



CENTRO UNIVERSITÁRIO LUTERANO DE PALMAS

Recredenciado pela Portaria Ministerial nº 3.607, de 17/10/05, D.O.U. nº 202, de 20/10/2005
ASSOCIAÇÃO EDUCACIONAL LUTERANA DO BRASIL

LETHICIA FERNANDES RIOS

**ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE BOMBONS ARTESANAIS
COMERCIALIZADOS EM PALMAS - TO**

Palmas - TO

2015

LETHICIA FERNANDES RIOS

**ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE BOMBONS ARTESANAIS
COMERCIALIZADOS EM PALMAS - TO**

Monografia apresentada como requisito parcial da disciplina TCC em Ciências Farmacêuticas do Curso de Farmácia, coordenada pela Prof.^a MSc. Marta C. de Menezes Pavlak.

Orientadora: Prof.^a MSc. Marta C. de Menezes Pavlak

Palmas – TO

2015

LETHICIA FERNANDES RIOS

**ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE BOMBONS ARTESANAIS
COMERCIALIZADOS EM PALMAS - TO**

Monografia apresentada como requisito parcial
da disciplina TCC em Ciências Farmacêuticas
do Curso de Farmácia, coordenada pela Prof.^a
MSc. Marta C. de Menezes Pavlak

Aprovado em: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a MSc. Marta C. de Menezes Pavlak
Centro Universitário Luterano de Palmas

Prof.^a MSc. Juliane Farinelli Panontin
Centro Universitário Luterano de Palmas

Prof.^a Dr.^a Dayane Otero Rodrigues
Centro Universitário Luterano de Palmas

Palmas – TO

2015

Dedico este trabalho, a Deus, aos meus pais, Djalma e Neta, a meu irmão, Gustavo e minha sobrinha Maryana, por terem acreditado em meu potencial ao longo do curso, por todo incentivo e compreensão de minha ausência.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus pela oportunidade que me destes e por me guiar da melhor forma para chegar até aqui, dando-me a força necessária nos momentos difíceis.

Aos meus queridos e amados pais, Djalma Rios e Neta Fernandes, por todo amor e dedicação durante a minha trajetória.

Ao meu irmão, Gustavo Rios, por ajudar-me a concluir mais uma etapa da vida, pois sempre que precisei ele esteve disposto a me ajudar. Obrigada maninho.

A minha sobrinha, Maryana Rios, que me ajudou indiretamente a mudar e me dedicar melhor aos estudos. Te amo princesa.

A toda minha família que me apoiou de todas as formas possíveis, em especial minhas tias Vanúcia Rios, por me ajudar a concluir este trabalho e minha tia Eirilúcia Fernandes, que sempre me incentivou.

Aos meus primos, Lorena, Kaline e Guilherme por me acompanharem em todos os momentos de minha vida.

Aos meus amigos, Janaína, Hiago, Jéssica, Antônia, H-menon, Cintia, Antonielly, Francielly, Fernanda, Priscylla, Marla, Ana Lúcia, Jhonsom, Paola, meus companheiros de caminhada, juntos nos ajudamos como podíamos pra que pudéssemos chegar ao final desta etapa.

E claro, Valéria de Freitas, minha companheira desde o início e que fez de tudo pra que eu pudesse chegar ao fim. Obrigada amiga, por tudo que fizestes, não há palavras que possam descrever o tamanho da minha gratidão.

A Brenda Albuquerque, que chegou no momento que eu mais precisava, ajudando-me nos momentos mais difíceis, me ouviu, me acalentou, aconselhou e me compreendeu durante todo esse tempo. A você o meu muito obrigada, sem você eu não teria passado por tudo de uma forma tão simples.

Aos meu queridos e amados mestres, por me capacitar a ser uma profissional. Vocês fazem parte desta vitória.

A minha orientadora, Marta Pavlak, que me aguentou todo esse tempo, pela paciência imensa que teve comigo. Peço também desculpas pelos momentos inoportunos e agradeço profundamente por me ajudar a concluir essa etapa.

Muito obrigada a todos por participarem e fazerem parte da minha vida.

Existem muitas hipóteses em ciência que estão erradas. Isso é perfeitamente aceitável, elas são a abertura para achar as que estão certas.

(Carl Sagan)

RESUMO

RIOS, Lethicia Fernandes. **Análise Microbiológica de Bombons Artesanais Comercializados em Palmas – TO**, 2015. 31 f. Monografia (Graduação em Farmácia). Centro Universitário Luterano de Palmas, Palmas - TO, 2015.

A produção de alimentos requer o estabelecimento de normas, limites e padrões, inspeção e controle de fiscalização, para que assim ocorra a garantia do produto e consequente saúde do consumidor. A produção artesanal de alimentos foge de todos esses fatores, com isso as condições higiênico-sanitárias da produção de bombons artesanais podem desencadear intoxicação alimentar. Em vista disso, este trabalho teve como principal objetivo, analisar microbiologicamente amostras de bombons artesanais com recheio de coco e brigadeiro de cinco produtores da cidade de Palmas – TO. Para essa análise foi utilizado o método de Número Mais Provável (NMP) para estimar a contaminação de Coliformes totais e termotolerantes, descrito por Silva e colaboradores (2010). O método de contagem direta em placa foi usado para analisar presença de *Staphylococcus* spp. e *Salmonella* sp. Os resultados obtidos foram comparados com a Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001, da Anvisa. Das 10 amostras analisadas todas foram positivas para coliformes totais e termotolerantes, classificando-os como insatisfatório. Os resultados para *Staphylococcus* mostraram positividade em 20% das amostras. Para a contagem de *Salmonella* sp. 10% das amostras indicou contaminação por esta bactéria, estando também em desacordo com a legislação. Os resultados indicam possivelmente o não cumprimento da legislação vigente pelos produtores, assim, não há garantia da qualidade higiênica do bombom.

Palavras-chave: Coliformes totais. *Staphylococcus* spp. *Salmonella* sp. Comércio Ambulante.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	8
2 OBJETIVOS	10
2.1 Objetivo geral	10
2.2 Objetivos específicos	10
3 REFERENCIAL TEÓRICO	11
3.1 Comércio Ambulante	11
3.2 Legislação	12
3.3 Definição e características gerais do chocolate	14
3.4 Contaminação Microbiológica	14
3.4.1 Coliformes totais e termotolerantes	15
3.4.2 <i>Salmonella</i> sp.	16
3.4.3 <i>Staphylococcus</i> spp.	17
4 METODOLOGIA	19
4.1 Obtenção das amostras	19
4.2 Preparo das amostras	19
4.3 Análises microbiológicas	20
4.3.1 Coliformes totais e termotolerantes	20
4.3.1.1 <i>Teste presuntivo</i>	20
4.3.1.2 <i>Teste confirmatório</i>	20
4.3.2 <i>Salmonella</i> sp.	21
4.3.3 <i>Staphylococcus</i> spp.	22
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
6 CONCLUSÃO	28
REFERÊNCIAS	29

1 INTRODUÇÃO

A alimentação na rua possui aspectos positivos para a sociedade, como a diversidade nutricional e econômica. Já como negativo, tem-se as questões higiênico-sanitárias escassas. Essa ameaça à saúde pública é advinda das técnicas de higiene inadequadas para a manipulação dos alimentos, assim como também da baixa qualidade de matérias primas, armazenamento e temperaturas abaixo dos critérios de segurança (LUCCA; TORRES, 2002).

