



Campus de São José do Rio Preto  
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS, LETRAS E CIÊNCIAS EXATAS  
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

**FERNANDA ROSAN FORTUNATO SEIXAS**

VERIFICAÇÃO DAS BOAS PRÁTICAS DE FABRICAÇÃO (BPF) E  
ANÁLISE DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE SALADAS  
ADICIONADAS DE MAIONESE COMERCIALIZADAS NA CIDADE  
DE SÃO JOSÉ DO RIO PRETO - SP

Dissertação apresentada ao Instituto de Biotecnologia, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - UNESP - Campus de São José do Rio Preto - SP, para obtenção do título de Mestre em Engenharia e Ciência de Alimentos.

São José do Rio Preto  
fevereiro de 2008

**FERNANDA ROSAN FORTUNATO SEIXAS**

**VERIFICAÇÃO DAS BOAS PRÁTICAS DE FABRICAÇÃO (BPF) E  
ANÁLISE DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE SALADAS  
ADICIONADAS DE MAIONESE COMERCIALIZADAS NA CIDADE  
DE SÃO JOSÉ DO RIO PRETO - SP**

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - UNESP - Campus de São José do Rio Preto - SP, para obtenção do título de Mestre em Engenharia e Ciência de Alimentos.

**ORIENTADOR: Prof. Dr. Fernando Leite Hoffmann**

São José do Rio Preto - SP  
fevereiro de 2008

Seixas, Fernanda Rosan Fortunato.

Verificação das Boas Práticas de Fabricação (BPF) e análise da qualidade microbiológica de saladas adicionadas de maionese comercializadas na cidade de São José do Rio Preto – SP / Fernanda Rosan Fortunato Seixas. - São José do Rio Preto : [s.n.], 2008.

102 f.: il. ; 30 cm.

Orientador: Fernando Leite Hoffmann

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista. Instituto de

Biociências, Letras e Ciências Exatas

1. Microbiologia industrial. 2. Alimentos – Microbiologia. 3. Saladas – Microbiologia. 4. Maionese – Microbiologia. 5. Leveduras – Taxonomia. 6. Salada de maionese – Microbiologia. 7. BFP(Boas Práticas de Fabricação). I. Hoffmann, Fernando Leite. II. Universidade Estadual Paulista. Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas. III. Título.

CDU - 579.67

**FERNANDA ROSAN FORTUNATO SEIXAS**

VERIFICAÇÃO DAS BOAS PRÁTICAS DE FABRICAÇÃO (BPF) E  
ANÁLISE DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE SALADAS  
ADICIONADAS DE MAIONESE COMERCIALIZADAS NA CIDADE  
DE SÃO JOSÉ DO RIO PRETO - SP

DISSERTAÇÃO PARA OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE

**BANCA EXAMINADORA**

Presidente e Orientador: Prof. Dr. Fernando Leite Hoffmann

2º. Examinador: Profª. Drª. Elisa Yoko Hirooka

3º. Examinador: Prof. Dr. Crispin Humberto Garcia Cruz

São José do Rio Preto

fevereiro de 2008

## **DADOS CURRICULARES**

### **FERNANDA ROSAN FORTUNATO SEIXAS**

**NASCIMENTO:** 29.12.1982 - São José do Rio Preto - SP

**FILIAÇÃO:** José Aparecido de Seixas Sobrinho  
Maria José Rosan Fortunato Seixas

2001/2004: Curso de Graduação em Nutrição, no Centro Universitário de Rio Preto - UNIRP

2005/2007: Especialização em Saúde Coletiva na Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto - FAMERP

2006/2008: Pós - Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos, nível mestrado, no Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas - Universidade Estadual Paulista (UNESP) - São José do Rio Preto - SP

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Microbiologia de Alimentos do Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - UNESP, Campus de São José do Rio Preto - SP.

*“Cada um de nós compõe a sua história, e cada ser em si,  
carrega o dom de ser capaz, e ser feliz”*

Renato Teixeira

***Dedico este trabalho,***

*Aos meus pais José e Maria José, que me incentivaram, apoiaram e sempre estiveram ao meu lado em todos os momentos. Obrigada pela confiança em mais esta etapa de minha vida. Vocês são meu tudo, meu porto seguro. Minha eterna admiração, respeito e amor.*

*As minhas irmãs Juliana e Lara e ao meu cunhado Luiz Guilherme, por estarem sempre ao meu lado me apoiando e incentivando.*

*Ao meu afilhado Luiz Henrique, meu tesouro, pelo sorriso que faz meu dia ser mais alegre.*

*Ao meu namorado Rodrigo, pela dedicação, apoio e incentivo, pelo amor compartilhado e por todos os momentos de carinho que me dão forças para continuar.*



## **Agradecimentos**

*A Universidade Estadual Paulista (UNESP) Campus de São José do Rio Preto (IBILCE), em especial ao Curso de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos, pela formação profissional e apoio de seus funcionários e professores.*

*Ao Prof. Dr. Fernando Leite Hoffmann, pela orientação, ensinamentos, confiança, estímulo e amizade que me proporcionaram crescimento científico e pessoal. Minha eterna gratidão, admiração e amizade.*

*A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, pelo apoio financeiro.*

*Aos técnicos do departamento de Vigilância Sanitária de Alimentos de São José do Rio Preto, pelos ensinamentos e colaboração, sem as quais este trabalho não seria concretizado.*

*Aos amigos do Laboratório de Microbiologia de Alimentos, Maria Luiza Silva Fazio, Sandra Isabel Franzotti Gubolino, Tânia Maria Vinturim Gonçalves, Vidiany Aparecida Queiroz Santos, pelo apoio, amizade e companheirismo, em especial a minha amiga Janaína Alves dos Reis, pela amizade fraternal que foi conquistada, pelos sorrisos e lágrimas compartilhados, pelo apoio, dedicação e companheirismo. Obrigada por tudo.*

*Manifesto a minha gratidão a todas as pessoas que, direta ou indiretamente colaboraram para a realização deste trabalho, as minhas amigas Crislene Barbosa de Almeida, Fernanda Roberta Carnielo Garcia, Gisele Ferreira Bueno, Jupyracyara Jandira de Carvalho Barros, Analice Cláudia de Azevedo, Raquel Gutierrez Gomes, Thaís de Souza Rocha,*

*Carolina Wingeter Merheb, Ellen Silva Lago, em especial a Tatiana Dias Leite, minha grande amiga, cuja amizade se fez em pouco tempo, mas com solidez para durar uma eternidade. Obrigada pela confiança, apoio, companheirismo e pela importante amizade que juntas conquistamos.*

*Aos amigos do Instituto Adolfo Lutz, em especial a Jacqueline Tanury Macruz Peresi, Maria do Rosário Vigeta Lopes e Ivete Aparecida Z. C. de Almeida pelos exemplos de amor, companheirismo e otimismo. Obrigada pela amizade e por estarem sempre no meu caminho me guiando e me apoiando.*

*Ao Prof. Dr. Alexandre Rodrigo Coelho e Prof. Dr. Crispin Humberto Garcia Cruz por terem prestado valiosas sugestões e correções por ocasião do exame geral de qualificação.*

*A Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Mieko Kimura, pela amizade, apoio e incentivo.*

*A Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Adriana Barbosa Santos pelo auxílio na confecção dos gráficos.*

*Ao Prof. Dr. Luigi Odello, pelo incentivo, apoio psicológico e pela importante amizade que conquistamos.*

*Obrigada por tudo!*

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE FIGURAS.....</b>	<b>xiv</b>
<b>LISTA DE QUADROS.....</b>	<b>xv</b>
<b>LISTA DE TABELAS.....</b>	<b>xvii</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>xviii</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>xx</b>
<b>1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA.....</b>	<b>1</b>
<b>2. OBJETIVOS.....</b>	<b>3</b>
<b>3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>4</b>
3.1. Surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA).....	4
3.2. Fatores que contribuem para ocorrência de DTA.....	6
3.3. Importância dos restaurantes e similares na ocorrência de DTA.....	7
3.4. Saladas adicionadas de maionese incriminadas nos surtos de DTA.....	8
3.5. Processamento de salada adicionada de molho de maionese.....	11
3.5.1. Fatores que interferem nas condições higiênico-sanitárias de vegetais.....	13

3.5.2. Fatores que interferem na sobrevivência e multiplicação microbiana no molho de maionese.....	15
3.5.3. Conservante alimentício sorbato de potássio (INS - 202)..	17
3.6. Contaminantes microbiológicos em molhos e saladas de maionese.....	19
3.6.1. Bolores e leveduras.....	19
3.6.2. Coliformes totais (35°C) e termotolerantes (45°C).....	21
3.6.3. <i>Staphylococcus aureus</i> (coagulase positiva).....	22
3.6.4. <i>Salmonella</i> spp. ....	24
3.7. Boas Práticas de Fabricação (BPF).....	26
3.7.1. Manipuladores de alimentos.....	29
3.8. Vigilância Sanitária de alimentos.....	30
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>33</b>
4.1. Obtenção das amostras.....	33
4.2. Preparo das amostras.....	34
4.3. Enumeração de bolores e leveduras.....	34
4.4. Contagem de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	34
4.5. Determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais.....	35

4.6. Determinação do NMP de coliformes termotolerantes.....	35
4.7. Pesquisa de <i>Escherichia coli</i> .....	35
4.8. Pesquisa de <i>Salmonella</i> spp.....	36
4.9. Isolamento das culturas de leveduras.....	37
4.10. Provas taxonômicas.....	37
4.11. Provas morfológicas.....	37
4.12. Provas fisiológicas.....	38
4.12.1. Capacidade fermentativa.....	38
4.12.2. Desenvolvimento em diferentes temperaturas.....	38
4.12.3. Desenvolvimento em meio de cultura contendo nitrato....	39
4.12.4. Resistência à pressão osmótica.....	39
4.12.5. Desenvolvimento em meio de cultura contendo cicloheximida (actidione).....	39
4.12.6. Síntese de amido.....	40
4.12.7. Provas de assimilação de fontes de carbono.....	40
4.13. Ensaio de resistência ao conservante alimentício sorbato de potássio permitido pela legislação vigente para molho de maionese.....	40
4.14. Técnica de <i>Réplica-plate</i> .....	41

4.15. Aplicação do <i>check - list</i> nos estabelecimentos produtores de salada adicionada de maionese.....	41
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>43</b>
5.1. Análises microbiológicas de saladas adicionadas de maionese.....	43
5.2. Verificação das BPF nos estabelecimentos produtores de salada adicionada de maionese.....	50
5.3. Associação entre contaminação da salada adicionada de maionese e as BPF por período analisado.....	56
5.4. Isolamento das culturas de leveduras.....	61
5.5. Ensaio de resistência ao conservante alimentício sorbato de potássio contido na legislação vigente para molho de maionese.....	67
<b>6. CONCLUSÕES.....</b>	<b>69</b>
<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>71</b>
<b>8. ANEXO.....</b>	<b>92</b>
8.1. <i>Check - list</i> utilizado para verificação das BPF nos estabelecimentos produtores de salada adicionada de maionese.....	92
8.2. Composição e suplementos dos meios de cultura utilizados para as diferentes análises microbiológicas.....	99

**LISTA DE FIGURAS**

- Figura 1.** Fluxograma do processamento de salada adicionada de maionese.....**12**
- Figura 2.** Níveis de contaminação por *S. aureus* por período analisado em estabelecimentos com porcentagens < 25 de *não conformidades*.....**57**
- Figura 3.** Níveis de contaminação por coliformes termotolerantes por período analisado em estabelecimentos com porcentagens < 25 de *não conformidades*.....**57**
- Figura 4.** Níveis de contaminação por *S. aureus* por período analisado em estabelecimentos com porcentagens > 25 de *não conformidades*.....**58**
- Figura 5.** Níveis de contaminação por coliformes termotolerantes por período analisado em estabelecimentos com porcentagens > 25 de *não conformidades*.....**58**

## LISTA DE QUADROS

- Quadro 1.** Resultados bacteriológicos das saladas de maionese incriminadas nos surtos de DTA no período de 1990 a 2003.....**10**
- Quadro 2.** Espécies de leveduras isoladas de vegetais, maionese, molhos para saladas e de saladas.....**20**
- Quadro 3.** *Check - list* para diagnóstico inicial das BPF em estabelecimentos produtores de alimentos.....**92**
- Quadro 4.** Composição e suplementos do ágar Baird - Parker (BP) utilizado para isolamento de *S. aureus*.....**99**
- Quadro 5.** Composição do ágar batata dextrose acidificado (PDA) utilizado para isolamento de bolores e leveduras.....**99**
- Quadro 6.** Composição do ágar eosina azul de metileno (EMB) utilizado na detecção presuntiva de *E. coli*.....**100**
- Quadro 7.** Composição do ágar padrão para contagem (PCA) utilizado para enriquecimento e manutenção de bactérias.....**100**
- Quadro 8.** Composição do ágar *Salmonella Shigella* (SSA) utilizado para isolamento de *Salmonella* e *Shigella* em alimentos.....**100**
- Quadro 9.** Composição do caldo *E. coli* (EC) utilizado para contagem de coliformes termotolerantes, confirmação de resultado presuntivo pelo método NMP.....**100**
- Quadro 10.** Composição do caldo lactosado (LB) utilizado como meio de pré-enriquecimento para detecção de *Salmonella* spp.....**101**



**Quadro 11.** Composição do caldo lauril sulfato triptose (LTS) utilizado para detecção presuntiva de coliformes totais, termotolerantes e *E. coli* pelo método de NMP.....**101**

**Quadro 12.** Composição do caldo selenito cistina (SCB) utilizado para enriquecimento seletivo de *Salmonella* spp. em alimentos.....**102**

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Apresentação dos resultados obtidos após determinação do NMP de coliformes totais em saladas de maionese comercializadas na cidade de São José do Rio Preto - SP.....	<b>44</b>
<b>Tabela 2.</b> Apresentação dos resultados obtidos após determinação do NMP de coliformes termotolerantes em saladas de maionese comercializadas na cidade de São José do Rio Preto - SP.....	<b>45</b>
<b>Tabela 3.</b> Apresentação dos resultados obtidos após contagem de <i>Staphylococcus aureus</i> em saladas de maionese comercializadas na cidade de São José do Rio Preto - SP.....	<b>46</b>
<b>Tabela 4.</b> Apresentação dos resultados obtidos após enumeração de bolores e leveduras em saladas de maionese comercializadas na cidade de São José do Rio Preto - SP.....	<b>48</b>
<b>Tabela 5.</b> Distribuição do percentual de <i>não conformidades</i> , verificadas por meio de <i>check - list</i> aplicado em 10 estabelecimentos produtores de salada adicionada de maionese.....	<b>52</b>
<b>Tabela 6.</b> Distribuição das leveduras segundo a origem.....	<b>62</b>
<b>Tabela 7.</b> Distribuição das espécies de leveduras segundo as origens.....	<b>63</b>
<b>Tabela 8.</b> Distribuição dos grupos segundo espécie e origem.....	<b>64</b>
<b>Tabela 9.</b> Resultados das provas morfológicas, fisiológicas e de assimilação apresentados pelas leveduras.....	<b>65</b>
<b>Tabela 10.</b> Leveduras sensíveis ao sorbato de potássio nas diferentes concentrações empregadas.....	<b>68</b>

## RESUMO

No Brasil, estima-se que, de cada cinco refeições, uma não é efetuada em casa, sendo a salada de maionese um dos alimentos comumente consumidos. Este produto alimentício é basicamente constituído por vegetais cozidos posteriormente adicionados de maionese. Portanto, além da microbiota presente nos vegetais, a falta de higiene dos manipuladores durante o seu preparo, bem como as condições de armazenamento do produto, faz com que os microrganismos possam vir a ocasionar deteriorações no alimento ou intoxicações alimentares nos consumidores. Neste trabalho as Boas Práticas de Fabricação (BPF) foram verificadas em 10 estabelecimentos produtores de saladas de maionese aplicando um *check - list* que se constituiu de 123 itens de verificação baseado na legislação vigente no país (Resolução da Diretoria Colegiada - RDC nº. 216 de 2004) e análise da qualidade microbiológica perante 57 amostras destas saladas comercializadas na cidade de São José do Rio Preto - SP. As análises microbiológicas foram realizadas em 2 etapas: a primeira em 30 amostras no período de junho, agosto e outubro de 2006, e a segunda etapa no período de fevereiro, abril e junho de 2007, após a aplicação do *check - list* e orientações para o correto manuseio desse alimento. Foram realizadas as seguintes análises: contagem de bolores e leveduras, *Staphylococcus aureus*, Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais, termotolerantes, pesquisa de *Escherichia coli* e de *Salmonella* spp., bem como procedeu-se a identificação das leveduras isoladas e o teste de resistência frente a diferentes concentrações do conservante sorbato de potássio. De acordo com o *check - list* aplicado para verificação das BPF, 70,0% dos estabelecimentos apresentaram *não conformidades* superiores a 25,0%, sendo classificados como insatisfatórios para produção de alimentos. O resultado obtido para contagem de bolores e leveduras variou de  $1,9 \times 10^3$  a  $6,0 \times 10^6$  UFC/g. O maior número de contaminação da salada com maionese foi causado por *S. aureus* com variações de  $< 100$  a  $1,8 \times 10^7$  UFC/g. Para a determinação do Número Mais Provável de coliformes totais e termotolerantes verificou-se variação de  $< 3$  a  $> 1100$  NMP/g. *E. coli* foi elucidada em todas as amostras positivas para coliformes termotolerantes. *Salmonella* spp. não foi encontrada.

