

## PERFIL MICROBIOLÓGICO DE QUINDINS

### MICROBIOLOGICAL PROFILE OF QUINDINS

D'AGOSTINI; T.L.\*

CANOVA; S.P.\*

#### RESUMO

Quindim é um doce tipicamente brasileiro e por ser um alimento que exige preparação manual, há fatores que contribuem para a sua contaminação por micro-organismos patogênicos. As doenças transmitidas por alimentos (DTA's) são ocasionadas por micro-organismos capazes de gerar infecções alimentares e intoxicações alimentares, apresentam um quadro clínico bem característico, determinado por manifestações gastro intestinais como diarréia, dor abdominal, náuseas, vômitos, acompanhados de febre. O objetivo deste estudo é detectar micro-organismos em quindins, de acordo com as normas estabelecidas pela RDC nº 12 da ANVISA. Foram analisadas 10 amostras de 4 estabelecimentos diferentes, pelos métodos de identificação microbiológica e bioquímica. Os testes apresentaram-se positivos para *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* e *Escherichia coli*. Com isto, conclui-se que os quindins encontravam-se impróprios para consumo. Portanto, a análise microbiológica dos alimentos e o controle de qualidade se fazem necessários, desde a manipulação, armazenamento, exposição e o cuidado higiênico sanitário até a ingestão do alimento pelo consumidor final, a fim de se evitar infecções e intoxicações associadas à micro-organismos patogênicos.

**Palavras chave:** Intoxicação e Infecção alimentar, Doenças transmitidas por alimentos (DTA's), Doces a base de ovos.

#### ABSTRACT

Quindim is a typical Brazilian sweet and being a food that requires manual preparation, there are factors that contribute to its contamination by pathogenic microorganisms. The foodborne disease (FBD's) are caused by micro-organisms capable of generating food infections and food poisoning, have a clear clinical characteristic determined by demonstrations gastrointestinal such as diarrhea, abdominal pain, nausea, vomiting,

---

\* Centro Universitário das Faculdades Metropolitanas Unidas

accompanied by fever or not . The aim of this study is to detect micro organisms in quindins, according to the norms established by ANVISA RDC number 12. We analyzed 10 samples of 4 different establishments, by microbiological identification methods and biochemistry. Tests were positive for *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* and *Escherichia coli*. With this, it is concluded that the quindins were unfit for consumption. Therefore, the microbiological examination of foods and quality control are necessary, since the manipulation, storage, exposure and care sanitary toilet to food ingestion by the consumer, in order to avoid infections and intoxications associated with pathogenic microorganisms.

**Keywords:** Poisoning and Food Infection, Foodborne diseases (FBD's), Candies containing eggs.

## INTRODUÇÃO

Com a chegada dos portugueses ao Brasil, muitas de suas tradições culinárias foram incorporadas as nossas<sup>1</sup>, mas as novidades e mudanças são necessárias ao paladar brasileiro. O quindim é um doce de origem portuguesa e segundo consta a história, freiras de um convento utilizavam gemas de ovos para engomar roupas e quando estas sobravam faziam doces a base de ovos e amêndoas, chamados de Brisa de liz. Com a chegada destes quitutes ao Brasil foi retirada a amêndoa, e o coco (de origem africana) foi incorporado à receita, portanto o Quindim é um doce tipicamente brasileiro.<sup>2</sup>

O quindim é um alimento composto por gemas de ovos, açúcar, coco ralado e manteiga, cujo nome de origem africana significa meiguice, encanto.<sup>3</sup> Por ser um alimento que exige preparação manual há diversos fatores que contribuem para a contaminação deste por micro-organismos patogênicos dentre eles estão a falta de higiene dos manipuladores, dos utensílios e do local de preparo. Outros fatores que podem contribuir para contaminação são o armazenamento e exposição incorretos.<sup>4</sup> A contaminação também pode ocorrer devido a um dos componentes do alimento, como por exemplo o ovo, pois segundo Silva a contaminação por *Salmonella* spp. está localizada na gema de ovos e os processos convencionais de desinfecção destes, não são eficientes.<sup>5</sup>

No Brasil acredita-se que a incidência de doenças de origem alimentar seja bastante elevada. Em países desenvolvidos o abastecimento de gêneros alimentícios é considerado seguro no ponto de vista de higiene e saúde pública, mas ainda assim há ocorrências de doenças desta natureza.<sup>6</sup>