Um alimento quando preparado já apresenta contaminação natural. A contagem desses micro-organismos é que irá avaliar o grau da contaminação, antes que ocorra a deterioração do produto. A preocupação em volta desta área se dá através do controle de fatores que intervenham no crescimento desses contaminantes, uma vez que fatores intrínsecos e extrínsecos aceleram esse processo (FRANCO; LANDGRAF, 1996; CUNHA; SILVA, 2006).

A garantia de qualidade requer matérias primas confiáveis, conforme relata Lucca e Torres (2002) e Reolon e colaboradores (2012), para garantir assim que as características físicas, químicas ou sensoriais, sejam preservadas. Como complementação dessa qualidade é necessário que ocorra a implantação de padrões a serem seguidos, afim de não comprometer a saúde do consumidor, ao erradicar ou reduzir ao limite tolerável pela legislação o número de contaminantes (RICHTER; LANNES, 2007b; SOUSA et al., 2010; FRANCO; LANDGRAF, 1996; GERMANO; GERMANO, 2011).

As doenças transmitidas por alimentos são bastante comuns na população, o que vem despertando o interesse em estudar esses indicadores (FRANCO; LANDGRAF, 1996; REOLON et al., 2012; REIS; KATSUDA, 2014). Dentre os micro-organismo analisados em alimentos, os Coliformes totais e termotolerantes, *Staphylococcus* spp. e *Salmonella* sp. são os cobrados pela legislação RDC 12/2001 para bombom artesanal (BRASIL, 2001).

O avanço do poder público para este setor tem sido primordial, porém ainda há limitações, que vem sendo ajustadas, a realidade do comércio no Brasil (CARDOSO; SANTOS; SILVA, 2009). Esse processo de transformação requer implementações de serviços que gerem qualidade sanitária, tendo como consequência a redução das doenças transmitidas por alimentos (CAFERATTE et al., 2007).

O controle microbiológico seguido das Boas Práticas de Manipulação é essencial para garantir a qualidade do produto final, estabelecendo os critérios da RDC 12/2001 que preconiza uma tolerância para a possibilidade de presença de micro-organismos em bombons recheados, assegurando a saúde do consumidor (BRASIL, 2001). Sendo assim importante avaliar o

desenvolvimento de micro-organismos presentes em bombons artesanais comercializados em Palmas – TO.

2 OBJETIVOS

2.2 Objetivo geral

Avaliar a presença de micro-organismos em bombons artesanais comercializados na cidade de Palmas – TO.

2.3 Objetivos específicos

- Verificar a presença de coliformes totais e termotolerantes, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella* sp. presentes nos bombons artesanais;
- Comparar os valores observados com os padrões da legislação;
- Descrever os possíveis danos à população com o consumo de bombons contaminados;
- Apontar medidas de controle da contaminação dos bombons.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Comércio Ambulante

As diversas mudanças ocasionadas nos hábitos alimentares da sociedade tem-se evidenciado com o aparecimento do consumo de comida de rua, que está condicionada a diversos fatores, como razões econômicas, profissionais e culturais, condicionando a um aumento da oferta do serviço (LEAL, 2010).

As leis que definem e liberam o comércio informal no Brasil são de responsabilidade municipal, porém, no conceito geral, o comércio ambulante é definido como uma atividade comercial exercida por pessoas físicas ou feirantes autônomos, sem vinculação com terceiros, que transportam mercadorias com seus próprios meios e as vendem nos locais do seu trânsito, fora dos mercados urbanos e municipais e em locais afixados pela administração municipal (NOBREGA, 2008).

O preparo e comércio de alimentos por ambulantes vêm tornando-se cada vez mais abrangente no Brasil, sendo uma consequência do crescimento urbano acelerado, da praticidade e da falta de oportunidades no mercado de trabalho, constituindo uma atividade econômica alternativa para os desempregados. Devido aos problemas socioeconômicos de vários países, esta tem sido a porta de entrada também para os microempresários que atuam formalmente após adquirirem uma melhor estabilidade financeira com a informalidade, promovendo o crescimento deste setor da economia (GENTA; MAURÍCIO; MATIOLI, 2005; LEAL, 2010; RODRIGUES et al., 2010; PARISSENTI et al., 2013).

O Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas (SEBRAE) oferece ao comerciante informal que possui baixa renda mensal, programas para adequação à legislação, sendo um Microempreendedor Individual (MEI), passando assim a ter facilidades, incluindo a isenção dos tributos federais, benefícios previdenciários e cursos de capacitação que visam melhor lucratividade ao comerciante (SEBRAE, 2015).

Mesmo com todos os programas oferecidos pelo governo, o número de comerciantes informais vem evoluindo, pois oferece algumas vantagens, tanto ao consumidor quanto ao vendedor. Ao primeiro é atribuída a vantagem de alimentos com menor custo, conveniência e uma maior variedade, se comparadas com o comércio formal. Ao segundo, as principais vantagens se devem ao baixo investimento de capital inicial e o não pagamento de impostos.

Contudo, questões higiênico-sanitárias são consideradas pontos negativos para esse tipo de comércio, pois o não pagamento de impostos gera para o comerciante, locais deficientes de sanitários e água potável, podendo dificultar a higiene ideal das mãos e equipamentos utilizados durante o preparo do alimento (NOBREGA, 2008).

Esta mudança frequente de hábitos alimentares pode caracterizar um alto risco para a saúde dos consumidores, uma vez que a grande maioria dos envolvidos nesta área encontra-se incapacitado para o preparo adequado dos alimentos, assim como muitas vezes são privados de condições apropriadas de preparo, favorecendo a contaminação com micro-organismos patogênicos (RODRIGUES et al., 2010; PARISENTI et al., 2013).

Mallon e Bortolozo (2005) relatam em estudo realizado em Ponta Grossa – PR, que as condições sanitárias nas quais os alimentos são produzidos e/ou armazenados são escassas, possivelmente devido não haver tanta cobrança de fiscalização. Uma vez que essa fiscalização deve ser realizada por órgãos municipais, sendo que, alguns não possui essa prática e naqueles que possui possivelmente são escassas.