Dos 10 estabelecimentos, 4 (40,0%) melhoraram a qualidade da salada de maionese e um (10,0%) cessou a produção deste alimento após a vistoria e orientações dos técnicos da Vigilância Sanitária, ressaltando assim o importante papel deste órgão na qualidade dos alimentos. Com relação às leveduras isoladas, predominou-se *Debaryomyces hansenii* var. *fabryii* com 19 culturas (76,0%), seguida de *Cryptococcus laurentii* com 4 (16,0%), *Arxula adeninovorans* com 1 (4,0%) e *Candida edax* com 1 (4,0%). As espécies *A. adeninovorans* e *C. edax* isoladas apresentaram-se resistentes ao conservante sorbato de potássio. Em relação à *Cryptococcus laurentii* 50,0% demonstraram sensibilidade nas concentrações de 0,05, 0,1 e 0,2%. Somente 8 (42,1%) *D. hansenii* var. *fabryii* foram sensíveis ao conservante na concentração de 0,2%.

**Palavras-chave:** qualidade microbiológica, saladas, maionese, Boas Práticas de Fabricação (BPF), *check - list*, taxonomia de leveduras, sorbato de potássio.

## ABSTRACT

The aim of this work was to verify the Good Manufacturing Practices (GMP) and the microbiologic quality of the salads added of mayonnaise marketed in São José do Rio Preto - SP, through the following analyses: check - list application, based on the legislation in force in the country, which classified the levels of suitability presented by the producers, counting of mould and yeast, *Staphylococcus aureus*, determining the Most Probable Number of total and heat resistant coliforms, *Escherichia coli* and *Salmonella* spp research, and proceeded to identification isolated yeast and resistance test to different concentrations of potassium sorbate preservative. According to the check - list applied to GMP verification, 70,0% of the establishments showed no conformities above 25,0%, being classified as unsatisfactory for food production. The obtained result for mould and yeast counting varied from  $1,9 \times 10^3$  to  $6,0 \times 10^6$ . The biggest number of mayonnaise salad contamination was caused by *Staphylococcus aureus* with variations of  $< 100$  a  $1,8 \times 10^7$  UFC/g. For The Most Probable Number determination of total and heat resistant coliforms a variation of  $< 3$  a  $> 1100$  NMP/g was verified. *Escherichia coli* was found in all samples positive for heat resistant coliforms. *Salmonella* spp. was not found. From the ten establishments 4 (40%) improved the salads quality with mayonnaise added and 1 (10%) stopped this food production after inspection and the technicians of Sanitary Surveillance guidance. In relation to the isolated yeasts, *Debaryomyces hansenii* var. *fabryii* species was the most frequent, in 19 cultures (76,0%) followed by *Cryptococcus laurentii* with 4 (16%), *Arxula adeninovorans* with 1 (4,0%). The species *Arxula adeninovorans* and *Candida edax* were not sensitive to potassium sorbate preservative. In relation to *Cryptococcus laurentii* 50% showed sensibility in 0,05, 0,1 and 0,2% concentrations. Only 8 (42,1%) between 19 (100,0%) of *Debaryomyces hansenii* var. *fabryii* species were sensitive to the preservative at 0,2% concentration.

**Key Words:** microbiological quality, salads, mayonnaise, Good Manufacturing Practices (GMP), check - list, yeast taxonomy, potassium sorbate.

## 1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

A rápida urbanização e a concentração nas grandes cidades, nas últimas décadas, vêm contribuindo para substanciais mudanças na alimentação do brasileiro. Entre elas, pode ser destacado, o consumo de refeições fora de casa, o que promoveu o desenvolvimento dos serviços de alimentação. No Brasil, estima-se que, de cada cinco refeições, uma não é efetuada em casa. Assim sendo, as enfermidades alimentares, que antigamente representavam um número reduzido de casos, geralmente limitados ao âmbito familiar, saíram dos limites domiciliares para atingir um número maior de indivíduos.

A qualidade higiênico-sanitária como fator de segurança alimentar tem sido amplamente estudada e discutida, uma vez que as enfermidades veiculadas por alimentos são um dos principais fatores que contribuem para os índices de morbidade nos países da América Latina e do Caribe. De acordo com Weingold; Guzewich; Fudala (1994), o Comitê *World Health Organization / Food and Agriculture Organization* admite que doenças oriundas de alimentos contaminados são, provavelmente, o maior problema de saúde no mundo contemporâneo. As principais causas são conseqüências do reaquecimento e refrigeração inadequados e da preparação com muita antecedência, aumentando o tempo de espera para consumo.

Dentre os alimentos frequentemente envolvidos em surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTA) no Estado de São Paulo, encontra-se a salada de maionese, alimento comumente oferecido e consumido em restaurantes e similares. Por se tratar de um produto alimentício constituído basicamente de vegetais cozidos posteriormente adicionados de maionese, a contaminação e/ou presença de microrganismos patogênicos e saprofílicos pode ocorrer em diferentes fases, desde a sua produção no campo até o consumo final. Assim, os ingredientes devem ser submetidos a uma higienização cuidadosa, principalmente aqueles que serão posteriormente adicionados crus aos cozidos e devem ser mantidos sob refrigeração, levando-se em conta que os ingredientes cozidos são picados após o cozimento e, portanto, sujeitos a contaminações oriundas dos manipuladores e utensílios.

A adição de maionese pode exercer ação inibidora do desenvolvimento da maioria dos microrganismos, pois esta é uma emulsão composta de óleo, vinagre e ovos. Porém este último comporta-se como bom meio de cultura devido às suas propriedades nutritivas. Portanto, além da microbiota presente nos vegetais e ovos, que compõem este alimento, a falta de higiene dos manipuladores durante o seu preparo e manuseio, bem como as condições de armazenamento do produto, fazem com que os microrganismos possam vir a ocasionar deteriorações no alimento ou intoxicações alimentares nos consumidores.

Para assegurar que sejam preparados de modo a garantir a segurança do consumidor devem ser adotadas medidas de prevenção e controle em todas as etapas da cadeia produtiva. Por razões relacionadas com a amostragem, metodologia e distribuição de microrganismos, a análise microbiológica, por si só, não garante a segurança de um produto final analisado. Este aspecto é garantido pela implementação de medidas preventivas, tais como o cumprimento de Boas Práticas para Serviços de Alimentação e a aplicação do Sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC), constituindo as análises microbiológicas uma parte do sistema.

Portanto, justifica-se a realização deste trabalho pela importância da qualidade dos serviços de alimentação para a saúde dos consumidores, face aos altos índices de doenças veiculadas por alimentos, especialmente pela salada de maionese que constitui um alimento típico nesses estabelecimentos.

## 2. OBJETIVOS

Este trabalho teve como objetivos:

- ✓ Realizar análises microbiológicas, com o intuito de verificar a qualidade de saladas adicionadas de maionese, baseada na legislação brasileira vigente, assim como a enumeração de bolores e leveduras, em amostras provenientes de diferentes estabelecimentos.
- ✓ Verificar as BPF dos estabelecimentos produtores de salada adicionada de maionese por meio de *check - list* baseado na legislação vigente.
- ✓ Identificar as leveduras isoladas e analisar sua resistência frente a diferentes concentrações do conservante sorbato de potássio.
- ✓ Fornecer subsídios para planejamento de ações de prevenção de surtos de DTA.



### **3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

#### **3.1. Surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA)**

Entende-se por surto de DTA, quando duas ou mais pessoas apresentam sintomas semelhantes após a ingestão de um alimento em comum (PINTO; BERGMAN, 2000).

Dentre os agentes etiológicos destes surtos estão bactérias, fungos, vírus, parasitas, agentes químicos e substâncias tóxicas de origem animal e vegetal (JACOB, 1990). As bactérias são as principais promotoras de DTA, responsáveis por cerca de 90,0% dessas ocorrências (PASSOS; KUAYE, 1996).

Os dados estatísticos sobre essas doenças em inúmeros países mostram que mais de 60,0% das ocorrências decorrem de toxinfecções provocadas pela deficiência no processamento dos alimentos que foram servidos contaminados em estabelecimentos de alimentação (BRYAN, 1984; SCHILLING, 1995).

A ocorrência de DTA está associada a uma sucessão de eventos que permitem a contaminação, multiplicação ou sobrevivência do agente nos alimentos (BRYAN, 1998).

A morbidade e mortalidade relacionada com a DTA variam em razão da quantidade de alimento contaminado ingerido, da etiologia do microrganismo contaminante e do estado de saúde do indivíduo acometido pela doença. As perturbações gastrointestinais figuram como um dos sintomas mais comuns (FRANCO; LANDGRAF, 2003).

Embora só chegue ao conhecimento dos serviços de saúde a existência de poucos surtos de DTA é de se supor que a ocorrência seja grande no Brasil, tendo em vista a precariedade de saneamento básico, assim como a falta de noções básicas de higiene no ciclo produtivo dos alimentos (FERNANDEZ et al., 2003).

Segundo relatos da Secretaria de Vigilância em Saúde - SVS (2005), surtos de DTA no Brasil no período de 1999-2004 totalizaram 3.737, sendo que 80,0% foram encerrados sem dados sobre o agente etiológico. Destes, 34,7% foram causados por *Salmonella* spp., seguido por *Staphylococcus aureus* (11,7%).

No Rio Grande do Sul, no período de 1980-2000, foram notificados 1.918 surtos de DTA, sendo *Salmonella* e *S. aureus* os principais agentes envolvidos, correspondendo respectivamente a 34,1 e 11,3% do total (DUTRA; FIGUEIREDO, 2002).

Segundo Silva Jr. (2001) as DTA desempenham importante papel socioeconômico, tendo em vista os gastos com tratamento médico, perdas emocionais, da credibilidade do estabelecimento ou empresa, indenizações e até prisão dos responsáveis entre outras penalidades.

A importância das DTA tem exigido mudanças não apenas nos sistemas de Saúde Pública, mas, na produção de alimentos visando aumentar sua segurança. Um monitoramento mais rígido e estudos epidemiológicos e laboratoriais têm sido necessários para trazer novas estratégias de intervenção e prevenção das DTA e para melhorar as práticas de manipulação e produção dos alimentos (CENTRO DE VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA - CVE, 2002).

### 3.2. Fatores que contribuem para ocorrência de DTA

Alguns fatores são apontados como determinantes para que o alimento seja hoje em dia considerado a principal fonte de veiculação de doenças:

- a) O desenvolvimento econômico e a globalização do mercado mundial favorecem a disseminação dos micróbios;
- b) As modificações no estilo de vida com a crescente utilização de alimentos industrializados e pela mudança de hábitos consumindo-se refeições fora de casa;
- c) Os próprios processos tecnológicos de produção que podem propiciar condições para o surgimento de novos patógenos como o uso indiscriminado de antimicrobianos e de rações industrializadas na criação de animais ou processos industriais de preparação de alimentos;
- d) O aumento do consumo de alimentos “*in natura*” ou crus;
- e) Intensa mobilização mundial das populações, por meio das viagens internacionais, dentre outros (CVE, 2002).

Neste mesmo contexto Uboldi Eiroa (1989), cita como fatores que contribuem para a ocorrência de DTA, o preparo dos alimentos com antecedência, manuseio por portadores de microrganismos patogênicos, processamento térmico insuficiente, resfriamento inadequado, estocagem a temperatura ambiente, reaquecimento inadequado, uso de matérias-primas de qualidade microbiológica insatisfatória, contaminações cruzadas, limpeza insatisfatória de equipamentos e/ou utensílios, aproveitamento de sobras, alimentos processados industrialmente em condições insatisfatórias, vegetais crus ou mal lavados, preparo de grandes volumes e o baixo nível sócio-escolar do pessoal envolvido no manuseio e no preparo.

Stolte; Tondo (2001) mencionam que a Vigilância Sanitária do Rio Grande do Sul, no ano de 1998, concluiu que os alimentos preparados foram os responsáveis por 46,6% dos surtos registrados de DTA, no período de 1987 a 1998. Os principais fatores responsáveis foram: manutenção em temperatura

ambiente por mais de 2 horas, refrigeração e manipulação inadequada, matéria-prima sem inspeção e higiene deficiente de equipamentos e utensílios.

Em análise dos surtos ocorridos no município de Porto Alegre-RS, Gottardi; Souza; Schmidt (2006) relacionaram 11 diferentes fatores predisponentes, sendo a refrigeração inadequada (33,0%) a mais freqüente.

Apesar de exaustivos esclarecimentos sobre higiene dos alimentos visando à prevenção de doenças de origem alimentar, a incidência de surtos e casos esporádicos ainda é crescente.

### **3.3. Importância dos restaurantes e similares na ocorrência de DTA**

Na segunda metade do século XX, a sociedade brasileira passou por um processo de transformação devido ao desenvolvimento industrial. Dentre estas mudanças, destacam-se o elevado consumo de grãos processados, produtos de origem animal, carboidratos simples, produtos industrializados e o hábito de "alimentar-se fora de casa" que passou a ser enfocado como uma atividade social ou necessidade imposta pelo modelo de força de trabalho (POPKIN; BISGORV, 1988).

No período de 1990 a 1997 verificou-se um aumento significativo de restaurantes e similares no Brasil (42,3%), o qual vem se tornando uma atividade promissora devido a grande procura da população que trabalha nos grandes centros. O total de refeições realizadas fora do âmbito doméstico preconizou 25,0% nos grandes centros urbanos brasileiros e 20,0% no restante do país (CAVALLI; SALAY, 2004; NUNES; FERREIRA; ALBUQUERQUE, 2002).

Conforme mencionado por Peretti; Spezia; Araújo (2004) o mercado de serviços de alimentação no Brasil fornece cerca de 15,0 bilhões de refeições anualmente, movimentando no ano de 2002, cerca de R\$ 62,2 bilhões.

Observa-se paralelamente ao crescimento do setor, o aumento da ocorrência de DTA, frequentemente associada ao uso de serviços de alimentação, tornando a segurança alimentar a principal preocupação com relação a este segmento (HOBBS; ROBERT, 1999; NERVINO, 1997).

Os restaurantes são considerados fornecedores de alimentos de alto risco epidemiológico. Estima-se que estes sejam responsáveis por mais de 50,0% dos surtos de origem alimentar (NUNES; FERREIRA; ALBUQUERQUE, 2002; CLIVER, 1990; ARRUDA, 1996).

Fernandez et al. (2003) analisaram a ocorrência de surtos de DTA na cidade do Rio de Janeiro no ano de 2000 e concluíram que restaurantes e similares revelaram-se como os locais de maior número de notificações (58,0%).

Neste contexto, os estabelecimentos de preparo e de comércio de alimentos assumem um papel importante na qualidade da alimentação da população urbana (SOUZA; PELICIONI; PEREIRA, 2003).

### **3.4. Saladas adicionadas de maionese incriminadas nos surtos de DTA**

Nos últimos 10 anos aumentou significativamente o número de surtos relacionados às saladas preparadas com vegetais (SILVA et al., 2003). Os principais microrganismos envolvidos foram: *Bacillus cereus*, *Campylobacter jejuni*, alguns sorovares de *Salmonella*, *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei*, *Escherichia coli* O157:H7, *Vibrio cholerae*, vírus da hepatite A e Norwalk (SERVIÇO NACIONAL DE APRENDIZAGEM COMERCIAL - SENAC, 2001).

Há também os patógenos oportunistas, como *Pseudomonas aeruginosa* e várias espécies de enterobactérias, que são comumente veiculados por

vegetais crus, representando risco significativo para indivíduos com comprometimento imunológico (MARCHETTI; CASADEI; GUERZONI, 1992).

No Estado do Paraná nos anos de 1978 e 2000 os alimentos mais envolvidos em surtos de DTA foram os de origem mista, ou seja, os que utilizam matérias-primas de origem vegetal e animal, com 42,0% das ocorrências (GENTA; MAURÍCIO; MATIOLI, 2005). Neste grupo, encontra-se a salada com maionese que foi a responsável pelo aumento de casos e surtos de intoxicação estafilocócica e infecção por *Salmonella* spp. em todo país (NERVINO, 1997).

A salada com maionese é um dos alimentos comumente oferecidos e consumidos em restaurantes brasileiros (ZOLI; NEGRETE; OLIVEIRA, 2002). Este produto consiste em uma mistura de vegetais cozidos e *in natura* adicionados de maionese. Sendo preparado a partir de vegetais, sobretudo os crus, podem conter microrganismos oriundos da água, do solo, de adubos e do ar. Deve-se levar em conta que os ingredientes cozidos são picados após a cocção e, portanto, sujeitos a contaminações oriundas dos manipuladores e utensílios (FURLANETTO; LACERDA; CERQUEIRA-CAMPOS, 1982; SILVA JR., 2001).

Nos Estados Unidos em 1987 houve um surto de *Salmonella* Enteritidis PT8 em um hospital devido ao consumo de salada preparada com maionese. Um total de 404 (41,9%) de 965 (100,0%) pacientes apresentaram sintomas da doença e 9 morreram (TELZAK et al., 1990).

Em Sorocaba - SP, Araújo et al. (1995) relataram quatro surtos de DTA ocasionados por *S. Enteritidis*, ocorridos em um período de seis meses (novembro de 1994 a abril de 1995). A salada de maionese foi implicada na sua totalidade.

Passos; Kuaye (1996) avaliaram os surtos de enfermidades transmitidas por alimentos comprovados laboratorialmente no município de Campinas - SP, no período de 1987-1993. Dos 53 surtos, apenas 19 (35,8%) apresentaram

comprovação laboratorial e desses, 3 (15,8%) incriminaram a maionese de legumes como alimento veiculador. *Staphylococcus aureus* e *Bacillus cereus* foram os agentes etiológicos elucidados.

Surtos de toxinfecção ocorridos no Rio Grande do Sul, no período de outubro 1997 a maio de 1998, revelaram que dos 30 episódios, em 10 (33,3%) foi evidenciada a salada de maionese como o alimento veiculador, 10 (33,3%) o molho de maionese e 10 (33,3%) os ovos (FLORES et al., 2002).

Peresi (2004) elucidou os surtos ocorridos na região noroeste de São Paulo, no período de abril de 1990 a dezembro de 2003. Dos 68 surtos, em 7 (10,3%) o molho de maionese foi incriminado como o alimento veiculador, 7 (10,3%) a salada com maionese e 3 (4,4%) o salpicão de frango. *Salmonella* Enteritidis e *Staphylococcus aureus* foram os principais agentes etiológicos responsáveis pela ocorrência dos surtos. O Quadro 1. apresenta os resultados bacteriológicos das saladas de maionese incriminadas nos surtos de DTA, apresentando o nível de contaminação dos agentes envolvidos.

