF) e da RDC nº 724 de 1º de julho de 2022, complementada pela IN nº 161 de 1º de julho de 2022 (BRASIL, 2022), que estabelecem os padrões microbiológicos sanitários para alimentos e determina os critérios para conclusão e interpretação dos resultados das análises microbiológicas de alimentos destinados ao consumo humano. No caso específico dos doces finos, avaliados neste estudo, a legislação brasileira (BRASIL, 2022) estabelece como limite 5×10^2 UFC.g⁻¹ para Estafilococos coagulase positiva e *Bacillus cereus* presuntivo.

A intoxicação alimentar provocada por Estafilococos coagulase positiva provém da ingestão de alimentos contendo enterotoxinas produzidas e liberadas pela bactéria durante a sua multiplicação. Níveis de enterotoxina que variam entre 0,01 e 0,4 g por grama de alimento já são suficientes para provocar intoxicações (BOLETIM EPIDEMIOLÓGICO, 2022 e FORSYTHE S, 2013).

O patógeno *Bacillus cereus* é capaz de formar vários tipos de toxinas, incluindo as enterotoxinas e, dentre as enterotoxinas envolvidas em intoxicações alimentares, as de maior risco são aquelas associadas a graves problemas hepáticos. Produtos farináceos, alguns grãos e produtos lácteos são os alimentos normalmente relacionados a este microrganismo (BOLETIM EPIDEMIOLÓGICO, 2022 e FORSYTHE S, 2013).

Diante do exposto e com base na relevância da fabricação de alimentos seguros, o presente trabalho teve por objetivo avaliar a qualidade microbiológica de doces finos produzidos e comercializados no Rio Grande do Sul, Brasil.

2. METODOLOGIA

Para o desenvolvimento do trabalho foram coletadas amostras de 5 tipos de doces classificados como “finos” em 5 estabelecimentos diferentes localizados no Rio Grande do Sul, Brasil. As amostras foram acondicionadas em embalagens fornecidas pelos estabelecimentos, nas condições usualmente empregadas para este tipo de doce, e foram mantidas em refrigeração (4 a 5°C) até o momento das análises. As determinações microbiológicas foram realizadas no Laboratório de Ciência dos Alimentos e Biologia Molecular (LACABIM), da Universidade Federal de Pelotas.

As análises microbiológicas foram realizadas de acordo com as recomendações propostas pela *American Public Health Association* (APHA) (DOWNES & ITO, 2001) com modificações. As amostras foram submetidas a diluições seriadas, em solução salina 0,85%, até a diluição 10^{-3} .

Para a enumeração de Estafilococos coagulase positiva foram inoculados 0,1 mL de cada diluição seriada, pela técnica de semeadura em superfície, em Ágar Baird-Parker. Em seguida, as placas foram incubadas a 37°C por 48 horas. Posteriormente, as colônias foram enumeradas e, no mínimo, cinco colônias que apresentaram morfologia típica e cinco atípicas foram selecionadas para realização do teste de produção de coagulase livre, com resultado expresso em UFC.g⁻¹.

Para análise de quantificação de *Bacillus cereus* presuntivo foi inoculado 0,1ml de cada diluição em placas de Ágar Manitol Gema de Ovo Polimixina. As mesmas foram incubadas invertidas por 24 horas a 30 °C. Em seguida, a contagem de colônias presuntivas características foi realizada, com resultado expresso em UFC.g⁻¹.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos podem ser visualizados na tabela 1.

Tabela 1 – Avaliações microbiológicas dos doces finos produzidos e comercializados no Rio Grande do Sul, Brasil

Doce/ Estabelecimento	Estafilocos coagulase positiva (UFC.g ⁻¹)	<i>Bacillus cereus</i> presuntivo (UFC.g ⁻¹)
Panelinha de coco/ Estab A	$1,6 \times 10^3$	<10
Panelinha de coco/ Estab B	10^4	3×10^2
Quindim/ Estab C	10^4	10^2
Trouxinha de nozes/ Estab D	10^3	<10
Amanteigado/ Estab E	10^3	<10

*NMP: Número Mais Provável; UFC: Unidade Formadora de Colônia; Estab: Estabelecimento.

Fonte: elaborado pela autora, com base nos resultados obtidos

Com relação à avaliação de *Bacillus cereus* presuntivo, embora o presente estudo tenha obtido contagens para esta bactéria nos estabelecimentos B e C, os resultados encontrados foram enquadrados abaixo do limite máximo exigido pela legislação, de 5×10^2 UFC.g⁻¹, estando em acordo a legislação brasileira. Granada et al., (2003), obtiveram resultados semelhantes ao avaliarem doces do tipo quindim, sendo <100 UFC.g⁻¹ para *Bacillus cereus* em todas as amostras analisadas. Já no estudo conduzido por Fazzionni, Gelinski e Roza-Gomes (2013), ao avaliarem produtos de confeitaria de um município do Oeste de Santa Catarina, foram obtidas contagens elevadas para *Bacillus cereus* em três dos seis estabelecimentos avaliados. Dentre os produtos com maiores contagens estavam o sonho e a torta de requeijão, com concentrações de 10^5 UFC.g⁻¹.

Em relação às contagens de Estafilococos coagulase positiva (ECP), todas as amostras avaliadas no presente estudo apresentaram resultados acima do limite máximo estipulado pela legislação brasileira, que é de 5×10^2 UFC.g⁻¹. Considerando que ECP podem estar presentes na boca, nariz e pele de manipuladores, podem ter acontecido contaminações cruzadas devido a práticas inadequadas do ponto de vista higiênico relacionadas ao preparo e comercialização dos doces.