A produção de alimentos requer cuidados para que haja a garantia e segurança alimentar, assim os envolvidos em sua produção tornam-se os responsáveis por essa qualidade. Cada tipo de alimento exige uma responsabilidade diferente, sendo esta atribuída desde o produtor até os órgãos oficiais, cabendo a estes o dever de orientar e fiscalizar as atividades realizadas pelo produtor do alimento, assim como garantir que as legislações vigentes sejam cumpridas (BRASIL, [s.d]).

3.2 Legislação

Os novos conceitos alimentícios e o avanço tecnológico junto a exportação abrangente de alimentos implicam a necessidade de ação de órgãos que assegure o mercado de forma harmônica, promovendo a qualidade dos alimentos (CANDIDO et.al, 2008).

Afim de garantir a saúde do consumidor, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), regulamentou os padrões microbiológicos para alimentos, por meio da RDC 12/2001, definindo os critérios indispensáveis para a avaliação das Boas Práticas de Produção de Alimentos e Prestação de Serviços, para que assim controle-se as possíveis causas das Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA) (BRASIL, 2001).

A necessidade de aperfeiçoar o controle sanitário nesta área e consequente proteção da saúde do consumidor também foram critérios para que a ANVISA regulamentasse os padrões microbiológicos para os alimentos (BRASIL, 2001).

Para ter um maior controle alguns critérios devem ser seguidos para o estabelecimento do padrão microbiológico, considerando de forma isolada ou em conjunto as características dos micro-organismos e/ou suas toxinas de interesse sanitário para cada alimento, conforme referenciado pela RDC 12/2001, da ANVISA. Sendo os limites toleráveis avaliados através de critérios que complementam a vigilância e rastreamento de micro-organismos patogênicos. Assim, a análise microbiológica de bombom contendo recheio deve ser realizada com base na presença de Coliformes totais e termotolerantes, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella* sp.

A garantia de qualidade e a conformidade de produtos alimentícios requer a adoção de medidas de Boas Práticas de Fabricação (BPF), que devem seguir regulamentos técnicos (BRASIL, 2015). A RDC 275/2002 visa o aperfeiçoamento das ações de controle sanitário para alimentos afim de proteger à saúde da população e harmonizar ações de inspeção sanitária para estabelecimentos produtores/industrializadores desses produtos no Brasil, aprovando o Regulamento Técnico de Procedimentos Operacionais Padronizados e a Lista de Verificação das Boas Práticas de Fabricação (BRASIL, 2002).

Afim de reforçar a harmonização das ações de inspeção sanitária elaborou-se a RDC 216/2004, que também considera necessário a elaboração de requisitos higiênico-sanitários gerais para a produção de alimentos. Assim, veio aprovando o Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação e abrangendo o aperfeiçoamento da resolução aos órgãos de vigilância sanitária estaduais, distritais e municipais, pois com isso, consegue adequar-se as realidades locais e promover melhores condições higiênico-sanitárias (BRASIL, 2004).

A constante necessidade de aperfeiçoamento das ações de controle sanitário e de atualização da legislação sanitária de alimentos promoveu a criação da RDC 265/2005, embasada também na necessidade de avaliar o risco da saúde da população e preveni-la. Assim, a ANVISA, tem principal enfoque a inspeção no processo de produção afim de avaliar a qualidade do produto final (BRASIL, 2005).

3.3 Definição e características gerais do chocolate

Conforme relatado por Richter e Lannes (2007a) e Grunennvaldt e Kieckbusch (2009), o chocolate é um derivado do cacau (*Theobroma cacao L.*), de onde se obtém uma massa homogênea contendo a mistura do cacau com outros ingredientes, como o açúcar e leite, podendo ter recheio e cobertura. O produto final pode ainda ter diversos sabores, como amargo, meio amargo, ao leite e branco.

O chocolate possui um efeito atrativo que é produzido pelos ingredientes da sua formulação (gordura, açúcar, textura e aroma) que caracteriza o produto final. Esses ingredientes devem atender a certos critérios de qualidade, pois podem apresentar resultados desagradáveis ao consumidor, sendo assim o recheio contido nestes deverá ter as mesmas características do chocolate utilizado para que o produto se torne nutricionalmente interessante (RICHTER; LANNES, 2007b).

Segundo Medeiros e colaboradores (2012) o bombom recheado ou trufa deve conter ingredientes originais diferenciando-o do chocolate tradicional, como a adição de frutas e essências, o que o torna mais aceito no mercado, aumentando o consumo pelo público alvo e favorecendo a sobrevivência dos comerciantes.

Outro fator importante que aumenta a aceitabilidade do bombom é o cumprimento das legislações vigentes que padronizam o limite de micro-organismos presentes nos bombons, que devem ser assegurados com ações de Boas Práticas de Fabricação, uma vez que a manipulação favorece a contaminação.

3.4 Contaminação Microbiológica

Os micro-organismos podem ser encontrados no ar, na água, no solo e inclusive nos animais e plantas, podendo ser classificados como parasitas e não parasitas. Os parasitas necessitam de um hospedeiro para sua sobrevivência, podendo causar danos a este. Porém podem ser utilizados de forma benéfica, como na fabricação de alimentos e no auxílio de atividade funcionais do dia a dia, neste caso, são classificados de micro-organismo nutrificantes, quando promovem danos à saúde, são chamados de micro-organismo patogênicos (TORTORA; CASE; FUNKE, 2012).

A multiplicação de micro-organismos é dependente do tipo de alimento e de fatores que predisõem esse desenvolvimento, pois possuem uma velocidade de multiplicação dependente das condições proporcionadas pelo alimento e de fatores intrínsecos, tais como atividade da água, pH e conteúdo de nutrientes e fatores extrínsecos, que são aqueles relacionados ao ambiente que cerca o alimento, como umidade relativa, temperatura ambiente e armazenamento. Essas condições podem ser favoráveis ou limitantes a essa multiplicação, depende do tipo do micro-organismo contaminante. Por isso a importância de realizar o controle da qualidade microbiológica, pois algumas bactérias podem causar danos de forma infecciosa ao indivíduo que a consome (FRANCO; LANDGRAF, 1996; GAVA; SILVA; FRIAS, 2008).

O processamento do bombom deixa-o favorável à contaminação, uma vez que seus ingredientes são predisponentes a esta, e a manipulação inadequada poderá vir a contaminar o alimento. Uma vez contaminado e com condições favoráveis à multiplicação, os micro-organismos podem mudar as características físicas e químicas do produto, alterando as características sensoriais do bombom, podendo levá-lo a deterioração, provocando intoxicações e infecções alimentares (PELCZAR; CHAN; KRIEG, 1997).