**Quadro 1.** Resultados bacteriológicos das saladas de maionese incriminadas nos surtos de DTA no período de 1990 a 2003 (PERESI, 2004).

Nº. do surto	Alimento	Agente etiológico	Maior diluição com presença de <i>Salmonella</i>	Outros agentes	Nível de contaminação
27	Salada de maionese	S. Enteritidis	10 <sup>-5</sup>	<i>S. aureus</i>	2,4 x 10 <sup>4</sup> UFC/g
				coliformes fecais	> 240/g
28	Salada de maionese	S. Enteritidis	10 <sup>-7</sup>	<i>S. aureus</i>	2,3 x 10 <sup>4</sup> UFC/g
				coliformes fecais	> 240/g
40	Salada de maionese	S. Enteritidis	Presença em 25 g	<i>S. aureus</i>	2,0 x 10 <sup>2</sup> UFC/g
				coliformes fecais	2,1/g
47	Salada de maionese	S. Enteritidis	10 <sup>-1</sup>	coliformes fecais	2,1/g
54	Salada de maionese	S. Enteritidis	10 <sup>-5</sup>	-	-

Almeida et al. (2007) relataram a ocorrência de surtos de DTA causados por *Salmonella* ocorridos na região de São José do Rio Preto - SP, no período de agosto de 2006 a abril de 2007. O sorotipo Enteritidis, não isolado em surtos de DTA na região desde 1999, foi responsável por 6 (85,7%) episódios. Por meio de análises bacteriológicas e/ou investigação epidemiológica, produtos contendo ovos crus foram incriminados em 6 (85,7%) surtos, sendo saladas de maionese os mais frequentemente envolvidos (4 surtos). Segundo os inquéritos, o número total de pessoas afetadas foi 360 e de hospitalizadas 44 (12,2%). Diarréia, vômito, cefaléia e febre foram os sintomas comuns e prevalentes na totalidade deles.

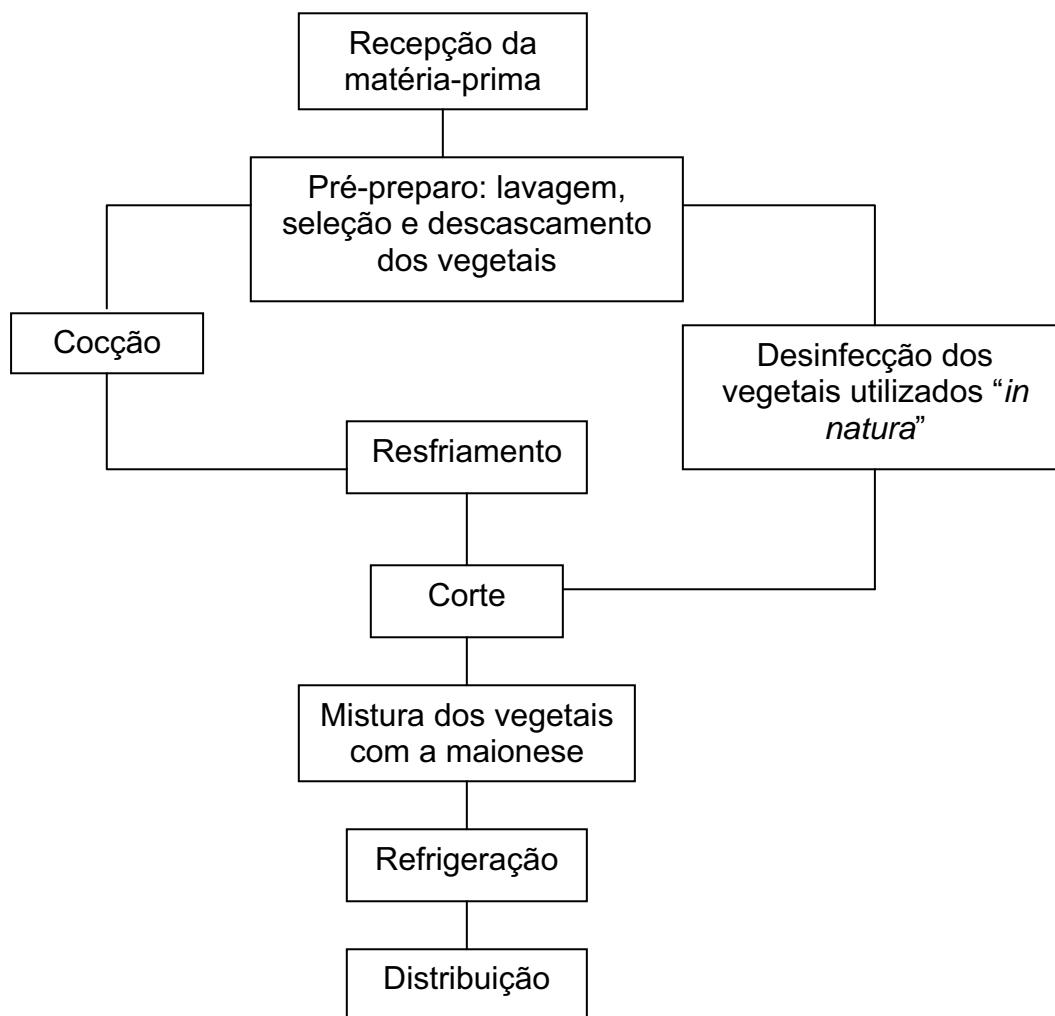
### **3.5. Processamento de salada adicionada de molho de maionese**

Segundo Sousa et al. (2001) a salada adicionada de maionese possui um fluxograma, conforme descrito na Figura 1.

A utilização de molhos para salada leva a uma redução do pH para 4,0 a 3,2, dificultando o desenvolvimento de microrganismos em saladas cruas (FABIAN; WETHERINGTON, 1950).

A variação do pH de saladas com maionese pode ocorrer em função da formulação, pois resulta da combinação do pH de vários ingredientes, isto é, dos vegetais, do tipo e da quantidade de maionese empregada (maior ou menor acidez) e da adição ou não de ingredientes ácidos (suco de limão e/ou vinagre) usados como temperos (CORREIA et al., 2002).





**Figura 1.** Fluxograma do processamento de salada adicionada de maionese (SOUSA et al., 2001).

Na Espanha, Mateo (1997) mensurou o pH de diversos alimentos de serviços de alimentação, entre eles: maionese industrial; batata cozida e salada com maionese. Os valores verificados foram: 3,9, 5,9 e 6,2 respectivamente.

Considerando que todos os alimentos apresentam-se naturalmente contaminados pelos mais diversos tipos de microrganismos, a grande preocupação é impedir que eles sobrevivam, se multipliquem e que outros tipos sejam acrescentados às matérias-primas, como consequência de contaminação ambiental ou por manipulação inadequada (GERMANO et al., 2000).

Os alimentos perecíveis exigem condições especiais de armazenagem, e é necessário que a refrigeração acompanhe esse produto desde a produção até o consumo. Baseado na Resolução Cisa nº.10 (1984), a temperatura para o acondicionamento de produtos resfriados, inclusive as saladas, é de no máximo 10°C.

Embora a refrigeração seja usada para retardar a multiplicação de microrganismos e assim manter a qualidade do produto, esta provê proteção inadequada contra os patogênicos, porque não inclui nenhuma forma de eliminação e conseqüentemente vários patógenos podem sobreviver e até mesmo se multiplicam sob condições de refrigeração (ROSA; CARVALHO, 2004).

Corlett (1989) esclarece que quando o produto encontra-se à 7°C durante o armazenamento poderá acontecer o desenvolvimento de bactérias patogênicas como *Clostridium botulinum*, *Bacillus*, *Salmonella* spp. e *Staphylococcus aureus*.

### **3.5.1. Fatores que interferem nas condições higiênico-sanitárias de vegetais**

Os vegetais apresentam como fatores intrínsecos: elevada atividade de água ( $A_w$ ), potencial de óxido-redução positivo e pH em torno de 4,5. A maioria dos microrganismos presentes em vegetais é saprófita, incluindo bactérias, leveduras e bolores (FENG, 1995; SILVA et al., 2003).

Vegetais processados constituem ótimo meio de desenvolvimento para microrganismos, devido à presença de tecidos lesados e de alto teor de umidade, o que aumenta seu potencial de deterioração. Fatores como o uso de pesticidas, tipo de técnicas agrícolas aplicado durante o cultivo e a poluição por dejetos humanos e animais, também afetam o perfil microbiológico de vegetais.

O processo de adubação e a quantidade de solo aderido à superfície do produto determinam o início da contaminação (OLIVEIRA; VALLE, 2000; MAISTRO, 2001; TRIGO, 1999).

A qualidade e segurança microbiológica desses alimentos podem também ser comprometidas pela utilização de equipamentos não sanitizados que contribui para o aumento da população microbiana e contaminação cruzada por patógenos. Procedimentos de corte e retirada de casca levam, geralmente, ao aumento do número de microrganismos e diminuição da vida de prateleira (BRACKETT, 1992).

Damasceno; Stamford; Alves (2001) afirmam que o corte libera fluidos internos celulares e vasculares, ricos em nutrientes, disponibilizando-os aos microrganismos, permitindo que estes se multipliquem e aumentem a carga microbiana inicial.

Por serem muito manipulados, esses produtos podem ter sua microbiota aumentada, alterada e, eventualmente, veicularem microrganismos patogênicos. A sanitização desempenha importante papel na manutenção da qualidade, diminuindo o número de microrganismos. Dentre os sanitizantes mais utilizados para assegurar a qualidade e a segurança microbiológica desse alimento está o hipoclorito de sódio (OLIVEIRA; VALLE, 2000).

A lavagem com água potável remove parte das células microbianas, muitas vezes uma lavagem rigorosa com água potável pode ter o mesmo efeito que um tratamento com água que contenha 100 a 200 ppm de cloro, que em geral, reduz em 10 a 100 vezes a população de microrganismos (NASCIMENTO et al., 2003).

A utilização apropriada de desinfetantes age de forma complementar a lavagem. Atualmente, o cloro é o único sanitizante permitido pela legislação para esse fim, nas concentrações de 200-250 ppm (RIBEIRO; PIETRO, 2006; SÃO PAULO, 1999).

Vários fatores interferem na atividade de cloro livre sobre os microrganismos nesses produtos, como o nível de contaminação, presença de matéria orgânica, pH, temperatura e tempo de exposição, assim como o uso de água previamente potável (BEUCHAT et al., 1998).

A utilização de águas na irrigação ou na lavagem de vegetais, que estão altamente contaminadas por esgoto não tratado ou que sofreram contaminação cruzada por matéria fecal de animais domésticos ou silvestres, constitui um importante fator que interfere nas condições higiênico-sanitárias desse alimento (SATAKE, 1973).

Jay (2000) citou que 20,0% dos vegetais destinados ao consumo humano sofrem alterações microbianas, e que durante sua comercialização podem ser evidenciados mais de 250 tipos de microrganismos, dentre os deteriorantes e os potencialmente patogênicos.

No Brasil, o conhecimento da contaminação e do risco de transmissão de doenças por vegetais não é recente, tendo sido demonstrados há décadas, particularmente no Estado de São Paulo. Entretanto, esses produtos nunca foram alvos de uma ação prioritária dos órgãos de Vigilância Sanitária (GELLI et al., 1979).

### **3.5.2. Fatores que interferem na sobrevivência e multiplicação microbiana no molho de maionese**

A maionese é provavelmente um dos molhos mais usados no mundo atualmente. Ela existe há vários séculos e tornou-se popular na América a partir de 1917 (HARRISON; CUNNINGHAM, 1985). Trata-se de uma emulsão, preparada com ovos, óleo, temperos e condimentos, de coloração amarelada, de textura cremosa, sabor agradável, que pode ser misturada a vários ingredientes formando cremes ou pastas, muito utilizada em preparações de

canapés e saladas. No Japão, sua venda aumentou cerca de 21,0% nos anos de 1987 a 1990 (DEPREE; SAVAGE, 2001; PACHECO et al., 2003).

Por causa do seu baixo pH (4,1) e alto teor de gordura, a maionese é relativamente resistente ao desenvolvimento microbiano, porém, os ovos, ao contrário, comportam-se como bons meios de cultura devido às suas propriedades nutritivas. O ovo favorece o desenvolvimento estafilocócico, sendo um constituinte do meio Baird Parker, considerado o principal para o isolamento e contagem de *S. aureus* em alimentos. Embora possa ocorrer a multiplicação de bolores e leveduras, outros organismos em menor quantidade têm sido isolados do molho de maionese (FABIAN; WETHERINGTON, 1950; LUCCA; TORRES, 2002; FLOWERS; ORDAL, 1979).

A sobrevivência de *Staphylococcus aureus* no molho de maionese com baixo pH, preparada com ácido acético ou ácido cítrico foi investigada por Collins (1985). O molho foi preparado com um pH entre 4,2-5,2. Todas as células vegetativas não sobreviveram naquela preparada com ácido acético a um pH < 4,4, porém sobreviveram quando adicionada com o cítrico.

Bryan (1990) recomenda que o pH das saladas de vegetais com maionese deve atingir um valor de  $\leq 4,5$ . As faixas de pH de algumas saladas foram também relatadas pelo INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATION FOR FOODS - ICMSF (1985): para salada de frango, de 4,6 a 6,2; de ovos, de 5,1 a 6,6; de macarrão, de 4,2 a 5,7; de atum, de 4,5 a 5,9 e de vegetais com maionese, de 4,1 a 6,1.

Em uma revisão realizada por Radford; Board (1993) sobre a importância de patógenos em maionese e em produtos relacionados, concluiu-se que: a) a sobrevivência de *Salmonella* spp., *Clostridium perfringens* e *Staphylococcus aureus* na maionese é influenciada pelo seu pH e pela escolha do acidulante utilizado na preparação. Ácido acético (vinagre) tem maior ação germicida quando comparado ao ácido cítrico (suco de limão). Este motivo deve-se ao fato de que maionese preparada com vinagre tem um pH de 4,1 ou menor. b) A adição de alho ou mostarda nas concentrações de 0,3-1,5% (g/g)

resulta na diminuição de *Salmonella* Enteritidis. c) A concentração de sal nesse produto tem um efeito protetor para *S. Enteritidis*. d) A presença de vegetais na maionese diminui a absorção de ácido acético.

*Clostridium botulinum* e *C. perfringens* não sobrevivem em maionese com pH abaixo de 4,7 (ácido acético) ou em uma  $a_w$  abaixo de 0,95, situações comumente encontradas nesses produtos. Uma baixa  $a_w$  é suficiente para impedir o desenvolvimento e esporulação de *Bacillus cereus* (SILLIKER, 1980).

Estudos têm mostrado que *Escherichia coli* O157:H7 pode sobreviver na maionese por 17 dias a 20°C (ZHAO; DOYLE, 1994; HATHCOX; BEUCHAT; DOYLE, 1995) e em temperaturas de refrigeração (WEINGOLD; GUZEWICH; FUDALA, 1994).

McKellar; Lu; Delaquis (2002) analisaram o tempo de sobrevivência da *Escherichia coli* O157:H7, em diferentes temperaturas (10-30°C) e fatores característicos da composição da maionese (sal [0,5-16,5%], pH [3,5-6,0], ácido acético [0,4%] e sucrose [0,8%]) em 1820 tratamentos. Os resultados mostraram que esta bactéria sobrevive em 83,7% dos tratamentos.

Hwang; Marmer (2007) investigaram o desenvolvimento de *Listeria monocytogenes* em saladas preparadas com maionese em diferentes pH (3,8; 4,2; 4,6 e 5,0) e temperaturas de armazenamento (4, 8 e 12°C). O resultado confirmou que o desenvolvimento de *L. monocytogenes* em salada de maionese foi primeiramente promovido pela maior temperatura de armazenamento (12°C) e posteriormente pelo maior pH (5,0).

### **3.5.3. Conservante alimentício sorbato de potássio (INS - 202)**

Os conservantes são necessários para garantir a manufatura segura de alimentos e a não deterioração desses durante a vida de prateleira. Atualmente, a conservação é feita principalmente com o uso de conservadores

químicos, os quais atuam como agentes antimicrobianos, protegendo os alimentos contra contaminações por bolores, leveduras e bactérias (FORSYTHE, 2002).

Os comumente utilizados são ácido acético, benzóico, láctico e sórbico, classificados como ácidos fracos. Em solução, os ácidos fracos conservantes existem em equilíbrio pH-dependente entre os estados associados e dissociados. A atividade ótima de inibição ocorre em condições de pH baixo, pois isso favorece o estado associado e não carregado da molécula que é livremente permeável através da membrana plasmática (lipolítica) e, assim, é capaz de penetrar na célula. A molécula se dissociará após entrar na célula, resultando em liberação de prótons e ânions carregados que não são capazes de atravessar a membrana plasmática. Dessa forma, a molécula de conservante difunde-se na célula até que o equilíbrio seja atingido. Isso resulta em acúmulo de ânions e prótons no interior da célula (BOOTH; KROLL, 1989).

O ácido sórbico apresenta maior atividade em  $\text{pH} < 6$ . Em pH 4 e 6 o ácido sórbico e seus sais são mais eficientes que os benzoatos (JAY, 2000).

O sorbato de potássio conservante muito utilizado na Indústria Alimentícia, inibidor de crescimento de bolores e leveduras, quando adicionado não altera o sabor nem odor dos produtos. Impede a rancidez e mofos em margarinas e maioneses. Muito utilizado também na produção de queijos de corte, frescos e fundidos (FORSYTHE, 2002).

O sorbato de potássio na concentração de 0,1% é o único conservante alimentício permitido pela legislação vigente brasileira para molho de maionese (BRASIL, 2007), sua principal desvantagem é o custo relativamente maior que o dos benzoatos e propionatos (ROBACH, 1980).