Diferente dos resultados encontrados em estudo realizado por César et al., (2014) onde os autores não obtiveram contagens superiores a 10^2 UFC.g⁻¹ para esta bactéria ao avaliarem sobremesas de um restaurante da cidade de Pelotas, RS, estando estas amostras de acordo com o exigido pela legislação brasileira.

Os resultados microbiológicos encontrados neste estudo contrariam o exposto por Nicolau et al. (2014), pois, mesmo com a alta concentração de açúcar dos doces, o que exerce pressão osmótica e dificulta o crescimento das bactérias, foi obtido carga microbiana insatisfatória, no caso de Estafilococos coagulase positiva.

4. CONCLUSÕES

Embora tenha havido contagens de *Bacillus cereus* em duas amostras analisadas, estas estavam abaixo do limite máximo permitido pela legislação brasileira vigente.

No entanto, com base nos resultados obtidos para as contagens de Estafilococos coagulase positiva em todas as amostras analisadas, é possível concluir que há necessidade de maiores investimentos na capacitação dos manipuladores de alimentos quanto à manutenção das Boas Práticas de Fabricação em todos os estabelecimentos, uma vez que estes resultados ficaram acima do limite máximo permitido pela legislação brasileira.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIA. **Mercado de confeitaria**: tendências e dicas de atuação neste ano de 2023. 2023. Acessado em 05 jul 2023. Online. Disponível em: <https://www.abia.org.br/noticias/mercado-de-confeitaria-tendencias-e-dicas-de-atuacao-neste-ano-de-2023>.

BRASIL. Portaria n° 326, de 30 de julho de 1997. Regulamento técnico sobre as condições higiênico-sanitárias e de boas práticas de fabricação para

estabelecimentos produtores/industrializadores de alimentos. **Diário Oficial da União**, seção 1, Brasília, 2020, n. 141, p. 43, 30 jul 1997.

BRASIL. Resolução RDC nº 275 de 21 de outubro de 2002. Regulamento Técnico de Procedimentos Operacionais Padronizados aplicados aos Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Alimentos e a Lista de Verificação das Boas Práticas de Fabricação em Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Alimentos. **Diário Oficial da União**, seção 1, Brasília, 2021, n. 125, p. 48, 21 out 2002.

BRASIL. Resolução RDC nº 724 de 1º de julho de 2022. Dispõe sobre os padrões microbiológicos dos alimentos e sua aplicação. **Diário Oficial da União**, Seção 1, Brasília, 2022, n. 126, p. 205, 1 jul 2022.

BRASIL. Instrução Normativa nº 161 de 1º de julho de 2022. Estabelece os padrões microbiológicos dos alimentos. **Diário Oficial da União**, Seção 1, Brasília, 2022, n. 126, p. 235, 1 jul 2022.

BOTELHO, F. **Consumo de doces aumenta na pandemia**. 2020. Acessado em 5 jul. 2023. Online. Disponível em: <https://portalcbncampinas.com.br/2020/08/consumo-de-acucar-aumenta-com-a-pandemia>.

BOLETIM EPIDEMIOLÓGICO. Informe sobre surtos notificados de doenças transmitidas por água e alimentos – Brasil, 2016-2019. 2020. Acessado em 5 jul 2023. Online. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/d/dtha/publicacoes/informe-sobre-surtos-notificados-de-doencas-transmitidas-por-agua-e-alimentos-2013-brasil-2016-2019.pdf/view>

CÉSAR, J. G.; PERES, A. M.; NEVES C. P.; MELLO J. F.; MOREIRA A. N.; RODRIGUES K. L. **Ocorrência de *Staphylococcus* spp., coliformes termotolerantes e *Escherichia coli* em carnes e sobremesas comercializados em restaurantes**. 2014. Acessado 5 jul. 2023. Disponível em: http://cti.ufpel.edu.br/siepe/arquivos/2014/CS_02023.pdf

DOWNES, F.P; ITO, H. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4. ed. Washington: American Public Health Association (APHA), 676 p. 2001.

FORSYTHE, S. **Microbiologia da segurança dos alimentos**. Porto Alegre: Artmed, 2013.

FAZZIONI, F.D.B.; GELINSKI, J.M.L.; ROZA-GOMES, M.F. Avaliação Microbiológica de produtos de confeitaria e risco à saúde do consumidor. **Alim. Nutr. = Braz. J. Food Nutr.** Araraquara, v. 24, n. 2, p. 159-164, 2013.

GRANADA, G.G.; MENDONÇA, C. R.B.; PORTO, C. ROSA, F.; SILVA, E.; SILVA, W. P.; KOETZ, P. R.; ZAMBIAZI, R. C. Perfil higiênico-sanitário de quindins comercializados em Pelotas/ RS. **Alim. Nutr.** Araraquara, v. 14, n. 1, p. 57-61, 2003.

MAYER, L. **O mercado de doces no Brasil**. 2021. Acessado em 05 jul. 2023. Online. Disponível em: <https://minutoligado.com.br/saiba-mais-sobre-o-mercado-de-doces-no-brasil/>.

NICOLAU, E. S.; SOARES, N. R.; BARROS J. C.; SILVA B, S, M.; SILVA, M. A. P.; CAVALCANTI, S. Avaliação microbiológica de tortas doces comercializadas em feiras especiais da cidade de Goiânia-GO. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 35, n. 1, p. 303-316, 2014.