A análise microbiológica de um alimento é realizada através de técnicas microscópicas especiais e procedimentos de cultura, sendo estes empregados a depender do tipo de alimento analisado e pelo propósito específico da análise, e além do tipo de micro-organismo objetivado na pesquisa. No caso da análise do bombom e dos micro-organismos analisados conforme a RDC 12/2001 (Coliformes, *Staphylococcus* e *Salmonella* sp), a análise é realizada pela presença ou ausência do micro-organismo, através da técnica de número mais provável de bactérias desenvolvidas em meio favorável, conseguindo assim avaliar a segurança e qualidade do alimento (PELCZAR; CHAN; KRIEG, 1997; DOYLE; BEUCHAT; MONTIVILLE, 1997 apud CUNHA; SILVA, 2006).

3.4.1 Coliformes totais e termotolerantes

Os coliformes são pertencentes à família Enterobacteriaceae, e tem como habitat natural o trato gastro intestinal humano e alguns ambientes, por isso são designados como coliformes totais. A presença de coliformes pode ser uma indicação de qualidade higiênica de alimentos, porém a presença destes em quantidades pequenas não representa necessariamente contaminação do alimento, devendo ser avaliada o número provável de contaminantes e

comparação à legislação (GAVA; SILVA; FRIAS, 2008; SILVA et al., 2010; TEJADA et al., 2012).

A *Escherichia coli*, é um dos principais coliformes termotolerantes, tendo como habitat natural o intestino humano e animal, caracterizando a contaminação do alimento como de origem fecal, através de seus biosorogrupos. Devido sua capacidade de desenvolvimento a altas temperaturas, até 45°C, os coliformes termotolerantes são capazes de degradar a lactose presente no alimento de ataque, o que favorece a sua proliferação em alimentos contendo esse substrato. (FRANCO; LANDGRAF, 1996; GAVA; SILVA; FRIAS, 2008).

Os coliformes também são um dos causadores das infecções alimentares, também conhecidas como toxicoinfecções, que são doenças transmitidas através da ingestão de patógenos dentro de alimentos contaminados, que se desenvolvem e produzem toxinas, capazes de causarem doenças do trato intestinal e até mesmo em outras áreas do corpo (PELCZAR; CHAN; KRIEG, 1997; GAVA; SILVA; FRIAS, 2008).

3.4.2 *Salmonella* sp.

Um dos micro-organismos mais comumente causador de doenças de origem alimentares são as bactérias do gênero *Salmonella*, que são bacilos Gram-negativos, não esporogênicos, anaeróbicos facultativos e oxidase negativa, também pertencentes à família Enterobacteriaceae, sendo considerados também como coliformes do tipo patogênico (GAVA; SILVA; FRIAS, 2008; SILVA et al., 2010).

As amostras de *Salmonella* são encontradas em dois tipos, sendo eles a *Salmonella* entérica e a *Salmonella bongori*, que estão divididas em subgrupos. Destes subgrupos, a *Salmonella typhimurium* é considerada uma das maiores causadoras de infecção de origem alimentar (PELCZAR; CHAN; KRIEG, 1997; GAVA, 1998; GAVA; SILVA; FRIAS, 2008).

Na grande maioria das vezes, uma infecção por *Salmonella* em um indivíduo adulto costuma causar uma enterocolite que pode evoluir sem complicações e desaparecer em alguns dias (TRABULSI et. al, 1999), sendo que estas gastroenterites são frequentes. A toxina responsável por essa toxicoinfecção se encontra principalmente na parede celular da bactéria e quando rompida é liberada no meio. Os sintomas advêm de uma contaminação por um grande número de bactérias, uma vez que são eliminadas rapidamente do organismo, e apenas algumas conseguem sobreviver e se multiplicarem em números suficientes de causarem os principais

sintomas, entre oito a quarenta e oito horas após a ingestão de água e alimentos contaminados. Náuseas, vômitos, diarreias e febre são os principais sintomas relatados, podendo permanecer por até três dias após o surgimento do primeiro deles, podendo ser fatal em crianças e idosos devido à menor resistência à infecção (PELCZAR; CHAN; KRIEG, 1997; GAVA, 1998; GAVA; SILVA; FRIAS, 2008).

3.4.3 *Staphylococcus spp.*

Os *Staphylococcus* são micro-organismos capazes de causarem intoxicação alimentar. O *S. aureus* é a espécie de maior importância para microbiologia alimentar, pois é um dos maiores causadores de intoxicações no nosso meio, devido suas enterotoxinas serem termosensíveis, ou seja, não são destruídas pelo calor empregado durante o processo de produção do alimento (cozimento). *S. aureus* e *S. epidermidis* habitam comumente a pele humana, o que predispõe a contaminação dos alimentos durante a sua manipulação, devido as falhas na higiene pessoal durante o processo de fabricação (GAVA; SILVA; FRIAS, 2008; GERMANO; GERMANO, 2011; TEJADA et al., 2012).

As intoxicações alimentares ou doenças toxinogênicas são provocadas pela ingestão de alimentos contendo toxinas de micro-organismos que foram produzidas e liberadas durante o processo de fabricação do alimento, sendo estas toxinas ingeridas junto ao alimento as responsáveis pelos sintomas apresentados (PELCZAR; CHAN; KRIEG, 1997; GAVA, 1998; GAVA; SILVA; FRIAS, 2008).

Dentre as intoxicações alimentares mais comuns podemos destacar a intoxicação estafilocócica, que é causada pelo *Staphylococcus aureus*, quando este produz e libera enterotoxina durante seu desenvolvimento no alimento, que ao ser ingerido pode causar gastroenterite ou inflamação das mucosas gástricas e intestinais. Por ser uma intoxicação simples, muitas vezes passa despercebida, sendo difícil estimar sua ocorrência, mas quando se apresentam com caráter perceptível, seus sintomas aparecem cerca de uma a seis horas após a ingestão, com vômitos e diarreias. A duração é de dois dias, com baixa mortalidade, exceto quando em associações com outras doenças (PELCZAR; CHAN; KRIEG, 1997; GAVA, 1998; GAVA; SILVA; FRIAS, 2008).

Conforme Franco e Landgraf (1996), nem todo alimento contaminado por patógenos pode causar uma doença, esse fato só pode vir a ocorrer quando estes micro-organismos vencem

as defesas naturais do organismo do indivíduo. Assim, nem todos os indivíduos que consomem o mesmo agente patogênico em um alimento contaminado desencadeiam a sintomatologia de uma doença transmitida por alimentos, pois o período de incubação, o estado nutricional, idade e a sensibilidade individual e até mesmo o inóculo bacteriano ingerido influenciam na contaminação.