## 3.6. Contaminantes microbiológicos em molhos e saladas de maionese

### 3.6.1. Bolores e leveduras

Smittle (1977) relatou a existência de uma crença popular de que saladas adicionadas de molho de maionese deterioram-se rapidamente podendo causar riscos à saúde do consumidor.

Em revisão sobre maionese e molho para salada de origem comercial, Smittle (1977) e Kurtzman; Rogers; Hesseltine (1971) concluíram que bolores, leveduras e *Lactobacillus*, são os principais microrganismos causadores da deterioração das mesmas, pois este alimento possui um pH ácido que favorece o seu desenvolvimento. As alterações mais freqüentes causadas por esses microrganismos são: formação de gases, mudança na cor, sabor, odor e textura.

A salada de maionese, em uma crescente diversidade, é produzida incorporando uma variedade de vegetais. Muitos deles são utilizados crus, e conseqüentemente contaminados com diversas espécies de leveduras. Comparadas com bolores e bactérias, as leveduras geralmente exercem um papel secundário na deterioração de vegetais. Entretanto, a atividade das leveduras torna-se aparente quando as circunstâncias ambientais são favoráveis, como durante a fermentação do ácido láctico dos vegetais (TORNAL-LEHOCZKI; PETER; DLAUCHY, 2003).

As principais leveduras encontradas em maionese e molhos para saladas são: *Zygosaccharomyces bailii*, *Pichia membranifaciens*, *Issatchenkia orientalis* e outras leveduras como *Candida inconspicua*, *C. parapsilosis*, *S. cerevisiae*, *Saccharomyces exiguus*, *Saccharomyces dairensis*, *Debaryomyces hansenii*, *Rhodotorula mucilaginosa* e *T. cutaneum* (SMITTLE, 1977; SMITTLE; FLOWERS, 1982; BROCKLEHURST; LUND, 1984; SPENCER; SPENCER, 1997).



O Quadro 2 apresenta as espécies de leveduras isoladas de vegetais, maionese, molhos para saladas e de saladas.

**Quadro 2.** Espécies de leveduras isoladas de vegetais, maionese, molhos para saladas e de saladas (DENNIS, 1987; DEÁK, 1991; SPENCER; SPENCER, 1997).

<b>Espécies de leveduras</b>	<b>Fontes</b>
<i>Candida inconspicua</i>	Molho para salada
<i>Candida intermedia</i>	Saladas, milho
<i>Candida rugosa</i>	Picles, azeitona
<i>Candida stellata</i>	Maionese, molho para salada, salada mista
<i>Candida tropicalis</i>	Cenoura, milho, conservas
<i>Candida zeylanoides</i>	Maionese
<i>Cryptococcus albidus</i>	Cenoura, milho, saladas, repolho, vegetais e vegetais em conserva.
<i>Cryptococcus laurentii</i>	Milho, repolho, vegetais em conserva
<i>Debaryomyces hansenii</i>	Milho, saladas, vegetais em conserva, maionese, salada de vegetais e molho para saladas
<i>Issatchenkia orientalis</i>	Milho, molho para saladas
<i>Pichia anomala</i>	Milho
<i>Pichia fermentans</i>	Maionese, vegetais, alface, cenoura, conserva de vegetais, salada de vegetais, conserva de pepino
<i>Pichia membranifaciens</i>	Milho, maionese, vegetais, vegetais em conserva, molhos para salada
<i>Pichia ohmeri</i>	Picles
<i>Rhodotorula glutinis</i>	Vegetais, milho, ervilhas
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	Vegetais, milho, ervilhas, vegetais em conserva, molho para saladas
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Saladas, maionese, conservas de vegetais, molho para saladas
<i>Saccharomyces dairensis</i>	Saladas, maionese
<i>Saccharomyces exiguus</i>	Saladas, maionese, molho para saladas
<i>Torulasporea delbrueckii</i>	Alface
<i>Torulasporea cutaneum</i>	Vegetais, molho para saladas
<i>Torulasporea pullulans</i>	Saladas
<i>Yarrowia lipolytica</i>	Maionese, salada de vegetais
<i>Zygosaccharomyces bailii</i>	Molho para salada
<i>Zygosaccharomyces rouxii</i>	Molho para salada

### 3.6.2. Coliformes totais (35°C) e termotolerantes (45°C)

O grupo dos coliformes totais inclui as bactérias na forma de bastonetes Gram-negativos, não esporogênicos, aeróbios ou anaeróbios facultativos, capazes de fermentar a lactose com produção de gás, em 24-48 horas a 35°C. O grupo inclui cerca de 20 espécies, dentre as quais encontram-se também bactérias originárias do trato gastrointestinal de humanos e de outros animais de sangue quente, como também diversos gêneros e espécies de bactérias não entéricas, como *Serratia* e *Aeromonas* (SILVA; JUNQUEIRA; SILVEIRA, 1997).

Dentre as bactérias de habitat reconhecidamente fecal (*Escherichia coli*, *Enterobacter* e *Klebsiella*), dentro do grupo dos coliformes termotolerantes, *E. coli* é a mais conhecida e mais facilmente diferenciada dos membros não termotolerantes (SILVA; JUNQUEIRA; SILVEIRA, 1997).

Wilson; Heaney (1999) descreveram quantidades de *E. coli* duas vezes maior em produtos vegetais quando comparadas aqueles à base de carne, o que demonstra uma tendência destes alimentos abrigarem tais organismos, devido principalmente a uma contaminação inicial ocasionada pelo contato com o solo, fato este agravado pelo não cumprimento das recomendações técnicas e legais da necessidade de um processo de desinfecção química adequada.

Abdul-Raouf; Beuchat; Ammar (1993), estudando o comportamento de *E. coli* em saladas preparadas com carne e maionese, observaram que não houve nenhuma mudança na população inicial dessa bactéria quando o alimento foi preparado com até 40% de maionese (pH entre 5,4 a 6,07) e mantido a 5°C por 72 horas. Quando aplicada a temperatura de 21 e 30°C durante 10 e 24 horas, contendo 16,0 a 32,0% de maionese no alimento, verificou-se um aumento significativo no número de microrganismos.

Raghubeer et al. (1997) inocularam em maionese comercial e em saladas com maionese duas concentrações diferentes de *Escherichia coli* O157:H7, *E. coli* não patogênica e *Enterobacter aerogenes*. Os resultados

mostraram que na inoculação com  $> 10^6$  UFC essas bactérias sobreviveram por mais tempo em saladas com maionese armazenada a temperatura de  $4^{\circ}\text{C}$  do que em maionese comercial armazenadas em  $22^{\circ}\text{C}$ ; estes autores atribuem este efeito às diferenças no pH,  $a_w$ , e a presença da lisozima nos ovos inteiros usados na produção da maionese comercial.

A presença de coliformes é geralmente considerada indicadora das más condições higiênico-sanitárias dos restaurantes e outros serviços de alimentação (BENEVIDES; LOVATTI, 2004).

### **3.6.3. *Staphylococcus aureus* (coagulase positiva)**

*Staphylococcus aureus* são cocos Gram-positivos, anaeróbios facultativos, ocorrendo isolados, aos pares e em aglomerados. Produzem enterotoxinas termoestáveis capazes de permanecerem no alimento mesmo após o cozimento, possibilitando, desta forma, a instalação de um quadro de intoxicação de origem alimentar (SILVA; GANGRA, 2004; CUNHA NETO; SILVA; STAMFORD, 2002).

As condições de temperatura para o desenvolvimento de *S. aureus* variam de  $7,0$  a  $47,8^{\circ}\text{C}$ , sendo que a ideal está entre  $30$  e  $40^{\circ}\text{C}$ . A ótima para a produção de toxinas está entre  $40$  a  $45^{\circ}\text{C}$ , cessando em  $10$  ou  $46^{\circ}\text{C}$  (JAY, 2000).

O homem e os animais são os principais reservatórios de *S. aureus*, sendo a cavidade nasal o principal habitat no homem. Os principais sintomas são náuseas, vômitos, cãibras abdominais, diarreia e sudorese (FRANCO; LANDGRAF, 2003).

Por vários mecanismos, a partir de portadores ou de pessoas com sinais de infecção, *S. aureus* pode atingir as vestimentas, o mobiliário, os utensílios, os equipamentos, o ambiente, assim como os alimentos nas áreas de

produção, industrialização e preparo, inclusive em cozinhas de hospitais e de comercialização. Desde que o alimento apresente boas condições para o desenvolvimento da bactéria, o mesmo poderá causar toxinfecção alimentar (ARANTES; LIMA; CASTRO, 1982; CASTRO; IARIA, 1984; HATAKKA et al., 2000; PERESI et al., 2004).

Dentre as DTA, a intoxicação estafilocócica é uma doença comum, causada pela ingestão de toxinas pré-formadas no alimento, a partir de um nível de contaminação por *S. aureus* de  $10^5$  unidades formadoras de colônias por grama (UFC/g) (FORSYTHE, 2002).

A verdadeira incidência das intoxicações estafilocócicas é desconhecida em muitos países. A maioria dos casos passa despercebida devido a sua curta duração, sendo notificados às autoridades públicas, somente os surtos com envolvimento de um grande número de indivíduos (TRANTER, 1990).

Nos surtos de DTA estão, geralmente, implicados os alimentos cozidos ou assados que, em seguida, são cortados, fatiados, recheados ou de qualquer modo manipulados por pessoas portadoras de linhagens enterotoxigênicas de *S. aureus* e mantidos em temperaturas ligeiramente elevadas (BRYAN, 1998; FORSYTHE, 2002). Estes surtos são, principalmente, associados a cepas que produzem colônias típicas em meio com emulsão de gema de ovo (Ágar Baird-Parker) (BOARI et al., 2003).

São agentes comuns de intoxicação estafilocócica o leite, creme, tortas recheadas com creme, saladas de batata, atum, frango e presunto e outras carnes cozidas (FRANCO; LANDGRAF, 2003).

A temperatura de estocagem é o parâmetro mais importante à qualidade dos produtos perecíveis. Este é um dos principais fatores associados a surtos de DTA causados por *Staphylococcus*, compreendendo 25,5% destes fatores (JAY, 2000).

*Staphylococcus aureus* é um perigo potencial na salada de maionese, pois esta requer muita manipulação durante o preparo, podendo ser facilmente contaminada pelo manipulador. A  $a_w$  da maionese não é suficientemente baixa para impedir a multiplicação desse microrganismo. Esse desenvolvimento é diminuído, entretanto, pelo baixo pH da maionese (< 4,1), porém, a refrigeração inadequada possibilita a multiplicação desta bactéria e a produção de enterotoxinas (GÓMEZ-LUCIA et al., 1987; SMITTLE, 1977).

Morita; Woodburn (1983) observaram que o pH inicial da maionese de 3,4 é aumentado quando esta é adicionada a vegetais, elevando a contagem de *S. aureus* de 10 para 1000 vezes depois de 8 horas de incubação a 37°C.

#### **3.6.4. *Salmonella* spp.**

*Salmonella* spp. é um microrganismo entérico amplamente difundido na natureza, sendo o homem e animais seus principais reservatórios naturais (VARNAM; EVANS, 1991).

São bacilos Gram-negativos, não formadores de esporos, usualmente móveis por flagelos peritríquios, anaeróbios facultativos e produtores de ácido a partir da glicose, geralmente com produção de gás (FRANCO; LANDGRAF, 2003).

As gastroenterites causadas por salmonelas, geralmente estão associadas à ingestão de alimentos manipulados sem condições adequadas de higiene e o consumo de ovos e derivados, carne de bovinos e aves, além de leite, produtos lácteos e vegetais contaminados, assim como de alimentos consumidos crus ou mal cozidos (JAY, 2000).

Os sintomas da salmonelose aparecem após 12-36 horas do consumo do alimento contaminado e são manifestados por dor abdominal, diarreia,

vômito e febre. O período de incubação pode variar em função da quantidade de células viáveis ingeridas e do sorotipo envolvido (SALYERS; WHITT, 2001).

A temperatura ótima para a multiplicação de *Salmonella* é de aproximadamente 35°C e a mínima, cerca de 5°C (FORSYTHE, 2002).

De acordo com Nascimento; Silva (1994), a legislação internacional de alimentos determina que em todos os produtos destinados ao consumo humano, é inaceitável a presença de *Salmonella* spp. no produto final.

Como um dos ingredientes principais da maionese é o ovo, a possibilidade da presença de *Salmonella* é alta, sendo este produto um veículo comum de salmoneloses humanas. Destaca-se que, quando se usa maionese caseira, o risco eleva-se, devido a possibilidade de contaminação pelo ovo cru, pois o emprego de ovos pasteurizados não é prática comum na grande maioria dos serviços de alimentação do Brasil (FURLANETTO; LACERDA; CERQUEIRA-CAMPOS, 1982; CORREIA et al., 2002).

Fernandez-Escartín; Saldaña-Lozano; Rodriguez-Garcia (1993) relataram não terem obtido a multiplicação de *Salmonella* em saladas tipo salpicão preparadas com 4,0% de vinagre (pH 5,3); porém, esta bactéria sobreviveu ao pH referido e foi isolada em níveis de até 7 células/g após 48 horas de incubação.

Normalmente para a produção comercial da maionese utiliza-se a pasteurização dos ovos para minimizar o perigo relativo ao gênero *Salmonella* (ZHAO; DOYLE, 1994). Produtos desenvolvidos com ovos não pasteurizados devem apresentar um pH  $\leq 4,1$  e um nível de ácido acético em fase aquosa de  $\geq 1,4\%$  e permanecerem em observação num período de 72 horas antes de serem comercializados (ZHAO; DOYLE, 1994; RAGHUBEER et al., 1997).

Por ser um dos principais veículos de salmonelose, o uso de maionese caseira é proibido em estabelecimentos produtores de alimentos em várias cidades do Brasil, sendo permitida somente a maionese industrializada.

### **3.7. Boas Práticas de Fabricação (BPF)**

Nas últimas décadas, a preocupação com a qualidade das refeições servidas ao consumidor, tem sido objeto de constante atenção por parte dos governos nacionais e internacionais, uma vez que, as DTA vêm aumentando independente de toda tecnologia existente (RÊGO et al., 2001).

É de fundamental importância proceder à avaliação das condições microbiológicas nos estabelecimentos produtores de alimentos por meio de um monitoramento correto, com especificações ou recomendações apropriadas, determinando o nível de higiene, efetuando as correções necessárias e mantendo o processo sob controle (BENEVIDES; LOVATTI, 2004).

Uma das formas para se atingir um alto padrão de qualidade dos alimentos é a implantação das BPF. Estas são compostas por um conjunto de princípios e regras para o correto manuseio de alimentos, que abrangem desde a recepção das matérias-primas até o produto final, o seu principal objetivo é garantir a integridade do alimento e a saúde do consumidor (NASCIMENTO; BARBOSA, 2007).

Boas Práticas são definidas por Silva Jr. (2001) como “normas de procedimentos para atingir um determinado padrão de identidade e qualidade de um produto e/ou serviços na área de alimentos, cuja eficácia e efetividade deve ser avaliada através de inspeção e/ou investigação”.

A implantação desse sistema preconiza a aplicação de medidas corretivas e o envolvimento da equipe para seu êxito, exigindo a obediência de uma série de etapas que devem ser desenvolvidas e constantemente reavaliadas (LOVATTI, 2004).

As BPF são obrigatórias pela legislação brasileira, para todas as indústrias e estabelecimentos de alimentos.

De acordo com a Portaria nº. 326 do Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância Sanitária (SVS/MS), as Boas Práticas de Fabricação são constituídas por critérios higiénico-sanitários essenciais para manutenção do alimento em condições adequadas para o consumo humano. Essa mesma portaria exige para estabelecimentos produtores/industrializadores de alimentos, o manual de BPF e sugere os Procedimentos Padrão de Higiene Operacional (PPHO) para que estes facilitem e padronizem a montagem do manual de BPF (BRASIL, 1997). A mesma exigência é feita na Portaria nº. 368 (BRASIL, 1997) do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (RIBEIRO-FURTINI; ABREU, 2006).

O Centro de Vigilância Sanitária do Estado de São Paulo publicou a Portaria CVS-6 de 10/03/1999 (SÃO PAULO, 1999), com o regulamento de parâmetros e critérios para melhor orientar as ações da Vigilância Sanitária e as operações de controle para os estabelecimentos produtores e prestadores de serviços de alimentação (GERMANO; GERMANO, 2003).

A legislação brasileira, segundo a Portaria nº. 1428/93 do Ministério da Saúde (BRASIL, 1993), apresenta um roteiro com algumas sugestões para a elaboração do manual, o qual serve como orientação tanto da inspeção sanitária como para consulta por parte dos colaboradores do estabelecimento produtor. Segundo essa legislação o manual deve conter: apresentação; definição; objetivos; campo de aplicação; denominações; responsabilidade técnica; requisitos legais para o funcionamento; clientela a ser atendida; fluxograma do processo de produção; aspectos administrativos e organizacionais; físicos e ambientais; recursos humanos; educativos; de funcionamento; higiene dos alimentos, dos manipuladores/colaboradores, procedimentos de limpeza e desinfecção; higiene dos equipamentos e utensílios; aspectos financeiros e controle integrado de pragas.

A rotatividade, polivalência e a falta de assiduidade dos recursos humanos no setor de produção de refeições, também são considerados problemáticos, pois não permitem a evolução no processo de treinamentos e padronização, para adoção de inovações tecnológicas e de sistemas de



qualidade. Essas questões são reforçadas pela falta de formação e qualificação profissional dos manipuladores de alimentos. Com relação a garantia da segurança dos alimentos há questões referentes à contratação, à manutenção e à carência de pessoal especializado no setor (PROENÇA, 1999).