As doenças transmitidas por alimentos (DTA's) apresentam um quadro clínico bem característico de gastroenterites como diarreias, dores abdominais, náuseas, vômitos, acompanhados de febre ou não e até mesmo quadros de anorexia.<sup>7</sup> Estas doenças causadas por micro-organismos são capazes de gerar infecções alimentares (ingestão de micro-organismos viáveis) e intoxicações alimentares (toxinas produzidas por estes).<sup>8</sup> O período de incubação, a gravidade e a duração da doença podem ser diferentes, em função da idade, do estado nutricional, da sensibilidade individual e da quantidade de alimento ingerido.<sup>6</sup>

Os principais causadores das DTA's são: as bactérias, *Salmonella* spp., *Shigella* spp, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* e *Clostridium perfringens*; os vírus, *Rotavirus* e *Norwalk*; e os parasitas como a *Entamoeba* spp, *Giardia lamblia* e *Cryptosporidium parvum*. Estas doenças também podem ser ocasionadas pela ingestão de alimentos contendo substâncias tóxicas como metais pesados e agrotóxicos.<sup>9</sup>

De acordo com Granada et al. os micro-organismos mais encontrados em quindins são, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp. e *Bacillus cereus*.<sup>10</sup>

E segundo Mortatti outros micro-organismos frequentemente encontrados são os pertencentes ao grupo dos coliformes totais e os termotolerantes.<sup>11</sup>

A *Escherichia coli* é um bacilo Gram-negativo, coliforme termo tolerante, anaeróbio facultativo, reduz nitrato a nitrito, fermenta glicose e lactose, é oxidase negativa, além de possuir fatores de virulência. Suas cepas envolvidas com infecções intestinais são denominadas *E. coli* diarreiogênicas e estas são classificadas em : *E. coli* enteropatogênica (EPEC), é a mais importante no que diz respeito a diarreia infantil; *E. coli* enterotoxigênica (ETEC), principal causa da diarreia dos viajantes; *E. coli* enteroinvasora (EIEC) que possui características semelhantes a *Shigella*, principalmente o quadro clínico da infecção; *E. coli* entero-hemorrágica (EHEC) ou produtora de toxina Shiga (STEC); *E. coli* enteroagregativa (EAEC) e *E. coli* que adere difusamente (DAEC), causadora de diarreia em crianças a cima de 1 ano de idade.<sup>12</sup>

As EPEC's são as mais encontradas nos casos de infecção alimentar, pois atravessam a barreira gástrica e se aderem à mucosa do intestino provocando alterações que levam a diarreia.<sup>13</sup> Já a *Salmonella* spp., que sorologicamente há relatos de dois mil sorotipos distintos, é um bacilo Gram-negativo, aeróbio, não formador de esporos, produzem H<sub>2</sub>S, não fermentam lactose e são produtoras de gases e produzem os mesmos efeitos no trato gastrointestinal que as EPEC's.<sup>6,13</sup> Os *Staphylococcus aureus*, são cocos Gram-positivos, catalase e coagulase positivos, produtores de toxinas termoestáveis e encontrados em grande quantidade nas mãos e

na mucosa nasal, onde 1µg de enterotoxina no alimento é capaz de gerar uma grave intoxicação, apresentando os seguintes sinais clínicos, náuseas, vômitos, dor abdominal, diarreia, prostração e ausência de febre.<sup>9,13</sup> Já os *Bacillus cereus*, são bacilos Gram-positivos, anaeróbios facultativos, formadores de esporos que podem causar dois tipos de intoxicações alimentares, descritos como emético e síndromes diarreicas. O tipo emético é causado por uma toxina resistente ao calor, pré-formada no alimento e suas principais manifestações clínicas são náuseas e vômitos. No caso da cepa causadora da síndrome diarreica a toxina é formada 'in vivo' e os sintomas geralmente são leves, impedindo assim um diagnóstico imediato.<sup>9,14</sup>

O objetivo deste estudo é detectar micro-organismos patogênicos presentes em quindins de comércio da região norte da cidade de São Paulo, de acordo com as normas estabelecidas pela RDC nº 12 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).

## **METODOLOGIA**

**Coleta de amostras:** Para o estudo, foram coletadas dez amostras de quindins de padarias e docerias especializadas em quindins da região norte do Município de São Paulo, SP. As amostras foram mantidas sob refrigeração e levadas para o laboratório multidisciplinar do Centro Universitário das Faculdades Metropolitanas Unidas, onde foram realizadas as análises.