A qualidade e segurança dos alimentos são de fundamental importância para evitar que doenças sejam adquiridas com o consumo de alimentos. Algumas medidas simples e baratas podem ser tomadas para que essa qualidade seja garantida como um maior cozimento do alimento, uma conservação adequada para cada ingrediente e para o produto acabado, manutenção e limpeza ideal dos utensílios utilizados na preparação, higienização correta do local de preparo e uma higienização das mãos antes de manipular os produtos (PELCZAR; CHAN; KRIEG, 1997).

Dentro desse contexto, destaca-se o controle microbiológico, que reflete a adequação das medidas acima citadas, retratando a qualidade do produto.

4 METODOLOGIA

4.1 Obtenção das amostras

Para realização deste estudo foram adquiridas amostras de cinco comerciantes da cidade de Palmas - TO, entre a região sul e central. Dentre eles, os fornecedores 1 e 3 se enquadram como comerciantes formais e os demais informais. As amostras escolhidas foram do tipo brigadeiro, denominada de amostra A, e as amostras do tipo coco, denominada de amostra B.

As amostras foram adquiridas no mês de abril de 2015, sendo todas adquiridas momentos antes da análise e armazenadas em caixas térmicas higienizadas contendo gelo e devidamente lacradas, em seguida foram armazenadas em geladeira até o momento da análise, a fim de garantir a integridade do produto (SILVA et al., 2010).

A obtenção das amostras foi de forma aleatória, levando em consideração sua boa integridade e excluindo bombons com algum tipo de deformação e/ou que já estivessem com uma pré-deterioração e encaminhadas imediatamente ao Laboratório de Microbiologia para as análises microbiológicas.

4.2 Preparo das amostras

Após aquisição das amostras, as mesmas foram trituradas individualmente, com auxílio de uma espátula em um becker, higienizados com álcool 70%. Foram pesados 25g de cada amostra triturada e adicionadas a 225mL de água peptonada 0,1%, esterilizada, tendo assim a diluição 10^{-1} , sendo a partir desta preparadas as diluições 10^{-2} e 10^{-3} , adicionando 1mL das alíquotas à 9mL de água peptonada conforme relatado por Silva e colaboradores (2010).

4.3 Análises Microbiológicas

4.3.1 *Coliformes totais e termotolerantes*

A técnica de análise para coliformes totais e termotolerantes adotada foi o método clássico de contagem de micro-organismos do Número Mais Provável (NMP), que inclui o teste presuntivo e o teste confirmatório (SILVA et al., 2010).

4.3.1.1 *Teste Presuntivo*

No teste presuntivo foram utilizadas três séries de tubos de ensaio com tubos de Durhan invertidos contendo 10mL de Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST), no qual foram adicionados alíquotas de 1mL das diluições realizadas das amostras (10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3}). Em seguida os mesmos foram levados para estufa à 35°C por 24-48h de incubação. Após o período de incubação os tubos que apresentaram crescimento e produção de gás, caracterizados por turvação e formação de bolhas, foram classificados como teste positivo, os que não obtiveram nenhum tipo de alteração foram classificados como teste negativo (SILVA et al., 2010).

4.3.1.2 *Teste Confirmatório*

O teste para confirmação foi realizado nos tubos considerados positivos no teste presuntivo. Em tubos de ensaio contidos tubos de Durhan invertidos, contendo Caldo Verde Brilhante Bile 2% (VB) e Caldo de *E. coli* (EC) foram adicionados uma alçada de cada teste LST considerado positivo (SILVA et al., 2010).

Os tubos com o Caldo Verde Brilhante Bile 2% contendo o inóculo foram à estufa 35°C por 24-48 horas. Após a estufa os que apresentaram crescimento (turvação) e produção de gás (formação de bolhas no tubo), foram considerados positivos para coliformes totais, sendo de origem fecal ou não (SILVA et al., 2010).

Os inóculos com Caldo *E. coli* foram incubados em banho-maria a 45°C por 24h. Após o período de incubação, os tubos que apresentaram crescimento e produção de gás foram considerados positivos para presença de coliformes termotolerantes (SILVA et al., 2010).

A sequência de tubos positivos adquiridos após a análise foi comparada com a tabela de NMP citada por Silva e colaboradores (2010), obtendo assim, os valores de NMP/grama do bombom.

Para os resultados omitidos da tabela de NMP, foram realizados cálculos utilizando a fórmula de Thomas, também citados por Silva e colaboradores (2010). Assim consegue-se descobrir o NMP, a partir dos valores de P, N e T, conforme fórmula abaixo:

$$\text{NMP/g ou mL} = \frac{P}{\sqrt{NT}} \quad (1)$$

P = Número de tubos positivos.

N = Soma da quantidade de amostra inoculada em todos os tubos negativos.

T = Soma da quantidade de amostra inoculada em todos os tubos.

Com intuito de avaliação e discussão dos resultados, os valores obtidos foram comparados com os padrões de identidade e qualidade do chocolate conforme a Resolução nº 12, de 2 de janeiro de 2001, conforme a Tabela 1, e classificados como satisfatório e insatisfatório.

Tabela 1 - Padronização microbiológica usada para avaliação de bombons com recheio

Micro-organismo	Tolerância para a Amostra
Coliformes totais e termotolerantes	10 NMP/g
<i>Staphylococcus aureus</i>	5x10 ² UFC/g
<i>Salmonella</i> sp.	Ausência/ 25g

Fonte: BRASIL (2001).

4.3.2 *Salmonella* sp.

Para verificar a presença de *Salmonella* sp. nas amostras analisadas, foi realizada a contagem de colônias através do método de contagem direta em placas de petri contendo Ágar *Salmonella/Shigella*, com plaqueamento em superfície das diluições obtidas (10⁻¹, 10⁻² e 10⁻³). Após a inoculação por plaqueamento em superfície, as placas foram levadas à estufa a 35°C por aproximadamente 24-48 horas. Depois do tempo de incubação, as mesmas foram retiradas da estufa e em seguida foi feito a contagem das colônias que se desenvolveram (SILVA et al., 2010).

4.3.3 *Staphylococcus* spp.

Para analisar a presença de *Staphylococcus* nas amostras de bombons artesanais foi utilizado o método de contagem direta em placas enriquecidas com Ágar Manitol, sendo realizada a semeadura em superfície com auxílio de uma alça de platina das diluições obtidas das amostras (10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3}). Sendo assim, as placas foram incubadas na estufa a 35°C por aproximadamente 24-48 horas. Após este período de incubação realizou-se a contagem das colônias formadas (SILVA et al., 2010).