A Resolução RDC nº. 216 (BRASIL, 2004) que dispõe do Regulamento Técnico de Boas Práticas de Fabricação para Serviços de Alimentação estabelece os requisitos de instalações, higienização, controle integrado de vetores, abastecimento de água, manejo dos resíduos, manipuladores, matérias-primas, ingredientes e embalagens, preparação, transporte e exposição ao consumo do alimento preparado e documentação e registro, também preconiza que todos os responsáveis pelas atividades de manipulação dos alimentos devem ser submetidos a curso de capacitação abordando, no mínimo os seguintes temas: contaminantes alimentares, doenças transmitidas por alimentos, manipulação higiênica dos alimentos e boas práticas. Esta resolução aplica-se em cantinas, bufês, comissárias, confeitarias, cozinhas industriais, institucionais, “delicatéssens”, lanchonetes, padarias, pastelarias, restaurantes, “rotisseries” e congêneres.

Uma das ferramentas utilizadas para se atingir as Boas Práticas, é a ficha de inspeção ou *check - list* para a área de alimentos. Esta nos permite fazer uma avaliação preliminar das condições higiênico sanitárias de um estabelecimento produtor de alimentos. Os requisitos avaliados são relativos a recursos humanos; condições ambientais; instalações, edificações e saneamento; equipamentos; sanitização; produção; embalagem e rotulagem; controle de qualidade e no mercado (SENAC, 2001).

Esta avaliação inicial permite levantar itens não conformes e, a partir dos dados coletados, traçar ações corretivas para adequação de instalações, procedimentos e processos produtivos, buscando eliminar ou reduzir riscos físicos, químicos e biológicos, que possam comprometer os alimentos e a saúde do consumidor (GENTA; MAURICIO; MATIOLI, 2005).

A ficha de inspeção de estabelecimentos na área de alimentos é determinada pela Resolução RDC nº. 275 de 21 de outubro de 2002 (BRASIL, 2002) pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), sendo aquela a fornecedora de todos os parâmetros a serem observados nos estabelecimentos produtores/industrializadores de alimentos (NASCIMENTO; BARBOSA, 2007).

### **3.7.1. Manipuladores de alimentos**

Um alimento pode tornar-se de risco pela manipulação inadequada realizada pelo homem. Serviços de alimentação onde há pessoas despreparadas são os que apresentam dificuldades na conservação de alimentos, podendo defrontar com problemas relacionados a saúde do comensal (SILVEIRA et al., 2003).

A presença de microrganismos patogênicos nas mãos de manipuladores de alimentos apresenta grande importância epidemiológica devido à possibilidade de transferência destes para o alimento que está sendo preparado. Quando este é inadequadamente conservado criam-se condições satisfatórias para a multiplicação de microrganismos, podendo se tornar uma fonte de intoxicação (SILVA; NETTO, 2003).

A Resolução RDC nº. 216 (BRASIL, 2004) define manipuladores de alimentos como qualquer pessoa do serviço de alimentação que entra em contato direto ou indireto com o alimento.

De acordo com dados da Organização Mundial da Saúde (OMS), os manipuladores são responsáveis direta ou indiretamente por até 26,0% dos surtos de enfermidades transmitidas por alimentos. Em várias pesquisas tem-se mostrado a relação existente entre manipulador e doenças bacterianas de origem alimentar. Podem ser manipuladores doentes, ou portadores assintomáticos, ou que apresentem hábitos inadequados de higiene pessoal,

ou ainda que usem métodos anti-higiênicos na preparação de alimentos. Mesmo os manipuladores sadios abrigam bactérias que podem contaminar os alimentos pela boca, nariz, garganta e trato intestinal (ANDRADE; SILVA; BRABES, 2003).

Silva; Couto; Tórtora (2006) avaliaram a qualidade microbiológica das mãos e cavidades nasais de 32 manipuladores de alimentos em um restaurante localizado na cidade do Rio de Janeiro. Os resultados revelaram 25,0% de manipuladores com estafilococos nas mãos e/ou cavidades nasais e 12,5% com enterococos nas mãos.

A higienização freqüente das mãos e de maneira correta somado a higiene pessoal adequada e sistemática é fundamental para a manutenção da qualidade dos alimentos (LOVATTI, 2004). A desqualificação da mão de obra utilizada nos restaurantes e similares colabora para o elevado risco à qualidade do alimento (BEVENIDES; LOVATTI, 2004).

### **3.8. Vigilância Sanitária de alimentos**

A higiene dos alimentos corresponde ao conjunto de medidas necessárias para garantir a segurança, salubridade e sanidade do alimento em todos os estágios do seu crescimento, produção ou manufatura até o consumo final. Deste contexto os serviços de Vigilância Sanitária se apoiam para exercer suas atividades, visando minimizar os riscos das DTA na população (VALEJO et al., 2003).

Desde os primórdios da organização social, observa-se a edição de leis destinadas a proteger as populações contra a adulteração e fraudes de alimentos, bem como reduzir o risco de contrair doenças que possam ser transmitidas pelos alimentos. Para implementar e fazer cumprir tais legislações, é reconhecido o poder de polícia do Estado, responsável pela manutenção da

salubridade pública. No Brasil, a implementação da legislação de proteção à saúde, relacionada à segurança alimentar, é designada pela expressão “Vigilância Sanitária de Alimentos” (DALLARI, 2000).

Cabe aos serviços de Vigilância Sanitária prevenir e minimizar os riscos de transmissão de doenças causadas pelo consumo de produtos alimentícios de má qualidade higiênico-sanitária (SOUZA; PELICIONI; PEREIRA, 2003).

A inspeção ou fiscalização sanitária pode ser compreendida como a ação verificadora do cumprimento de uma norma de caráter sanitário, que se realiza mediante a inspeção do estabelecimento, das atividades desenvolvidas e do ambiente, ou seja, sobre os serviços e produtos, podendo ser de rotina, no atendimento de denúncia, na investigação epidemiológica de DTA, ou outro agravo à saúde e ainda para a liberação de documentos pertinentes à Vigilância Sanitária (TANCREDI; MORAES; MARIN, 2005).

Germano; Germano (2003) define Vigilância Sanitária como o “conjunto de medidas que visam a elaboração, a aplicação, o controle e a fiscalização, respeitada a legislação pertinente, de normas e padrões de interesse da saúde individual e coletiva, relativas ao ambiente, produtos, serviços e trabalho”.

Além das atividades normatizadoras de controle e de fiscalização, cabe aos órgãos de vigilância, o papel de orientar o profissional que trabalha no preparo de alimentos quanto à pertinência e aplicabilidade das normas vigentes, por meio de programas educativos. Com o propósito de difundir a legislação, deve sensibilizar o profissional para a adoção de boas práticas operacionais e na manipulação, preparo e comércio de alimentos, visando produtos mais seguros (SOUZA; PELICIONI; PEREIRA, 2003).

Rêgo et al. (2001) apresentaram propostas de um programa de BPF em unidades de alimentação e nutrição (UANs) produtoras de refeições coletivas, considerando como aspectos importantes para a implantação: a sensibilização, conscientização e comprometimento da direção com as mudanças, visto que

esse tipo de programa exige quase sempre mudanças estruturais e comportamentais; capacitação do pessoal por meio de educação e treinamento em relação às DTA e BPF; a avaliação inicial do estabelecimento realizada por meio de auditorias e aplicação de *check - list*; implantação do programa; a avaliação por meio de: controle de pontos críticos de controle (PCC), auditorias técnicas em intervalos regulares, fiscalização pelo órgão sanitário competente e análises microbiológicas.

Um dos maiores desafios das Vigilâncias Sanitárias, na sua atividade fiscalizadora no setor privado, é o da fiscalização mantendo um caráter educativo, direcionando ao cumprimento da legislação vigente relativa à condição higiênico-sanitária do estabelecimento. As dificuldades enfrentadas relacionam-se com:

a) o desconhecimento da legislação para que possa ser cumprida;

b) a freqüente alegação, por parte do empresário, de que as exigências oneram seu orçamento, sem interferirem positivamente no negócio, quando não consideradas como prejuízos (SOTO et al., 2006).

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1. Obtenção das amostras

Foram adquiridas um total de 57 (cinquenta e sete) amostras de saladas adicionadas de maionese provenientes de 10 (dez) diferentes estabelecimentos, sendo estes, 5 (cinco) churrasarias e 5 (cinco) "rotisseries" da cidade de São José do Rio Preto - SP, coletadas da seguinte maneira:

1ª. etapa:

1 (uma) amostra de cada estabelecimento nos meses de junho, agosto e outubro de 2006 para verificar a qualidade microbiológica desse produto. Após os resultados das diferentes análises microbiológicas foi aplicado, no mês de novembro, um *check - list* para diagnóstico inicial das BPF e orientações dos técnicos da Vigilância Sanitária de São José do Rio Preto.

2ª. etapa:

Após as orientações 1 (um) estabelecimento ("rotisserie") cessou a produção de salada adicionada de maionese, por este motivo, foram realizadas 9 (nove) coletas nesta etapa do trabalho. Um prazo de 60 (sessenta) dias foi estipulado pela Vigilância Sanitária aos estabelecimentos para adequações. Após este prazo foi realizada análise microbiológica de 1 (uma) amostra de cada estabelecimento nos meses de fevereiro, abril e junho de 2007.

Na 1ª. e 2ª. etapa as amostras obtidas foram acondicionadas em caixas de material isotérmico (isopor) contendo cubos de gelo e transportadas ao Laboratório de Microbiologia de Alimentos do Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos - UNESP - Campus de São José do Rio Preto para análise.

As coletas foram realizadas com efeito surpresa, ou seja, os manipuladores não eram previamente informados da data e horário deste

procedimento. Desta forma, evitou-se a ocorrência de procedimentos não rotineiros nas operações que envolviam higienização pessoal e do ambiente, preparo e distribuição.

## **4.2. Preparo das amostras**

No Laboratório cada amostra recebeu um código de identificação, ou seja, SM<sub>n</sub> onde SM = salada com maionese e n = número da amostra. A seguir, assepticamente 10,0 g da amostra foram colocadas em um frasco de Erlenmeyer contendo 90,0 mL de água destilada estéril (diluyente) sendo homogeneizados posteriormente (diluição 10<sup>-1</sup>). A partir desta foram efetuadas as demais diluições decimais seriadas até 10<sup>-3</sup> utilizando o mesmo diluyente (ICMSF, 1980).

## **4.3. Enumeração de bolores e leveduras**

Foram pipetados assepticamente 1,0 mL de cada diluição e distribuídos em placas de Petri esterilizadas e identificadas. A seguir foram adicionados a cada placa 20,0 mL de ágar batata dextrose acidificado com ácido tartárico a 10,0% (pH = 4,0), ambos esterilizados; após solidificação do meio de cultura as placas foram incubadas em estufa a 25°C por 5 dias. As unidades formadoras de colônias (UFC) foram calculadas de acordo com as diluições (ICMSF, 1978).

## **4.4. Contagem de *Staphylococcus aureus***

Foi pipetado assepticamente 0,1 mL de cada diluição e depositado na superfície do Ágar Baird-Parker em placas de Petri. O inóculo foi espalhado em toda a superfície do meio por intermédio da alça de Drigalsky esterilizada e, em

seguida, as placas foram incubadas em estufa a 35°C por 24/48 horas (THATCHER; CLARK, 1973). Após a incubação procedeu-se, às contagens daquelas UFC de cor negra, brilhantes, com zona de precipitação em suas bordas e circundadas por halos claros (BAIRD-PARKER, 1962). A confirmação do resultado foi feita a partir de esfregaços em lâminas, corados pelo método de Gram, para a verificação microscópica da morfologia das bactérias isoladas.

#### **4.5. Determinação do Número mais Provável (NMP) de coliformes totais**

Foi utilizada a técnica dos tubos múltiplos, empregando-se o caldo lauril sulfato triptose com incubação a 35°C durante 48 horas (THATCHER; CLARK, 1973).

#### **4.6. Determinação do NMP de coliformes termotolerantes**

Foi empregado o método dos tubos múltiplos, utilizando-se o caldo EC com incubação a 44,5°C durante 24 horas (BRASIL, 1981; 2003). A determinação do NMP de coliformes totais e termotolerantes foi realizada empregando-se a tabela de Hoskins (ICMSF, 1978).

#### **4.7. Pesquisa de *Escherichia coli***

A partir dos tubos de ensaio contendo caldo EC, usados na quantificação de coliformes termotolerantes que apresentaram turvação, com ou sem gás no interior do tubo de Durham, foram semeadas por esgotamento na superfície de placas de Petri contendo ágar eosina azul de metileno e incubadas a 35°C/48 horas. As UFC suspeitas foram identificadas utilizando-se



os testes bioquímicos (IMVIC), ou seja, de indol/vermelho de metila/Voges-Proskauer/citrato (MARTH, 1978).

#### **4.8. Pesquisa de *Salmonella* spp.**

Em 225,0 mL de caldo lactosado e de água peptonada a 1% foram homogeneizados, respectivamente 25,0 g de cada amostra. Depois da incubação a 35°C/24 horas, 1,0 mL de cada cultivo foi transferido para tubos de ensaio contendo 10,0 mL de caldo selenito cistina, posteriormente incubados a 35°C/24 horas. Após 24, 48 e 120 horas foram feitas sementeiras, em placas de Petri contendo ágar *Salmonella Shigella* incubadas a 35°C/48 horas (BRASIL, 1981; 2003). As UFC suspeitas foram transferidas com auxílio de uma alça de platina para um tubo de ensaio contendo meio de enriquecimento para manutenção de culturas de bactérias, Ágar padrão para contagem (PCA), e incubadas a 35°C por 24 horas. Posteriormente foram submetidas a um teste sorológico. Para isto 2 (duas) gotas de solução salina 0,85% estéril, foram colocadas nas extremidades de uma lâmina. Uma alçada do microrganismo suspeito foi transferida para cada extremidade e homogeneizada com a solução salina, acrescentou-se 1 (uma) gota do soro somático polivalente anti - *Salmonella* sobre uma das gotas. A leitura foi realizada após 2 (dois) minutos de delicados movimentos de inclinação e rotação da lâmina. A ausência de aglutinação das misturas classificou a reação como negativa (SILVA; JUNQUEIRA; SILVEIRA, 1997).

#### **4.9. Isolamento das culturas de leveduras**

A partir do experimento realizado em junho de 2007 com referência a enumeração de bolores e leveduras, foram isoladas após cinco dias de incubação a 25°C, 25 culturas de todos os tipos morfológicos existentes. Em

seguida, cada cultura pura, previamente submetida a coloração de Gram e observada sob microscopia (microscópio óptico comum), recebeu um código de identificação, ou seja, SM<sub>n,n1</sub> onde SM = salada de maionese, n = número da amostra e n1 = número da levedura isolada desta amostra. Foram estocadas em tubos de ensaio de 12 x 100 mm contendo meio "Gymp" (2,0% de glicose, 0,5% de extrato de levedura, 1,0% de extrato de malte, 0,2% de NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> e 2,0% de ágar), para posterior identificação, sendo então cobertas com óleo mineral para evitar ressecamento e mantidas a 8 ± 2 °C.

#### **4.10. Provas taxonômicas**

Nos testes taxonômicos (morfológicos e fisiológicos) foram empregados os métodos descritos por Kreeger Van Rij (1984) e Barnett, Payne e Yarrow (1983 e 1990).

A identificação das culturas realizou-se segundo chaves descritas por Barnett, Payne e Yarrow (1990) e Kurtzman e Fell (1998).

#### **4.11. Provas morfológicas**

Para verificação da produção de esporos foram utilizados o meio de cultura de Gorodkova (glicose 0,1%, peptona 1,0%, NaCl 0,5% e ágar 1,8%) e o ágar acetato de McClary (glicose 0,1%, KCl 0,18%, extrato de levedura 0,25%, acetato de sódio 0,82% e ágar 1,8%). As placas de Petri foram mantidas à temperatura ambiente e as observações feitas periodicamente entre 7, 14 e 21 dias (KURTZMAN; FELL, 1998).

## **4.12. Provas fisiológicas**

### **4.12.1. Capacidade fermentativa**

Para verificar a capacidade fermentativa das culturas foi utilizado o meio básico para fermentação (peptona 0,75% e extrato de levedura 0,5%). O mesmo foi colocado em tubos de ensaio de 12 x 100 mm contendo tubo de Durham invertido. Os açúcares, glicose 1,0%, sacarose 2,0%, maltose 1,0% e lactose 1,0%, foram esterilizados separadamente do meio de cultura e, posteriormente adicionados.

Inicialmente foi testada a capacidade fermentativa frente à glicose. As culturas que apresentaram resultado positivo foram então submetidas a três dissacarídeos: sacarose, maltose e lactose.

Os tubos de ensaio foram mantidos à temperatura ambiente, sendo as leituras realizadas entre 7, 14 e 21 dias. Considerando-se resultado positivo quando 1/3 a 3/3 do tubo de Durham estivesse preenchido com gás e negativo quando não houvesse tal produção (KREEGER VAN RIJ, 1984; BARNETT; PAYNE; YARROW, 1983 e 1990).

### **4.12.2. Desenvolvimento em diversas temperaturas**

Foi analisada a capacidade de desenvolvimento a 35, 40 e 42°C, utilizando-se o meio básico para fermentação (peptona 0,75% e extrato de levedura 0,5%) acrescido de 2,0% de glicose. Para a temperatura de 35°C, os tubos de ensaio foram mantidos em estufa de incubação e para as demais foi utilizado o banho-maria. As leituras foram feitas por meio do Cartão de Whickerham (KREEGER VAN RIJ, 1984), após 48-72 horas de incubação. Foi considerado desenvolvimento positivo quando as linhas do cartão não foram visíveis e negativo quando foram visualizadas.

#### **4.12.3. Desenvolvimento em meio de cultura contendo nitrato**

Utilizou-se o *Yeast Carbon Base* 1,17% (YCB-Difco) contendo 0,078% de  $\text{KNO}_3$  como fonte de nitrogênio e 1,8% de ágar (KREEGER VAN RIJ, 1984; BARNETT; PAYNE; YARROW, 1983 e 1990).