**Determinação de Coliformes Totais e Termotolerantes:** Pesou-se asepticamente 25 g da amostra e adicionou-se 225 mL de Água Peptonada Estéril a 0,1%. O conteúdo foi homogeneizado em mesa agitadora por 10 minutos e posteriormente, colocou-se 1 mL desta diluição ( $10^{-1}$ ) em tubos contendo 9 mL de Água Peptonada Estéril a 0,1%, fazendo diluições seriadas até  $10^{-5}$ . Alíquotas desta solução foram transferidas para caldo Lauryl, com tubo de Durham invertido e incubadas a 37°C por 24-48 horas. Os tubos com leitura positiva (turvação e formação de gás) realizaram-se testes confirmatórios para presença de Coliformes Total, em caldo Lactose Bile Verde Brilhante (VB) a 37°C por 24-48 horas, testes confirmatórios para Coliformes Termotolerantes em Caldo *Escherichia coli* (EC) a 45°C em banho-maria, por 24 horas. Se positivo para EC, inocula-se 100µl em meio EMB (8 placas de Petri) sendo diferencial para este tipo de micro-organismos, estas placas foram incubadas a 37°C por 24 à 48 horas e as placas que apresentaram colônias de aspecto característico (verde metalizado), confirmando-se a presença de *Escherichia coli*.

**Determinação de *Staphylococcus aureus*:** O teste confirmatório para *Staphylococcus aureus* realizou-se a partir das diluições decimais  $10^{-2}$  até  $10^{-5}$  de Água Peptonada Estéril a 0,1%; 100µl das diluições foram transferidas para 8 placas de Petri (teste em duplicata), contendo aproximadamente 20mL do meio Baird Parker e com o auxílio de uma alça de Drigalsky devidamente esterilizada, a amostra foi espalhada por toda a superfície do meio até completa absorção. As placas foram incubadas em estufa a 37°C por 24-48 horas. Das placas que positivaram, foram retiradas colônias para realização do teste da Catalase, o qual transfere-se com uma alça, o inóculo para uma lâmina e adiciona-se uma gota de água oxigenada a 3% e observa-se o borbulhamento imediato, confirmando assim, *Staphylococcus* positivo. Em seguida, realiza-se o teste de Coagulase, no qual o inóculo foi transferido para uma lâmina e adicionou-se 1 gota de Plasma de Coelho e após dez minutos a coagulação confirma a presença de *S. aureus*.

**Quantificação de *Staphylococcus aureus*:** Para a determinação da unidade formadora de colônia, conta-se as colônias nas placas positivas com as respectivas diluições. Em seguida os resultados são adicionados na seguinte equação:

UFC (unidade formadora de colônia) = N° de colônias x volume do meio na placa x inverso da diluição.

**Determinação de *Bacillus cereus*:** Das diluições  $10^{-2}$  à  $10^{-5}$  adicionou-se 100µl de cada em placas contendo o meio Manitol com uma emulsão de gema de ovo e solução salina à 0,85%. As placas foram encubadas à 37°C por cinco dias. Caso positivas, é feita uma lâmina e esta é analisada em microscópio óptico após coloração de Gram para confirmação da morfologia de *Bacillus cereus*.

**Determinação de *Salmonella* spp. :** Da amostra inicial, pesou-se assepticamente 25 g e adicionou-se em 225 mL de Água Peptonada Estéril a 0,1%, ao qual foi homogeneizada em mesa agitadora por dez minutos, e incubadas em estufa por 24 horas à 37°C. Após esse período, transferiu-se 1mL da amostra para tubos contendo caldo Rappaport. Outra solução enriquecedora para *Salmonella* spp., foi o caldo Tetrionato onde foram transferidos em cada, 1ml da amostra. Todos os tubos foram incubados em estufa à 37°C por 24 horas.

Dos meios Rappaport e Tetrionato positivos, foram transferidos 100µl de cada para placas com meio Salmonella/ Shiguela (SS) e mantido em estufa à 37°C por 24 horas.

Testes bioquímicos para confirmação de *Salmonella* spp. : Após a positivação dos meios SS, transfere-se uma pequena porção das colônias para tubos contendo os meios TSI, Fenilalanina, Uréia, Lisina, Citrato Simmons e SIM, incuba-se a 37°C por

24-48 horas. Quando positivos confirma-se a presença de *Salmonella* spp.

## RESULTADOS

**Estabelecimento A:** Os testes foram positivos para *Staphylococcus aureus* apresentando  $2,7 \times 10^7$  UFC. Na placa positiva (Figura 1), observa-se a presença de colônias de aspecto esféricos bem definidos. A coloração de Gram e os testes de coagulase e catalase apresentaram-se positivos, confirmando-se assim a presença do patógeno em questão.

Os demais testes apresentaram-se negativos.

**Estabelecimento B:** Positivização de placas de SS, com colônias de aspecto duvidoso e coloração de Gram positiva para Bacilos Gram negativos, e devido a este fato, foram realizados testes bioquímicos que não comprovaram a presença de *Salmonella* spp., pois houve uma provável contaminação cruzada no momento dos testes. O teste realizado para *Bacillus cereus* foi positivo apresentando colônias incontáveis.