Os resultados observados para a contagem de colônias de *Salmonella* sp. e *Staphylococcus* serviu para realização do cálculo de Unidades Formadoras de Colônias (UFC), utilizando a equação abaixo:

$$\text{UFC} = \text{Número de colônias} \times \text{Fator de diluição} \quad (2)$$

A partir do resultado de UFC obtido com a equação (2) foram feitas as conversões para UFC/g, considerando a massa e as diluições utilizadas.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram analisadas 10 amostras de bombom artesanal do tipo brigadeiro e coco, a fim de avaliar os aspectos microbiológicos indicadores de qualidade higiênico-sanitária. Os sabores escolhidos foram devido aos recheios terem em sua composição uma maior presença de lactose, sendo as bactérias analisadas fermentadoras de lactose. Os sabores analisados foram padronizados para todos os fornecedores, para que não ocorresse interferência de contaminação pela diferença de sabores, uma vez que determinados sabores são mais propensos à contaminação.

Após obter os resultados através da combinação de uma série de três tubos positivos, os valores foram observados na tabela de NMP, conforme citado por Silva e colaboradores (2010), para coliformes totais e termotolerantes.

Dos cinco fornecedores avaliados, todos apresentaram algum tipo de contaminação microbiológica nas amostras. Na Tabela 2 é possível observar os resultados da análise para o teste confirmatório para Coliformes totais e termotolerantes para as amostras A e amostras B.

Tabela 2 - Número Mais Provável encontrados nas amostras para Coliformes totais e termotolerantes

Fornecedor	Coliformes totais (NMP/g)		Coliformes termotolerantes (NMP/g)	
	Amostra A	Amostra B	Amostra A	Amostra B
1	27,1	>1.100	16	>1.100
2	43,8	>1.100	38,1	43,8
3	27,1	>1.100	27,1	>1.100
4	>1.100	18,9	>1.100	18,9
5	120	75	43	75

Amostra A – brigadeiro; Amostra B – coco.

Dos 5 fornecedores avaliados no meio VB, todos apresentaram resultado positivo para a presença de coliformes totais em ambas as amostras, sendo 40% das amostras em quantidade máxima (>1.100). Os resultados para o teste de coliformes termotolerantes, também tiveram contaminação geral para todos, tendo 30% das amostras em quantidade máxima.

Com base nestes dados, comparando-os com a Legislação Brasileira, observados na Tabela 1, pode-se afirmar que todas as amostras foram positivas para coliformes totais e termotolerantes, pois todos apresentaram valores superiores a 10 NMP/g.

A presença de coliformes totais e termotolerantes foi percebida com maior frequência nos resultados para os bombons de coco, pois 50% das amostras analisadas obtiveram resultados superiores quando comparados aos de brigadeiro. Sendo que dentre os de coco, os que apresentaram maior contaminação (>1.100 UFC/g) foram aqueles advindos de comércio considerado formal. Essa contaminação elevada classifica os bombons como insatisfatórios, pois indicam condições inadequadas de higiene, uma vez que a presença destes micro-organismos significa contaminação do produto com patógenos de origem fecal ou não.

A contaminação por coliformes pode ser atribuída a fatores como falha no processo de produção, armazenamento, transporte ou comercialização. Reis e Almeida (2011) em análise físico-química e microbiológica em bombons artesanais, encontraram valores para coliformes totais e termotolerantes acima do permitido, atribuindo-as às possíveis falhas no processamento e recontaminação durante o armazenamento, transporte ou comercialização.

Em estudo feito por Sousa e colaboradores (2010), ao avaliarem as condições microbiológicas, físico-química e condições de fabricação de bombom de chocolate com recheio de frutas, dentre estas coco, observaram que todas as amostras também apresentaram-se fora do padrão estabelecido pela legislação para coliformes, justificando o nível elevado, às condições precárias de higiene observadas no local de produção. Neste caso, não deve-se afirmar o mesmo, pois não foram observadas estas características durante o estudo, mas pode-se levantar a hipótese de que a não realização das Boas Práticas de Fabricação (BPF) pode ter favorecido o desenvolvimento destes micro-organismos.

Os resultados do teste microbiológico para *Staphylococcus* estão apresentados na Tabela 3. Apenas o fornecedor 1 não apresentou em suas amostras contaminação com *Staphylococcus*, os demais apresentaram contaminação, excluindo a amostra B do fornecedor 4.

Tabela 3 - Resultados encontrados para *Staphylococcus* em bombons artesanais comercializados em Palmas – TO

Fornecedor	<i>Staphylococcus aureus</i> (UFC/g)	
	Amostra A	Amostra B
1	Ausente	Ausente
2	1×10^2	$1,92 \times 10^4$
3	$1,96 \times 10^2$	$1,2 \times 10^1$
4	4×10^2	Ausente
5	4×10^1	$1,64 \times 10^2$

Amostra A – brigadeiro; Amostra B – coco.

Quando comparados com a legislação (5×10^2), apenas a amostra, B do segundo fornecedor sendo esta advinda de comércio ambulante, ultrapassou os limites preconizados, sendo assim, classificada como insatisfatória.

A contaminação por esse micro-organismo está relacionada à qualidade sanitária do produto, assim, pode-se dizer que as condições de preparo dos bombons deram-se de forma inadequada, pois a falta de higiene e proteção pessoal do manipulador, como ausência de máscara, touca, luvas e uma assepsia adequada das mãos, favorece a este tipo de contaminação, uma vez que é comum a presença destes patógenos na pele humana.

Tejada e colaboradores (2012) analisaram micro-organismos patogênicos e deteriorantes em chocolate artesanal ao leite, e também identificaram uma única amostra positiva para *Staphylococcus*, porém não consideraram a produção de enterotoxina capaz de causar intoxicação em humanos, pois conforme a FDA (1992) também citado por Tejada e colaboradores (2012), uma dose efetiva de enterotoxina só pode ser insatisfatória para consumo se a população do micro-organismo ultrapassar a 10^5 células/grama, o que não foi o caso do presente estudo realizado em Palmas - TO.

A contaminação por *Salmonella* sp. foi positiva na amostra B do quinto fornecedor de bombons artesanais, conforme pode ser observado na Tabela 4. Quando comparado o resultado positivo para *Salmonella* com a legislação vigente, conclui-se que a amostra B do fornecedor 5 é considerada insatisfatória, pois este micro-organismo deve ter ausência em bombons artesanais.

Tabela 4 - Resultados encontrados para *Salmonella* sp. em bombons artesanais comercializados em Palmas – TO

Fornecedor	<i>Salmonella</i> sp. (UFC/g)	
	Amostra A	Amostra B
1	Ausente	Ausente
2	Ausente	Ausente
3	Ausente	Ausente
4	Ausente	Ausente
5	Ausente	9x10 ³

Amostra A – brigadeiro; Amostra B – coco.