#### **4.12.4. Resistência à pressão osmótica**

Neste teste, foram utilizadas duas substâncias distintas. O meio básico para ambas foi o ágar Sabouraud glicose. Para um dos testes, foi acrescentado 50,0% de glicose e para o outro 10,0% de NaCl (KREEGER VAN RIJ, 1984; BARNETT; PAYNE; YARROW, 1983 e 1990).

#### **4.12.5. Desenvolvimento em meio de cultura contendo cicloheximida (actidione)**

Para esta prova foi empregado o *Yeast Nitrogen Base* 0,67% (YNB-Difco) acrescido de 1,0% de glicose, 1,8% de ágar e alíquotas de cicloheximida que variaram de acordo com a concentração desejada (100 ou 1000 partes por milhão - ppm), segundo metodologia descrita por Kreeger Van Rij (1984).

#### **4.12.6. Síntese de amido**

Para a verificação da produção de compostos amilóides foi utilizado o ágar Sabouraud glicose (glicose 2,0%, peptona 1,0%, extrato de levedura 0,5% e ágar 1,8%). Após o desenvolvimento das culturas, foi gotejada sobre as mesmas uma solução de lugol. O aparecimento de coloração azul escura indicou resultado positivo (KREEGER VAN RIJ, 1984; BARNETT; PAYNE; YARROW, 1983 e 1990).

#### **4.12.7. Provas de assimilação de fontes de carbono**

Foram usadas as seguintes substâncias: glicose, galactose, L-sorbose, maltose, sacarose, celobiose, trealose, lactose, melibiose, rafinose, melezitose, inulina, amido solúvel, D-xilose, L-arabinose, D-arabinose, D-ribose, L-ramnose, etanol, glicerol, eritritol, ribitol (adonitol), galactitol (dulcitol), D-manitol, D-glucitol (sorbitol), salicina, citrato, m-inositol e glicosamina. Todas as substâncias foram utilizadas na concentração de 0,5% exceto a rafinose que foi a 1,0%, acrescidas ao *Yeast Nitrogen Base* 0,67% (YNB-Difco) mais 1,8% de ágar (KREEGER VAN RIJ, 1984; BARNETT; PAYNE; YARROW, 1983 e 1990).

#### **4.13. Ensaio de resistência ao conservante alimentício sorbato de potássio**

Para esta prova utilizou-se o ágar Sabouraud glicose (glicose 2,0%, peptona 1,0%, extrato de levedura 0,5% e ágar 1,8%) onde foi acrescido o conservante alimentício sorbato de potássio (código INS - 202) nas concentrações de 0,05; 0,1 e 0,2%. Para verificar o desenvolvimento microbiano foi empregado como controle o mesmo meio de cultura, porém sem a adição de conservante.

Foram esterilizados separadamente por autoclavagem, o meio básico (sem ágar), o ágar e o conservante, para se evitar, em primeiro lugar, a hidrólise do ágar durante o aquecimento, com a perda do poder de gelificação e, no que se refere ao conservante utilizado, eventual perda por hidrólise ou evaporação.

#### **4.14. Técnica de *Replica-plate***

A técnica de *Replica-plate* foi usada para as provas descritas nos itens 4.11., 4.12.3. a 4.12.7., 4.13.

Nos testes onde foi utilizado este método, como inóculo, culturas de 24-48 horas em meio “Gymp”, foram transferidas e pré-incubadas durante 3 a 5 dias à temperatura ambiente em *Yeast Nitrogen Base* 0,67% (YNB-Difco) líquido contendo 0,1% de glicose, sendo agitadas periodicamente para o consumo do endógeno. A partir daí, cada inóculo foi transferido assepticamente para um sistema *replica-plate multitiped*, que permite a inoculação de vinte e cinco colônias/placa de Petri (LEDERBERG; LEDERBERG, 1952; SHEREE LIN; FUNG; COX, 1987).

As placas de Petri foram incubadas em estufa a 25°C com leituras de 7, 14 e 21 dias de incubação.

#### **4.15. Aplicação do *check - list* nos estabelecimentos produtores de salada adicionada de maionese**

No período de novembro de 2006 com a colaboração da Vigilância Sanitária de São José do Rio Preto foram avaliadas as BPF dos estabelecimentos produtores de salada adicionada de maionese, utilizando um instrumento de medição de qualidade, ou seja, o guia de verificação ou *check - list*. Este foi elaborado com base em um diagnóstico inicial utilizado pelo

Programa Alimento Seguro (PAS) para implantação das BPF em estabelecimentos produtores de alimentos do segmento mesa (SENAC, 2001). Este instrumento de verificação está pautado no Anexo II da RDC nº. 275 de 21 de outubro de 2002 do Ministério da Saúde, cuja ementa dispõe, dentre outros, da lista de Verificação das Boas Práticas de Fabricação em estabelecimentos produtores/industrializadores de alimentos (BRASIL, 2002).

O *check - list* utilizado constou de 123 itens de verificação, distribuídos em avaliação de vários aspectos do estabelecimento como descritos no Quadro 3.

As opções de respostas para o preenchimento do *check - list* foram: “Conforme” (C) - quando o estabelecimento atendeu ao item observado, “Não Conforme” (NC) - quando o mesmo apresentou Não-conformidade. Os itens, cuja resposta foi “Não Aplicável”, não foram estatisticamente avaliados.

O *check - list* foi preenchido por meio de observações no próprio local e informações fornecidas pelo proprietário do estabelecimento.

Os resultados foram classificados em: aprovado com  $\geq 75\%$  de conformidades e reprovado com  $< 75\%$  de conformidades (SENAC, 2001).

As orientações de adequações dos estabelecimentos foram realizadas pelos técnicos da Vigilância Sanitária de São José do Rio Preto, baseadas em legislações vigentes.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. Análises microbiológicas de saladas adicionadas de maionese

Os resultados das análises microbiológicas, obtidos neste trabalho, para as 57 amostras de saladas adicionadas de maionese, provenientes de 10 diferentes estabelecimentos, estão apresentados nas Tabelas 1, 2, 3 e 4.

A Resolução RDC nº. 12, de 02 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001), estabelece os padrões microbiológicos para salada adicionada de maionese, sendo eles, coliformes a 45°C ( $<10^2/g$ ), estafilococos coagulase positiva ( $<10^3/g$ ) e *Salmonella* spp. (ausência em 25 g).

Em relação às amostras analisadas, 41 (71,9%) apresentaram-se fora do padrão microbiológico exigido pela legislação vigente em, pelo menos, um dos parâmetros exigidos, sendo por este motivo, classificadas como “produtos em condições sanitárias insatisfatórias” e, por conseguinte “produtos impróprios para o consumo humano”.

Na pesquisa realizada não constatou-se a presença de *Salmonella* spp. nos produtos analisados.

Para coliformes totais os resultados variaram de  $< 3$  a  $> 1100$ , registrando a presença destas bactérias em 98,2% das amostras analisadas (Tabela 1). Conforme Franco; Landgraf (2003), a presença de coliformes totais no alimento, não indica necessariamente, contaminação fecal recente ou ocorrência de enteropatógenos.

Embora a legislação estabeleça um valor de  $<10^2$  NMP/g para coliformes termotolerantes, a presença destes em alimentos é indicativa de condições higiênicas insatisfatórias, resultantes de manipulação inadequada, contaminação cruzada, deficiência no processo de higienização dos equipamentos ou utensílios e até mesmo do vegetal (SILVA JR., 2001).

Quanto aos valores de coliformes termotolerantes, 50 (87,7%) das amostras apresentaram-se positivas, porém 21 (36,8%) encontravam-se em condições consideradas inadequadas, com valores entre 120 a 1100 NMP/g



(Tabela 2). *Escherichia coli* foi confirmada em todas as amostras positivas para coliformes termotolerantes.

Esses altos índices de contaminação podem ser atribuídos a falhas durante o processo de manipulação ou higienização das matérias-primas utilizadas, que por se tratarem de alimentos de origem vegetal e, portanto, manterem um contato direto com o solo, possuem um alto risco quando não higienizadas adequadamente (GERMANO; GERMANO, 2003), evidenciando assim a necessidade de intervenção no processo de produção e conservação do alimento, principalmente em relação aos aspectos higiênicos, pois esta bactéria tem como habitat natural o trato intestinal do homem e animais.

Siqueira et al. (1997) constatou que 44,0% das saladas cozidas de restaurantes industriais da cidade de Belo Horizonte, MG estavam contaminadas com coliformes termotolerantes e em 15,0%, o número de microrganismos era superior em relação ao preconizado pela legislação vigente.

**Tabela 1.** Apresentação dos resultados obtidos após a determinação do NMP de coliformes totais em saladas de maionese comercializadas na cidade de São José do Rio Preto - SP.

Amostra SM n <sup>o</sup> .	Coliformes totais (NMP/g)					
	Junho/06	Agosto/06	Outubro/06	Fevereiro/07	Abril/07	Junho/07
1	460	460	460	> 1100	> 1100	> 1100
2	> 1100	21	1100	> 1100	> 1100	> 1100
3	93	> 1100	> 1100	> 1100	23	240
4	460	1100	1100	> 1100	240	> 1100
5	210	> 1100	> 1100	> 1100	> 1100	> 1100
6	> 1100	1100	> 1100	> 1100	> 1100	1100
7	> 1100	> 1100	210	> 1100	> 1100	460
8	460	> 1100	> 1100	> 1100	> 1100	460
9	> 1100	460	1100	-	-	-
10	75	240	460	43	4	< 3
Variação	< 3 a > 1100					
ausência de padrão federal						

**Tabela 2.** Apresentação dos resultados obtidos após determinação do NMP de coliformes termotolerantes em saladas de maionese comercializadas na cidade de São José do Rio Preto - SP.

Amostra SM n.º.	Coliformes termotolerantes (NMP/g)					
	Junho/06	Agosto/06	Outubro/06	Fevereiro/07	Abril/07	Junho/07
1	43	9	< 3	<b>150</b>	<b>210</b>	<b>1100</b>
2	15	11	20	<b>460</b>	<b>&gt; 1100</b>	<b>150</b>
3	< 3	<b>240</b>	< 3	<b>150</b>	4	43
4	43	9	75	28	<b>240</b>	<b>1100</b>
5	11	<b>210</b>	<b>210</b>	9	<b>&gt; 1100</b>	11
6	4	<b>1100</b>	< 3	15	7	<b>150</b>
7	43	75	7	<b>150</b>	<b>&gt; 1100</b>	21
8	75	<b>120</b>	<b>1100</b>	23	43	<b>240</b>
9	20	28	<b>150</b>	-	-	-
10	< 3	7	< 3	4	4	< 3
Variação			< 3 a > 1100			
Padrão Federal (BRASIL, 2001)			<10 <sup>2</sup>			

**Em negrito:** contagens em desacordo com a legislação vigente.

A identificação de microrganismos indicadores fornece dados importantes sobre as condições higiênico-sanitárias ao longo de todo o processamento do alimento. Além disso, indicam que os alimentos em questão, estão expostos a condições tais que podem introduzir microrganismos patogênicos e ou permitir a proliferação de espécies toxigênicas e ou infecciosas (BRYAN, 1992; LEITÃO et al., 1988; TOMPKIN, 1983; ICMSF, 1978).

*S. aureus* foi detectado em 87,7% das amostras, sendo que em 56,1% foram encontrados valores acima dos padrões legais permitidos e em 8 (14,0%) acima de 10<sup>5</sup> (Tabela 3). Segundo Forsythe (2002) esse número de UFC produz enterotoxinas.

Em relação a algumas amostras negativas para *S. aureus* (Tabela 3), uma das possíveis explicações é a grande quantidade detectada de bactérias de outros gêneros; de acordo com Jay (2000) *S. aureus* não tolera competição com outros microrganismos.

**Tabela 3.** Apresentação dos resultados obtidos após contagem de *S. aureus* em saladas de maionese comercializadas na cidade de São José do Rio Preto - SP.

Amostra SM n°.	<i>Staphylococcus aureus</i> (UFC/g)					
	Junho/06	Agosto/06	Outubro/06	Fevereiro/07	Abril/07	Junho/07
1	<b>1,1 x 10<sup>3</sup></b>	1,0 x 10 <sup>3</sup>	<b>3,2 x 10<sup>4</sup></b>	5,5 x 10 <sup>2</sup>	4,0 x 10 <sup>2</sup>	<b>9,1 x 10<sup>5</sup></b>
2	<b>1,4 x 10<sup>3</sup></b>	2,5 x 10 <sup>2</sup>	<b>6,6 x 10<sup>3</sup></b>	5,0 x 10 <sup>2</sup>	<b>2,5 x 10<sup>3</sup></b>	< 100
3	<b>1,6 x 10<sup>4</sup></b>	<b>1,8 x 10<sup>3</sup></b>	<b>6,5 x 10<sup>3</sup></b>	8,0 x 10 <sup>2</sup>	5,0 x 10 <sup>2</sup>	1,0 x 10 <sup>2</sup>
4	1,0 x 10 <sup>2</sup>	<b>2,0 x 10<sup>3</sup></b>	<b>3,8 x 10<sup>3</sup></b>	2,5 x 10 <sup>2</sup>	3,5 x 10 <sup>2</sup>	<b>1,4 x 10<sup>3</sup></b>
5	<b>4,4 x 10<sup>6</sup></b>	< 100	<b>1,8 x 10<sup>7</sup></b>	< 100	<b>3,2 x 10<sup>4</sup></b>	7,0 x 10 <sup>2</sup>
6	<b>2,4 x 10<sup>6</sup></b>	<b>1,3 x 10<sup>6</sup></b>	<b>2,7 x 10<sup>3</sup></b>	<b>3,9 x 10<sup>4</sup></b>	2,5 x 10 <sup>2</sup>	<b>8,5 x 10<sup>3</sup></b>
7	< 100	< 100	<b>1,2 x 10<sup>4</sup></b>	<b>2,8 x 10<sup>5</sup></b>	<b>4,3 x 10<sup>3</sup></b>	5,0 x 10 <sup>1</sup>
8	<b>4,9 x 10<sup>6</sup></b>	< 100	<b>1,0 x 10<sup>4</sup></b>	<b>3,5 x 10<sup>3</sup></b>	<b>6,8 x 10<sup>3</sup></b>	< 100
9	<b>6,5 x 10<sup>3</sup></b>	<b>2,1 x 10<sup>4</sup></b>	<b>4,8 x 10<sup>6</sup></b>	-	-	-
10	1,0 x 10 <sup>2</sup>	<b>1,7 x 10<sup>4</sup></b>	2,0 x 10 <sup>2</sup>	<b>1,2 x 10<sup>3</sup></b>	5,2 x 10 <sup>2</sup>	5,0 x 10 <sup>2</sup>
Variação	< 100 a 1,8 x 10 <sup>7</sup>					
Padrão Federal (BRASIL, 2001)	<10 <sup>3</sup>					

**Em negrito:** contagens em desacordo com a legislação vigente.

Os surtos de origem alimentar causado por *S. aureus*, em geral, tem nos manipuladores a provável fonte de contaminação dos alimentos, uma vez que esse microrganismo é isolado da região orofaríngea e mãos de manipuladores (CARMO et al., 2003), portanto existem poucos recursos para impedir a disseminação dos estafilococos a partir dos portadores e esta é, sabidamente, a espécie bacteriana de mais difícil controle.

Do total de amostras analisadas, 12 (21,0%) apresentaram-se em desacordo com os dois parâmetros simultaneamente: presença de coliformes termotolerantes (Tabela 2) e *S. aureus* (Tabela 3). Estes resultados sugerem que houve manipulação inadequada durante o processo de preparação da salada adicionada de maionese.

A presença de microrganismos patogênicos nas mãos representa grande importância epidemiológica devido à possibilidade de transferência dos mesmos aos alimentos (ALMEIDA et al., 1995). A contaminação cruzada via utensílios ou equipamentos é uma possibilidade sempre presente no preparo

final de alimentos (KAKU et al., 1995). Portanto, considera-se que o manipulador de alimentos é um risco em potencial para a produção de refeições e como tal, necessita ser conscientizado, por meio de treinamento, visando a melhoria da qualidade higiênica das refeições produzidas (RÊGO; PIRES; MEDINA, 1999), tornando necessário que os profissionais ligados a produção de refeições incorporem, a sua prática diária, um conjunto de ações voltadas para o controle de qualidade dos alimentos, tais como os cuidados com a higiene dos equipamentos, dos utensílios, do ambiente e pessoal (GONÇALVES, 1998).

Conforme Silva Jr. (2001), os itens importantes relativos ao treinamento de manipuladores de alimentos são: higiene pessoal, higienização das mãos, informações importantes relativas à higiene corporal, uniformes e cuidados gerais e higiene ambiental. Vieira et al. (1996) acrescenta a higiene dos alimentos, ou seja, a aplicação correta da higienização dos vegetais, dos perecíveis e não perecíveis.

Segundo Robbs (1991), os resultados da investigação de 52 amostras de saladas mistas com ou sem molho, de 9 cozinhas industriais do Rio de Janeiro - RJ revelaram que 16 (30,8%) amostras estavam em desacordo com o padrão para coliformes termotolerantes e 1 (1,9%) para *S. aureus*.

Silva Jr. (1991) analisou 79 amostras de saladas mistas e de saladas com maionese de cozinhas industriais da cidade de São Paulo - SP e encontrou 37,9% das amostras fora do padrão para coliformes termotolerantes e 3,7% para *S. aureus*.

Pesquisa realizada por Ribeiro; Carvalho; Pilon (2000) em preparações de pratos à base de maionese caseira, em restaurantes *self - service* demonstrou contaminação na salada com maionese de 83,4% por coliformes termotolerantes e 64,0% de *Staphylococcus aureus* e em nenhum dos alimentos analisados foi detectada *Salmonella* spp. Estes resultados foram semelhantes aos encontrados por Girioli (1993) em Belo Horizonte - MG.