Os demais testes apresentaram-se negativos.

**Estabelecimento C:** Constatou-se a presença de incontáveis colônias de *E.coli* enteropatogênica, bem como *Salmonella* spp. e *Bacillus cereus*,  $8 \times 10^6$  UFC . Os demais testes apresentaram-se negativos.

**Estabelecimento D:** Presença de colônias incontáveis de *Bacillus cereus*. Os demais testes apresentaram-se negativos.

Os resultados apresentados são melhores expressos na Tabela 1, onde se destacam os estabelecimentos analisados no presente estudo com seus respectivos resultados comparado-os com os resultados propostos pela RDC nº12 da Anvisa.

## DISCUSSÃO

Comparando-se os resultados obtidos com os da literatura, Granada et al.<sup>10</sup>, no total de 30 amostras de quindins, obteve resultados negativos para todos os micro-organismos pesquisados, com exceção de bolores e leveduras. Segundo ele, este tipo de micro-organismo está presente nos alimentos devido a baixas temperaturas de cozimento no preparo do alimento.

Já os resultados obtidos por Mortatti et al.<sup>11</sup>, não foram isoladas cepas de *Salmonella* spp. em nenhuma amostra de quindim e em apenas quatro amostras apresentavam de 3 a 10 UFC/g de coliformes fecais . Observou-se também a presença de bolores e leveduras em 4 amostras apresentando de  $10^3$  a  $10^5$ UFC/g.

Em relação aos resultados obtidos no presente estudo, a contaminação do alimento por *Escherichia coli*, cerca de 25% (1 estabelecimento) do total de amostras, pode ser do tipo oral-fecal, pois é um micro-organismo exclusivo do trato gastro intestinal humano, fatos como estes podem ser um indicativo de condições precárias de higiene.

A presença de *Staphylococcus aureus* em 25% (1 estabelecimento) das amostras pode ser um forte indicativo de má manipulação do alimento, pois este patógeno está presente nas mucosas e extremidades do corpo humano.

Já a contaminação do alimento por *Salmonella* spp., encontrada em 25% (1 estabelecimento) dos casos, pode ter ocorrido não apenas pela contaminação oral-fecal, mas também por fazer parte da flora normal da galinha, onde no momento da formação do ovo, este se contamina e transmite ao alimento que contém este ingrediente em sua preparação.

Em 75% (3 estabelecimentos) das amostras é possível se verificar a presença de *Bacillus cereus*, este micro-organismo é conhecido como oportunista, pois cresce na ausência de competidores, por ser termoestável, são resistentes a altas temperaturas que são impostas no momento do preparo de alimentos.

Suponha-se que casos como estes de contaminação de alimentos por micro-organismos capazes de gerar as famosas DTA's, sejam devido, principalmente, as condições higiênicas sanitárias precárias, bem como a falta de informações tanto dos produtores quanto da população, gerando assim um grave problema de saúde pública.

De acordo com a Vigilância Epidemiológica <sup>9</sup>, o perfil epidemiológico das doenças transmitidas por alimentos no Brasil ainda é pouco conhecido. Somente alguns estados e/ou municípios dispõem de estatísticas e dados sobre os agentes etiológicos mais comuns, alimentos mais frequentemente implicados, população de maior risco e fatores contribuintes.

## **CONCLUSÃO**

Portanto, conclui-se que os quindins dos quatro estabelecimentos encontram-se impróprios para consumo, de acordo com as normas da RDC nº 12 (grupo 22 – letra H) da ANVISA, pois os micro-organismos encontrados no presente estudo estavam acima do permitido, dentre eles estão, *Salmonella* spp., *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*.

Para que situações como esta não voltem a se repetir, a análise microbiológica dos alimentos e o controle de qualidade se fazem necessários, desde a manipulação,

armazenamento, exposição e o cuidado higiênico sanitário até a ingestão do alimento pelo consumidor final, a fim de evitar infecções e intoxicações associadas a micro-organismos patogênicos.