Estudos realizados por Tejada e colaboradores (2012) e por Sousa e colaboradores (2010) não detectaram presença de *Salmonella* sp. nas amostras analisadas. Neste estudo, também não houve identificação dessa bactéria para a maioria dos fornecedores, sendo 10% de todas as amostras positivas, o que classificam-as como inapropriadas para o consumo, pois a ingestão desse micro-organismo pode provocar infecção alimentar causando vômitos, náuseas e diarreias como sintomas.

A partir dos resultados obtidos através deste estudo, é possível afirmar que os bombons artesanais das amostras analisadas comercializadas em Palmas – TO não estão adequados para consumo da população, pois encontram-se com altos níveis de contaminação por patógenos capazes de causar toxicoinfecções e doenças toxinogênicas.

Pequenas ações podem contribuir para a diminuição do desenvolvimento desses micro-organismos nos bombons. A adoção de práticas de higiene pessoal, como a higienização correta das mãos antes do início do processo de produção, a assepsia adequada nos materiais e utensílios usados durante o processo de fabricação, aplicação de normas sanitárias específicas para o comércio ambulante, capacitação para os produtores e vendedores, assim como um aumento de fiscalização para esse tipo de comércio a fim de evitar o crescimento das doenças transmitidas por alimentos, podem contribuir para essa diminuição, como também armazenamento e transporte adequado e a refrigeração do produto até o momento do consumo.

Devido à pouca produção da maioria dos fornecedores, acredita-se que estes não fazem parte do programa Microempreendedor Individual (MEI), o que também pode ser um fator de contribuição para a contaminação por micro-organismo, devido ao pouco investimento em infraestrutura. Porém, mesmo os comerciantes formais, que contam com todos os aparatos para

uma boa qualidade apresentaram algum tipo de contaminação, o que aumenta a hipótese da não aderência as Boas Práticas de Fabricação durante o processo de produção, armazenamento e transporte. Assim, podem-se adotar como outras medidas de diminuição de contaminação microbiana o incentivo para regularização dos comércios e aplicação das leis de BPF.

5 CONCLUSÃO

Na análise microbiológica foi observada em relação aos coliformes, que todas as amostras encontraram-se fora dos padrões estabelecidos pela legislação vigente. Para *Staphylococcus aureus* foi observado o desenvolvimento da bactéria em 10% das amostras em ambos os recheios. Para a presença de *Salmonella* sp. foi encontrado resultado positivo para uma das amostras analisadas, sendo esta de coco. Essa contaminação pode ser devido ao bombom ser oriundo de produção caseira.

O fato de o alimento ter sido produzido artesanalmente, não significa dizer que possua qualidade higiênica insatisfatória e que não sirva para o consumo humano. Contudo, sabe-se que esses produtos não são fiscalizados por órgãos oficiais, logo, não há garantia de qualidade sanitária, pois as BPF podem ser inapropriadas, o que favorece os riscos de contaminação e perda de qualidade.

O consumo destes bombons contaminados pode provocar infecções e toxicoinfecções que muitas vezes pode passar despercebido, dependendo da resposta imunológica do hospedeiro. Quando não perceptível, o agravo desses danos pode ocasionar problemas mais graves, exigindo controle pelos serviços de saúde.

Os resultados obtidos neste estudo ressaltam a necessidade de um controle higiênico maior para a produção de bombom artesanal comercializado na cidade de Palmas - TO, a fim de garantir as condições microbiológicas ideais dos produtos oferecidos para consumo humano. Assim, os resultados obtidos servem como alerta para a necessidade da adoção de medidas higiênicas adequadas para fabricação, manuseio, armazenamento e transporte de bombom artesanal, assim como a atenção devida dos órgãos oficiais de inspeção de alimentos.

REFERÊNCIAS

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, **Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001**, Aprova O Regulamento Técnico Sobre Padrões Microbiológicos Para Alimentos. Disponível em: <<http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=144>>. Acesso em: 04 set. 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, **Resolução RDC nº 725, de 21 de outubro de 2002**. Dispõe sobre o 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. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/dcf7a900474576fa84cfd43fbc4c6735/RDC+N%C2%BA+275%2C+DE+21+DE+OUTUBRO+DE+2002.pdf?MOD=AJPERES>>. Acesso em: 14 mai. 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, **Resolução RDC nº 216, de 15 de setembro de 2004**. Dispõe sobre Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/4a3b680040bf8cdd8e5dbf1b0133649b/RESOLU%C3%87%C3%83O-RDC+N+216+DE+15+DE+SETEMBRO+DE+2004.pdf?MOD=AJPERES>>. Acesso em: 14 mai. 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, **Resolução RDC nº 265, de 22 de setembro de 2005**. Aprova Regulamento Técnico Para Balas, Bombons e Goma de Mascar. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/6558d200474586478f66df3fbc4c6735/RDC_265_2005.pdf?MOD=AJPERES> Acesso em: 04 fev. 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, **Legislação de Boas Práticas de Fabricação**. Brasília – DF, 2015. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/content/Anvisa+Portal/Anvisa/Inicio/Alimentos/Assuntos+de+Interesse/Legislacao/Boas+Praticas+Regulamentos+Gerais+e+Especificos/4daeb1804fe0df3a93c49333c3398e7d>>. Acesso em: 14 mai. 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, **Guia de Alimentos e Vigilância Sanitária**. Brasília – DF, [s.d.].

CAFERATTE, G.; PIOVESAN, C.B.; BELMONTE, F.P.; SACCOL, A.L de F.; STANGARLIN, L.; Nível de Conhecimento em Boas Práticas em Serviços de Alimentação da Cidade de Santa Maria – RS, *Disc. Scientia*. Série: Ciências da Saúde, Santa Maria, v. 8, n. 1, p. 63-70, 2007.

CÂNDIDO, L.M.B.; VIESBA, R.A.S.; MENDONÇA, D.R.B.; CRUZ, E. da; SANTOS, M.G. dos; PAVEZI, M.T.; LIBERA, S.D.; BAPTISTA, T.V.; MOSCALEWSKI, W.; Manual de Rotulagem para Alimentos Embalados: **O rotulo identifica o Alimento**. Universidade Federal do Paraná setor de Ciências da Saúde Departamento de Nutrição, Curitiba, 2008.

CARDOSO, R. de C.V.; SANTOS, S.M.C. dos; SILVA, E.O.; Comida de rua e intervenção: estratégias e propostas para o mundo em desenvolvimento, **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 14, n. 4, p. 1215-1224, 2009.