Zoli; Negrete; Oliveira (2002) avaliaram a contaminação por *Staphylococcus aureus* e *Salmonella* spp., de maionese de batata comercializada em Londrina, PR. Foram coletadas 50 amostras de maionese de batata em restaurantes da cidade e 5 (10,0%) apresentaram *S. aureus* com contagens variando de  $4,0 \times 10^2$  a  $9,6 \times 10^3$  UFC/g, sendo que duas amostras

estavam acima da contagem máxima de  $10^3$  UFC/g estabelecida pela legislação vigente. Além disso, em uma das amostras foi isolado estafilococo produtor de enterotoxina (EEB). Não foi isolada *Salmonella* spp. em nenhuma amostra.

É evidente que a sobrevivência de microrganismos patogênicos na maionese é determinada em parte pelo tipo e concentração do ácido utilizado na preparação (Smitlle, 1977; Collins, 1985). Porém um pH de 4,1 é favorável ao desenvolvimento de bolores e leveduras.

A Resolução RDC nº. 12 excluiu o parâmetro para contagem de bolores e leveduras, que anteriormente era regido pela Portaria nº. 451 (BRASIL, 1997) da Secretária de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde, onde o padrão era de  $5 \times 10^3$  UFC/g. Mesmo não havendo padrão microbiológico determinado para esses microrganismos neste produto, sua contagem nos alimentos é indicativa de falhas higiênicas ao longo do processamento ou matérias-primas de má qualidade (SANT'ANA; CORREIA, 2006).

Nesse estudo foram encontradas variações de  $1,9 \times 10^3$  a  $6,0 \times 10^6$  na contagem de bolores e leveduras (Tabela 4).

**Tabela 4.** Apresentação dos resultados obtidos após enumeração de bolores e leveduras em saladas de maionese comercializadas na cidade de São José do Rio Preto - SP.

Amostra SM nº.	Bolores e leveduras (UFC/g)					
	Junho/06	Agosto/06	Outubro/06	Fevereiro/07	Abril/07	Junho/07
1	$4,4 \times 10^4$	$1,7 \times 10^5$	$1,6 \times 10^5$	$4,4 \times 10^4$	$5,0 \times 10^5$	$1,5 \times 10^7$
2	$1,2 \times 10^4$	$1,9 \times 10^3$	$1,8 \times 10^6$	$7,3 \times 10^4$	$2,6 \times 10^4$	$1,6 \times 10^6$
3	$1,3 \times 10^4$	$3,0 \times 10^4$	$9,2 \times 10^4$	$1,8 \times 10^4$	$1,0 \times 10^3$	$1,2 \times 10^4$
4	$1,4 \times 10^4$	$1,3 \times 10^4$	$5,6 \times 10^4$	$7,3 \times 10^4$	$8,6 \times 10^4$	$4,0 \times 10^4$
5	$4,8 \times 10^6$	$2,5 \times 10^6$	$5,5 \times 10^6$	$4,9 \times 10^6$	$3,0 \times 10^6$	$2,4 \times 10^5$
6	$2,7 \times 10^6$	$1,9 \times 10^6$	$2,0 \times 10^6$	$8,0 \times 10^4$	$6,3 \times 10^4$	$1,7 \times 10^5$
7	$6,0 \times 10^6$	$2,1 \times 10^6$	$2,5 \times 10^6$	$3,0 \times 10^5$	$9,5 \times 10^4$	$3,3 \times 10^6$
8	$2,5 \times 10^6$	$6,6 \times 10^5$	$5,1 \times 10^6$	$5,3 \times 10^5$	$2,5 \times 10^5$	$9,0 \times 10^5$
9	$3,5 \times 10^4$	$1,2 \times 10^4$	$3,0 \times 10^6$	-	-	-
10	$4,6 \times 10^3$	$6,3 \times 10^3$	$2,1 \times 10^4$	$8,3 \times 10^3$	$9,5 \times 10^3$	$1,3 \times 10^2$
Varição	$1,3 \times 10^2$ a $1,5 \times 10^7$					
ausência de padrão federal						

Dados superiores aos encontrados neste trabalho foram observados por Momesso; Matté; Germano (2005) ao avaliar as condições higiênico-sanitárias de restaurantes tipo *self - service* do município de São Paulo, durante o período de distribuição das refeições. Estes autores constataram que em 93,3% das maioneses a base de legumes, colhidas de 15 diferentes estabelecimentos, encontravam-se em desacordo com o padrão vigente em pelo menos um dos parâmetros analisados, 20,0% encontravam-se com no mínimo dois parâmetros em desacordo com o padrão e 6,7% com três parâmetros. *Salmonella* spp. foi detectada em 2 amostras. No entanto, a maionese utilizada para a elaboração de saladas nos estabelecimentos visitados eram industrializadas, sugerindo que as contaminações observadas nesse estudo foram provenientes de via cruzada.

Estudo realizado por Correia et al. (2002) relatou as condições microbiológicas de saladas de vegetais com maionese fornecidas em 58 restaurantes localizados na região de Goiânia. Verificou-se variação de *S. aureus* de  $< 1,0 \times 10^1$  a  $1,6 \times 10^6$  UFC/g, sendo que a maior parte encontrou-se entre  $10^3$  e  $10^4$  UFC/g. Observou-se também resultados elevados de microrganismos indicadores das condições gerais de processamento, pois em todas as amostras as contagens de mesófilos foram  $\geq 10^4$ , com exceção de uma amostra, perfazendo 98,3%. Para bolores e leveduras, os resultados variaram de  $2,6 \times 10^3$  a  $2,2 \times 10^6$  UFC/g, com a maioria (89,7%) apresentando valores iguais ou superiores a  $10^4$ . 80,0% das amostras revelaram-se positivas para coliformes termotolerantes, exibindo contagens elevadas ( $> 100$  UFC/g). Todas as amostras revelaram-se negativas para *Salmonella*. O pH variou de 4,24 a 6,30, sendo 34 (58,6%) amostras com pH na faixa de 5,0 a 5,5. Nenhuma amostra apresentou temperatura de acordo com os valores recomendados para armazenamento de pratos frios (10°C).

Bricio; Leite; Viana (2005) avaliaram as condições microbiológicas de salpicão de frango e salada de maionese com ovos servidos em restaurantes *self-service* na cidade do Rio de Janeiro e concluíram que das 135 amostras de salada de maionese, 26 (19,3%) encontraram-se fora do padrão para estafilococos coagulase positiva. Todas (100,0%) as amostras continham coliformes a 35°C e quarenta e oito (35,6%) coliformes a 45°C acima dos padrões. Cinco (3,7%) amostras foram positivas para *Salmonella*. O pH das

amostras variou de 4,57 a 7,68, com média de 6,14. Os autores concluíram que a incidência desses microrganismos denota a precária qualidade higiênico-sanitária dos restaurantes avaliados.

Foram pesquisados alguns microrganismos em saladas com maionese adquiridas em restaurantes, lanchonetes e “rotisseries” na cidade de São Paulo - SP; constatou-se que o pH das amostras variou de 4,9 a 6,6. No estudo obteve-se como contagem mínima de *S. aureus*  $< 10^2$  UFC/g, enquanto que a máxima foi  $4,0 \times 10^5$  UFC/g; por outro lado, o NMP de coliformes e de estreptococos fecais variaram respectivamente de zero a  $2,4 \times 10^4$ /g e de 5,0 a  $2,4 \times 10^4$ /g. Para bolores e leveduras, de  $7,1 \times 10^2$  a  $3,7 \times 10^6$ /g, enquanto que para *E. coli* os NMP mínimo e máximo foram  $< 0,03$  e  $2,4 \times 10^4$ /g. Das 20 amostras de saladas com maionese examinadas, 16 (80,0%) revelaram resultados positivos para coliformes totais, 8 (40,0%) para *E. coli* e 19 (95,0%) para estreptococos fecais, todas revelaram-se negativas para bactérias do gênero *Salmonella* (FURLANETTO; LACERDA; CERQUEIRA-CAMPOS, 1982).

## **5.2. Verificação das BPF nos estabelecimentos produtores de salada adicionada de maionese**

No período de novembro de 2006 foram vistoriados e classificados, com a colaboração da Vigilância Sanitária de São José do Rio Preto - SP, 10 estabelecimentos produtores de salada adicionada de maionese, segundo *check - list* aplicado nos mesmos.

Por meio dos resultados obtidos pode-se observar na Tabela 5 que 7 (70,0%) dos estabelecimentos produtores não oferecem uma alimentação segura do ponto de vista higiênico-sanitário segundo a legislação vigente. Neste caso, a melhoria da qualidade de produtos e serviços alimentícios nos estabelecimentos deve ser encarada com maior seriedade por meio do desenvolvimento e utilização de sistemas e programas de qualidade.

Do total de estabelecimentos vistoriados 3 (30,0%) não possuíam licença do órgão fiscalizador municipal compatível com a atividade realizada e em 1 (10,0%) a licença encontrava-se fora do prazo de validade.

Conforme Tabela 5, os aspectos gerais de recursos humanos obtiveram porcentagens de não conformidades que variaram de 12,5 a 68,7%, os de condições ambientais de 0,0 a 50,0%, os de instalações, edificações e saneamento de 11,9 a 64,3%, os de equipamentos de 0,0 à 100,0%, os de sanitização de 13,3 a 60,0%, os de produção de 13,1 a 60,5%, os de embalagem e rotulagem de 0,0 à 66,6% e os de controle de qualidade de 50,0 a 100,0%.

Com relação à temperatura do balcão dos dez estabelecimentos, 5 (50,0%) estavam de acordo com a legislação. Esses dados diferem dos encontrados por Gollucke et al. (2003), onde verificaram que as variáveis que se apresentam com menores índices de adequação a legislação são as edificações e o controle de temperatura de distribuição.

A avaliação higiênico-sanitária de cozinhas industriais no município de Blumenau, SC, realizada por Deschamps et al. (2003), revelou que das 35 unidades visitadas 57,0% apresentaram-se insatisfatórias para exercerem as atividades neste ramo. Os maiores índices de inadequações foram referentes às condições físicas (48,6%), recebimento e armazenamento de matéria-prima (65,7%), precária higiene e estado de conservação de utensílios, equipamentos e móveis utilizados (45,7%).

Em trabalho realizado em uma unidade de alimentação e nutrição, por Stolte; Tondo (2001) constatou-se que 63,0% dos manipuladores demonstraram condições adequadas de higienização das mãos, 76,0% dos equipamentos ou utensílios apresentaram resultados dentro do padrão.



**Tabela 5.** Distribuição do percentual de não conformidades, verificadas por meio de check - list aplicado em 10 estabelecimentos produtores de salada adicionada de maionese.

	Nº. total de requisitos	A 14,7%	B 36,9%	C 19,7%	D 26,0%	E 37,7%	F 59,0%	G 43,4%	H 26,0%	I 54,5%	J 20,3%
Aspectos gerais de recursos humanos	16	2	5	3	8	8	10	11	4	10	5
Aspectos gerais de condições ambientais	2	1	0	0	0	0	1	1	0	1	0
Aspectos gerais de instalações, edificações e saneamento	42	5	11	6	11	13	27	15	9	18	8
Aspectos gerais de equipamentos	5	0	3	1	0	3	4	2	1	5	2
Aspectos gerais de sanitização	15	4	8	3	4	5	9	5	2	6	3
Aspectos gerais de produção	38	5	16	9	6	16	18	16	13	23	5
Aspectos gerais de embalagem e rotulagem	3	0	0	0	0	0	1	1	2	1	0
Aspectos gerais de controle de qualidade	2	1	2	2	1	1	2	2	1	2	2
Nº. total de requisitos	123	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Nº. total de não conformidades	-----	18	45	24	32	46	72	53	32	66	25
Nº. total de conformidades	-----	105	78	99	91	77	51	70	91	57	98
Não aplicado	-----	0	1	1	0	0	1	1	0	1	0
Não observado	-----	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0

**Em negrito:** estabelecimentos com percentagem  $\geq$  a 25% de não conformidades.

Em um estudo exploratório da segurança dos alimentos e recursos humanos em 18 restaurantes comerciais dos municípios de Campinas, SP e Porto Alegre, RS, Cavalli; Salay (2004) verificaram que 56,0% não conhecem as normas de BPF, 11,0% estavam iniciando o processo de implantação e os 22,0% restantes conheciam as normas, mas não as utilizavam. Os autores concluíram que o motivo da não implantação das BPF era o desconhecimento dos sistemas de gestão de qualidade de alimentos e falta de equipe especializada. Constataram também, que os cursos e treinamentos para os operacionais foram oferecidos em 56,6% dos restaurantes.

Ayres et al. (2003) avaliaram as condições higiênico-sanitárias de 40 restaurantes comerciais de Porto Alegre - RS frente à legislação vigente por meio de uma lista de checagem preenchida após observação no local. Os autores detectaram diversas falhas, concluindo a precariedade das condições higiênico-sanitárias dos estabelecimentos.

Em restaurantes *self-service*, Damasceno et al. (2002) verificaram que as condições higiênico-sanitárias das áreas de manipulação de alimentos possuíam um padrão inferior aos dos salões de consumo de alimentos, denotando uma despreocupação dos proprietários desses estabelecimentos com a sanidade dos alimentos servidos.

Freitas et al. (2003) avaliaram as condições higiênico-sanitárias de preparo de alimentos em um restaurante comercial de Palmas - TO por meio de um *check - list* e concluíram que as instalações físicas, equipamentos, armazenamento e recursos humanos apresentaram-se impróprios para o preparo de alimentos.

Akutsu et al. (2005) classificaram 50 estabelecimentos comerciais produtores de alimentos (hotéis e restaurantes), da região de Brasília - DF, de acordo com as normas estabelecidas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA): edificação, equipamentos, manipuladores, fluxo de produção e disponibilidade do manual de boas práticas na produção de alimentos. Os restaurantes apresentaram de 30,0 a 69,0% de cumprimento percentual dos itens imprescindíveis, porcentagem superior à encontrada neste trabalho que variaram de 14,7 a 59,0% (Tabela 5).

Avaliando as BPF por meio de *check - list* aplicado em 6 restaurantes de Maringá, Genta; Maurício; Matioli, (2005) concluíram que nos estabelecimentos

pesquisados, os índices de *não conformidades* apresentados quanto aos aspectos de manipulação de produtos cárneos e hortifrutigranjeiros e, também, os critérios de higienização e procedimentos do manipulador, bem como critérios de segurança para armazenamento, preparo e distribuição de alimentos, foram considerados altos, não contribuindo para a segurança dos mesmos servidos ao consumidor.

Seixas et al. (2006) aplicou um *check - list* para diagnóstico inicial das BPF em quatro restaurantes em uma cidade do interior de São Paulo. Os autores concluíram que todos os estabelecimentos estavam com porcentagens de *não conformidades* superiores a 25,0% (30,0; 44,0; 62,0 e 65,0%) sendo, portanto, considerados reprovados. Os itens observados foram o controle de recebimento de matéria-prima (até a mesa do consumidor), higiene do manipulador, instalações, equipamentos e utensílios, assim como a avaliação da documentação e registros da empresa.

Oliveira; Figueiredo; Rebouças (2007) realizaram uma avaliação higiênico-sanitária em dez restaurantes no município de Vitória da Conquista, BA, com o auxílio de uma lista de verificação abrangendo higiene pessoal, ambiental e operacional, baseada na Portaria CVS 6/99. Todos os locais visitados não encontraram-se em boas condições higiênico-sanitárias, tanto no preparo como na distribuição das refeições.

Em relação ao preparo dos alimentos, a forma adequada de refrigeração e armazenamento dos mesmos, foram itens abordados nas orientações dos técnicos da Vigilância Sanitária neste trabalho. Ainda em relação ao preparo, orientou-se quanto à higiene dos vegetais, ressaltando as técnicas de cloração para os adicionados crus.

Estes resultados, relacionando as temperaturas de pratos frios e qualidade microbiológica das amostras, corroboram com os encontrados nos estudos desenvolvidos por Richert et al. (2000), envolvendo a sobrevivência e desenvolvimento da bactéria *E. coli* O157:H7 em vegetais, e sua capacidade de se multiplicar a 15°C.

Cabe ressaltar que a temperatura pode ser considerada como parâmetro de risco se estiver associada com o de exposição (GERMANO; GERMANO, 2003).

Uma vez que a temperatura de distribuição não elimina o problema da contaminação pré-existente nos alimentos, servindo única e exclusivamente para controlar a multiplicação da carga microbiana inicial, as altas contagens de coliformes e *S. aureus* encontradas, podem ser consideradas como parâmetro para avaliar a eficácia da temperatura de distribuição deste alimento como fator de proteção.

Com relação ao manual de Boas Práticas exigido pela Resolução RDC nº. 216 (BRASIL, 2004), 6 (60,0%) dos estabelecimentos não possuíam esta ferramenta e quando existia, na grande maioria das vezes, ficava em poder do proprietário ou gerente, impedindo o acesso pelos funcionários.

Sampaio et al. (2007) avaliaram as BPF em dez restaurantes da cidade de Rio Vermelho, BA, por meio de uma lista de verificação adaptada as exigências da RDC nº. 216. O estudo demonstrou que as BPF não foram implantadas nos estabelecimentos comerciais avaliados, e estes obtiveram no máximo 45,8% de atendimento aos critérios da legislação. Quanto à documentação 70,0% não possuíam manual de Boas Práticas.

Oliveira; Colares; Lopes (2007) após a aplicação do roteiro de inspeção sanitária em um restaurante público popular do município do Rio de Janeiro, verificaram que o item que obteve menor percentual de adequação (67,0%) foi o referente ao preparo de alimentos.

A falta de sabão líquido bactericida para a realização da correta higiene das mãos dos colaboradores foi verificada em 7 (70,0%) dos estabelecimentos (Tabela 5), e estes apresentaram contaminação do produto por coliformes fecais e *S. aureus*.