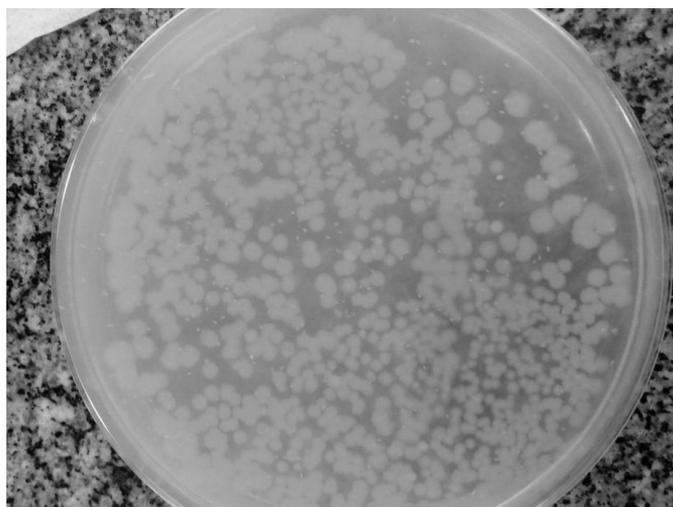
## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Neto JADF, Tasinafo CR, História geral e do Brasil, editora HARBRA Ltda., São Paulo, 2006.
2. Farias F, História do quindim (resultados não publicados).
3. Melhoramentos, Minidicionário da Língua Portuguesa, p. 427; São Paulo: Companhia Melhoramentos, 1997.
4. Oliveira MMM. et al. , Condições higiênico-sanitárias de máquinas de moer carne, mãos de manipuladores e qualidade microbiológica de carne moída , Revista Ciênc. Agrotec., Lavras, v.32, n.6, p 93-98 ,Nov/dez.,2008.
5. Silva EM, Oliveira DD, Salmonela em ovos comerciais: ocorrência, condições de armazenamento e desinfecção da casca, Faculdade de Engenharia de Alimentos – Unicamp. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. v.52 n.6 Belo Horizonte dez. 2000.
6. Franco BDGM, Landgraf M, Microbiologia dos alimentos – São Paulo: Editora Atheneu, p.33-34, 1996.
7. Germano PML, Germano MIS, Higiene e Vigilância Sanitária de alimentos, Livraria Varela, p. 51, São Paulo, 2001.
8. Anvisa. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC. Nº12 de 2 de janeiro de 2001. Aprova o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 10 jan. 2001.
9. Ministério da saúde; Manual de Vigilância Epidemiológica de doenças transmitidas

por alimentos - DTA's, República Federativa do Brasil, p.18; 41.

10. Granada GG, Mendonça CRB, Porto C, Rosa F, Silva E, Silva WP, Koetz, PR, Zambiasi RC, Perfil-higiênico sanitário de quindins comercializados em Pelotas/RS, Revista Alimentação e Nutrição, UNESP, Araraquara, v. 14, n.1, p. 57-61, 2003.
11. Mortatti MPL, Zavariki ACM, Outuka MS, Silva KC, Matiazi HJ, Leite KMC , Avaliação microbiológica de doces cremosos comercializados na cidade de Araraquara-SP, Revista Alimentação e Nutrição, UNESP, São Paulo, 4; p.89-97, 1992.
12. Moura MRSAL, Mello MJG, Calábria WB, Germano EM, Maggi RRS, Correia JDB, Frequência de *Escherichia coli* e sua sensibilidade aos antimicrobianos em menores de cinco anos hospitalizados por diarreia aguda, Rev. Brasileira de Saúde Materno Infantil, vol.12 nº2, Recife/PE, Abr/Jun. 2012.
13. Trabulsi LR, Alterthum F, Microbiologia. São Paulo: Atheneu, 5ª edição, p. 281, p.329, 2008.
14. Naranjo M, Denayer S, Botteldoorn N, Delbrassinne L, Veys J, Waegenaere J, Sirtaine N, et al. Sudden death of a young adult associated with *Bacillus cereus* food poisoning. J. Clin. Microbiol. Brussels, Belgium Dez. 2011.

## ANEXO I



**Figura 1** - Placa positiva para *Staphylococcus aureus*.

## ANEXO II

**Tabela 1** – Tabela comparativa entre os resultados permitidos pela RDC nº 12 da ANVISA e os obtidos no presente estudo.

	<b>Coliformes a 45°C/g</b>	<b><i>Staphylococcus aureus</i></b>	<b><i>Bacillus cereus</i></b>	<b><i>Salmonella</i> spp.</b>
RDC Nº12	10 <sup>2</sup> UFC/ml	10 <sup>3</sup> UFC/ml	10 <sup>3</sup> UFC/ml	Ausente
A	-	2,7x10 <sup>7</sup> UFC/ml	-	-
B	-	-	Incontáveis	-
C	Incontáveis	-	8x10 <sup>6</sup> UFC/ml	Presente
D	-	-	Incontáveis	-

A, B, C e D indicam os estabelecimentos dos quais os quindins foram coletados para análise. O hífen (-) indica a ausência de micro-organismos.