CUNHA, M.A. SILVA, M.R. e; Métodos de Detecção de Microrganismos Indicadores, **Saúde & Ambiente em Revista**, Duque de Caxias, v.1, n.1, p.09-13, jan-jun 2006.

FRANCO, B.D.G.DE M.; LANDGRAF, M.; **Microbiologia dos Alimentos**, 1º Edição, Editora Atheneu: São Paulo, 1996.

GAVA, A.J.; **Princípios de Tecnologia de Alimentos**, 1ª Edição, Livraria Nobel S.A., São Paulo, 1998.

GAVA, A.J.; SILVA, C.A.B.; FRIAS, J.R.; Tecnologia de Alimentos: **Princípios e Aplicações**, São Paulo: Nobel, 2008.

GENTA, T.M. de S.; MAURÍCIO, A.A.; MATIOLI, G.; Avaliação das Boas Práticas através de *check-list* aplicado em restaurantes self-service da região central de Maringá, Estado do Paraná. **Acta Scientiarum. Health Sciences**, Maringá, v. 27, n. 2, p. 151-156, 2005.

GERMANO, P.M.L.; GERMANO, M.I.S.; **Higiene e Vigilância Sanitária de Alimentos**, 4ª Edição, Editora Manole Ltda.: Barueri – SP, 2011.

GRUNENVALDT, F.L.; KIECKBUSCH, T.G.; **Avaliação De Propriedades Físicas E Sensoriais E Do Desempenho Tecnológico De Chocolates Produzidos Com Misturas De Manteiga De Cacau E Gorduras Low / Zero Trans**. 2009. 151 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo, 2009.

LEAL, D.; Crescimento da alimentação fora do domicílio, **Segurança Alimentar e Nutricional**, Campinas, v. 17, n. 1, p. 123-132, 2010.

LUCCA, A.; TORRES, E.A.F.S.; Condições de higiene de “cachorro-quente” comercializado em vias públicas, **Revista Saúde Pública**, v. 36, n. 3, p. 350-2, 2002.

MALLON, C.; BORTOLOZO, E.A.F.Q.; Alimentos comercializados por ambulantes: Uma questão de segurança alimentar, **Publicatio UEPG: Ciências Biológicas e da Saúde**, Ponta Grossa, v. 10, n. 3/4, p. 65-76, set. - dez. 2005.

MEDEIROS, M.J.M.; SILVA, J.F.; FAUSTINO, M.V.S.; SANTOS, M.F.G.; ROCHA, L.C.S.; CARNEIRO, L.C.; Aceitação Sensorial e Qualidade Microbiológica de Trufas de Caju obtidas artesanalmente, **Holos**, Ano 28, v. 2, p. 77-86, 2012.

NOBREGA, F.A.A.; **Análise dos Riscos Sanitários do Comércio Ambulante de Alimentos no Pre-caju 2008**, Coordenação de Vigilância Sanitária de Aracajú – SE, 2008.

PARISSENTI, A.C.; ROVEDA, B.L.G.; SALMORIA, L.C.; SANTIN, N.C.; Avaliação Microbiológica de Cachorros-quentes Comercializados por Vendedores Ambulantes na Cidade de Videira, SC, **Unoesc & Ciência - ACBS**, Joaçaba, v. 4, n. 1, p. 91-100, jan. - jun. 2013.

PELCZAR, M.J.J; CHAN, E.C.S; KRIEG, N.R., Microbiologia: **Conceitos e Aplicações**, Vol.2, 2ª Ed., São Paulo: Pearson Education do Brasil, 1997.

REIS, E.C.; ALMEIDA, V.V.; **Análise físico-química e Microbiológica de Bombons Artesanais**, 2011. 36 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso Superior de Tecnologia em Processos Químicos) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Apucarana, Paraná, 2011.

REIS, V.R.; KATSUDA, M.S.; **Avaliação da Qualidade Microbiológica de Produtos a base de Chocolates Artesanais**, 34f. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso Superior de Tecnologia em Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Londrina, Paraná, 2014.

REOLON, E.M.; SANTOS, A.R.B.; MOREIRA, V.E.; NASCIMENTO; M.S.; Pesquisa de enterobactérias em chocolates, **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 71, n. 1, p. 40-3, 2012.

RICHTER, M.; LANNES, S.C. da S.; Bombom para Dietas especiais: Avaliação Química e Sensorial, **Ciências e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 1, p. 193-200, jan.- mar. 2007a.

RICHTER, M.; LANNES, S.C. da S.; Ingredientes usados na indústria de chocolates, **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 43, n. 3, p. 357-369, jul.-set, 2007b.

RODRIGUES, F.M.; VIROLI, S.L.M.; PAVLAK, M.C. de M.; SANDI, A.L.S.; Avaliação das Condições Higiênico-sanitárias do Comércio Ambulante de Alimentos na Cidade de Paraíso do Tocantins – TO, **Revista ACTA Tecnológica - Revista Científica** - ISSN 1982-422X, Vol. 5, número 1, jan-jun 2010.

SEBRAE – Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas, **Veja como tornar-se dono de um negócio legalizado, com CNPJ, previdência e assessoria do Sebrae para se tornar lucrativo e competitivo**, Disponível em: <
<http://www.sebrae.com.br/sites/PortalSebrae/sebraeaz/Microempreendedor-Individual-conta-com-o-Sebrae>>. Acesso em: 14 mai. de 2015.

SILVA, da N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A.; TANIWAKI, M.H.; SANTOS, R.F.S.; GOMES, R.A.R.; **Manual de Métodos de Análises Microbiológica de Alimentos e Água**, 4ª Edição, Livraria Varela: São Paulo, 2010.

SOUSA, C.L.; LOURENÇO, L.F.H.; FRANCÊS, J.M. de O.; SOARES, Y.P.P.; ARAÚJO, E.A.F.; PENA, R. da S.; Avaliação Microbiológica, Físico-Química e das Condições de Fabricação de Bombom de Chocolate com Recheio de Frutas, **Alimento e Nutrição**, Araraquara, São Paulo v.21, n. 2, p. 305-310, abr.-jun., 2010.

TEJADA, T.S.; DIAS, P.A.; CONCEIÇÃO, R. de C. dos S.; TIMM, C.D.; Micro-organismos patogênicos e deteriorantes em chocolate artesanal ao leite, **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 71, n. 1, p. 178-81, 2012.

TORTORA, G.J.; CASE, C.L.; FUNKE, B.R., **Microbiologia**, 10. ed. Porto Alegre: Artmed, 2012.

TRABULSI, L.R.; ALTERTHUM, F.; GOMPERTZ, O.F.; CANDEIAS, J.A.N.;
Microbiologia, 3 ed. São Paulo: Editora Atheneu, 1999.