Segundo Karan; Miglioranza; Oliveira (1998) uma técnica de lavagem de mãos utilizadas nos hospitais, para controle de infecção hospitalar, pode ser adotada por restaurantes coletivos a fim de reduzir a quantidade de microrganismos presentes nas mãos dos manipuladores/colaboradores. A técnica propõe que a lavagem das mãos deve ser realizada ao iniciar e terminar o turno de trabalho, antes e após as refeições, após assoar o nariz, após fumar e toda vez que retornar ao posto de trabalho. A lavagem das mãos deve ser realizada com água e sabão e pode ser completada com a fricção durante 30 segundos com álcool a 70%. Quando não houver sujidades, a lavagem de mãos pode ser substituída pela simples fricção com álcool a 70%.

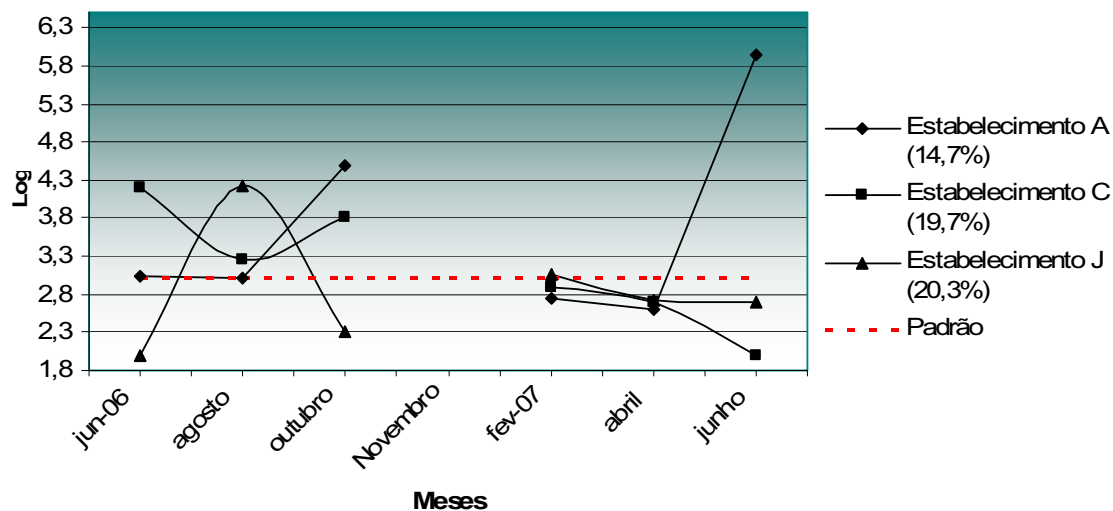
### 5.3. Associação entre contaminação da salada adicionada de maionese e as BPF por período analisado

Os estabelecimentos com maiores porcentagens de não conformidades foram os que apresentaram elevadas inadequações das saladas de maionese (Figuras 4 e 5), com exceção do A que obteve 14,7% de não conformidades, e aumento do nível de contaminação por *S. aureus* e coliformes termotolerantes a partir de abril (Figuras 2 e 3). O aumento da contaminação no estabelecimento A pode ser justificado pela substituição da funcionária responsável pelo preparo da salada de maionese, por uma colaboradora que não passou pelo processo de treinamento. Este fato só evidencia a importância de treinamentos periódicos de higiene dos alimentos para manipuladores.

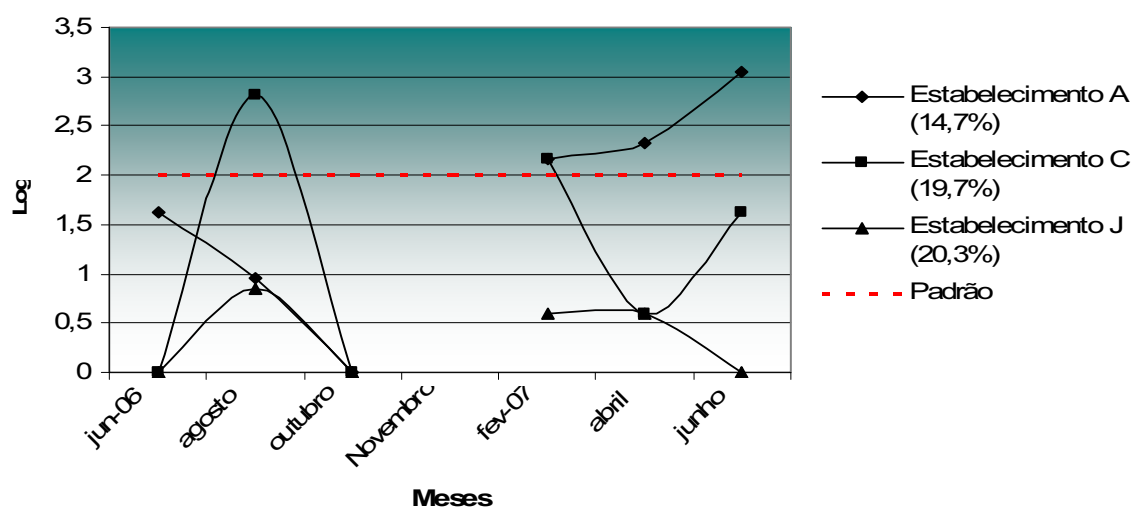
Os dados demonstram uma significativa diminuição de contaminação por *S. aureus* nos estabelecimentos B, C, E, F, H (Figuras 2 e 4), porém um aumento de coliformes fecais no B e F (Figura 5).

Dos 10 estabelecimentos, 4 (40,0%) melhoraram a qualidade da salada adicionada de maionese conforme Figuras 2, 3, 4 e 5. Um (10,0%) cessou a produção deste alimento. Este fato evidencia que visitas técnicas periódicas são necessárias para monitorar a execução da implantação das BPF e que há necessidade de maior comprometimento dos comerciantes que receberam as mesmas orientações, porém não melhoraram a qualidade de seu produto.

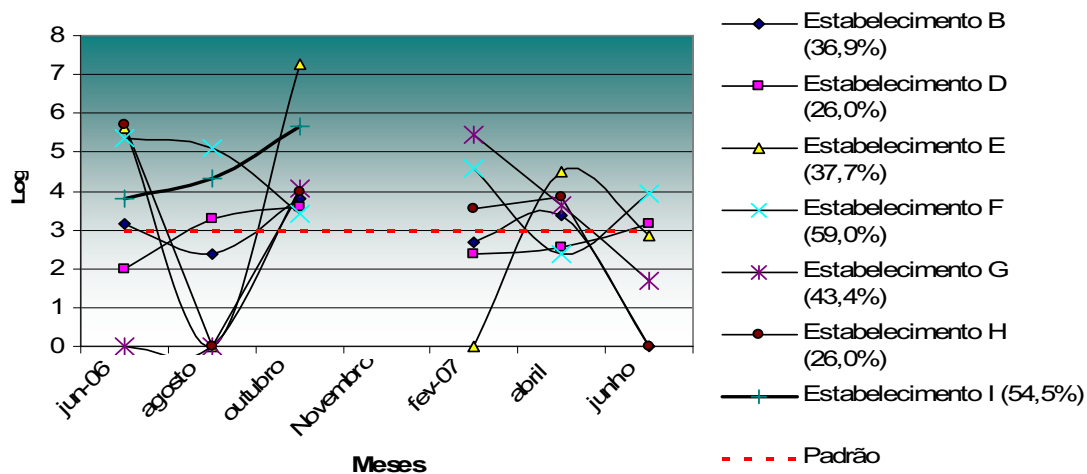
O estabelecimento I cessou a produção de salada com maionese após a vistoria e orientações dos técnicos da Vigilância Sanitária, continuando a fabricar somente produtos de confeitaria. Este fato pode ser considerado positivo para a prevenção de DTA, tendo em vista que este estabelecimento apresentou elevado índice de contaminação da salada de maionese e alta porcentagem de não conformidades (Figuras 4 e 5).



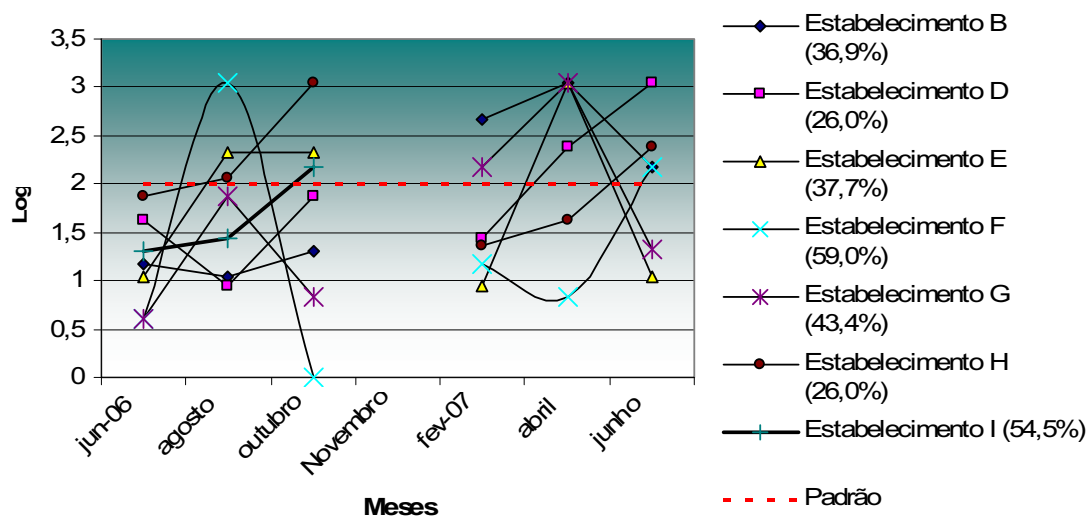
**Figura 2.** Níveis de contaminação por *S. aureus* por período analisado em estabelecimentos com porcentagens < 25 de não conformidades.



**Figura 3.** Níveis de contaminação por coliformes termotolerantes por período analisado em estabelecimentos com porcentagens < 25 de não conformidades.



**Figura 4.** Níveis de contaminação por *S. aureus* por período analisado em estabelecimentos com percentagens > 25 de *não conformidades*.



**Figura 5.** Níveis de contaminação por coliformes termotolerantes por período analisado em estabelecimentos com percentagens > 25 de *não conformidades*.

Oliveira et al. (2007) realizaram um diagnóstico inicial e final das condições higiênico-sanitárias de três restaurantes localizados na cidade do Rio de Janeiro. Os resultados do diagnóstico inicial demonstraram que dois estabelecimentos tinham menos de 50,0% de adequações e um de 51,0 a 75,0% de adequação. Os autores constataram a melhoria das condições higiênico-sanitárias nos restaurantes estudados após a implantação das BPF e concluíram que a atuação da Vigilância Sanitária é extremamente necessária, cabendo a conscientização de proprietários e gerentes sobre a adoção de

procedimentos higiênico-sanitários adequados, bem como a capacitação dos operadores, a fim de garantir a qualidade do alimento servido.

Em um estudo das condições sanitárias dos estabelecimentos comerciais de manipulação de alimentos do município de Maringá, PR, Veiga et al. (2006) analisaram 97 documentos (termo de intimação e auto de infração), emitidos pelos agentes fiscais da Vigilância Sanitária do município, por ocasião das ações de fiscalização e inspeção e concluíram que os estabelecimentos se encontravam em situações precárias de limpeza, organização e até mesmo com pouco conhecimento a respeito da boa manipulação dos alimentos.

Rêgo; Pires; Medina (1999) avaliaram a influência do treinamento, na melhoria da qualidade higiênica, oferecido a manipuladores e nutricionistas em serviços de alimentação, concluindo que 39,0% dos pesquisados apresentavam condições higiênico-sanitárias não adequadas (precárias ou insatisfatórias) antes da realização do treinamento e que, após este, o índice baixou para 8,5%, demonstrando a eficiência do treinamento para a qualidade da segurança alimentar.

Panza et al. (2006) avaliaram as condições higiênico-sanitárias durante a manipulação dos alimentos por meio de *check - list* baseado na CVS 6/99-SP, em um restaurante universitário, antes e depois do treinamento dos manipuladores. Estes autores verificaram 23,0% de itens em conformidade antes do treinamento e 31,0% após.

Dados semelhantes a este trabalho foram verificados por Dallari (2000), na Vigilância Sanitária de Alimentos, no município de São Paulo - SP, revelando: a) a falta de critérios técnicos para a organização dos serviços, assim como, de planejamento e metodologia para as ações de vistoria; b) não há monitoramento dos locais de maior risco à saúde pública, visto que, não há técnicos em número suficiente, além de se trabalhar as vistorias baseadas em denúncias da população; c) o fato de não haver cadastro informatizado dos estabelecimentos, dificulta um acompanhamento por parte dos técnicos; d) os dados obtidos por meio dos laudos de inspeção sanitária não são utilizados para o planejamento e avaliação do serviço, desprezando-se a fundamentação epidemiológica das ações, instaurando-se a cultura da informação burocrática.



Vergara; Revuelta; Majem (2000) realizaram um estudo com 500 manipuladores de alimentos em Valência. Segundo os autores, na Espanha, as medidas de prevenção de DTA se realizam por meio de treinamento dos manipuladores de alimentos e inspeção sanitária dos estabelecimentos que produzem alimentos. Um dos objetivos do estudo foi descrever a percepção que os manipuladores tinham sobre os inspetores de saúde pública. O resultado revelou que 52,5% dos manipuladores haviam recebido alguma vez a visita dos inspetores. Entretanto, desse percentual, mais da metade relatou a execução do papel fiscalizador destes. Apenas 1/3 relataram que os inspetores se apresentavam abertos ao diálogo.

Valente (2001) comenta em seu trabalho, a respeito da ausência de programas e projetos dirigidos à atividade da Vigilância Sanitária, que apresentem objetivos claros, concebidos em consonância com as políticas de saúde, em resposta as necessidades da população. Destaca também as dificuldades técnicas dos municípios em aplicar os instrumentos legais em função da falta de recursos financeiros para contratação e treinamento de pessoal, manutenção do quadro de funcionários capacitados que muitas vezes são deslocados de suas funções, aquisição de materiais apropriados para as inspeções, desde veículos até termômetros, medidores de pH, máquinas fotográficas, computadores e adequação da área física do setor de Vigilância Sanitária.

Em uma pesquisa realizada por Pereira et al. (2007) em quatro unidades de alimentação e nutrição da cidade de Franca, SP, notou-se que os problemas mais freqüentes em todos os estabelecimentos eram: a dificuldade financeira em adequar a estrutura, instalações, móveis e utensílios, a falta de registro de todas as atividades executadas para comprovação, o treinamento para manipuladores quanto ao uso de adornos, estarem com os exames de saúde dos funcionários no local para comprovação e a falta do termômetro para que procedimentos de medida de temperatura fossem realizados com segurança.

As ações de Educação Sanitária, ainda são inexpressivas embora de relevante importância na multiplicação do conhecimento, principalmente aquelas pessoas diretamente ligadas a manipulação dos alimentos (VALENTE, 2001).

#### 5.4. Isolamento das culturas de leveduras

As leveduras estão amplamente distribuídas na natureza e possuem diversa capacidade metabólica podendo utilizar uma variedade de nutrientes em diferentes condições para seu desenvolvimento. Muitas espécies incluindo oportunistas e/ou patogênicas são frequentemente associadas com diferentes tipos de alimentos e a causa da deterioração desses produtos (DEÁK, 1991).

Em saladas com molhos, estes microrganismos são oriundos dos vegetais, que encontram pH ótimo para seu desenvolvimento, sendo a maior causa de deterioração desse produto. A frequência e distribuição das espécies de leveduras provêm a base para estratégias de prevenção contra a deterioração de alimentos (TORNAI-LEHOCZKI; PÉTER; DLAUCHY, 2003).

Um total de 25 (100,0%) leveduras foi isolado das 9 amostras de salada adicionada de maionese coletadas em junho de 2007. O maior número de leveduras foi isolado da amostra obtida no estabelecimento D (20,0%) e G (16,0%), estes apresentaram não conformidades elevadas no requisito edificações (Quadro 3). Segundo os aspectos visuais observados, o ambiente de produção encontrou-se deficiente de iluminação e com alta umidade, com paredes emboloradas e com rachaduras.

A distribuição das leveduras segundo a origem está apresentada na Tabela 6.

**Tabela 6.** Distribuição das leveduras segundo a origem.

Saladas de maionese (estabelecimento)	Códigos das culturas	Números de culturas	Porcentagens (n=25)
A	SM <sub>1,1</sub> ; SM <sub>1,2</sub> ; SM <sub>1,3</sub>	03	12,0%
B	SM <sub>2,1</sub> ; SM <sub>2,2</sub> ; SM <sub>2,3</sub>	03	12,0%
C	SM <sub>3,1</sub>	01	4,0%
D	SM <sub>4,1</sub> ; SM <sub>4,2</sub> ; SM <sub>4,3</sub> ; SM <sub>4,4</sub> ; SM <sub>4,5</sub>	05	20,0%
E	SM <sub>5,1</sub> ; SM <sub>5,2</sub> ; SM <sub>5,3</sub>	03	12,0%
F	SM <sub>6,1</sub>	01	4,0%
G	SM <sub>7,1</sub> ; SM <sub>7,2</sub> ; SM <sub>7,3</sub> ; SM <sub>7,4</sub>	04	16,0%
H	SM <sub>8,1</sub> ; SM <sub>8,2</sub> ; SM <sub>8,3</sub>	03	12,0%
*I	-----	-----	-----
J	SM <sub>10,1</sub> ; SM <sub>10,2</sub>	02	8,0%

Legenda: SM<sub>n,n1</sub>, onde: SM = salada de maionese; n = número da amostra e n<sub>1</sub> = número da levedura.

\*I: estabelecimento que cessou a produção de salada de maionese.

Com relação às leveduras isoladas, a espécie *Debaryomyces hansenii* var. *fabryii* foi a mais freqüente, compreendendo 19 culturas (76,0%), seguida por *Cryptococcus laurentii* com 4 (16,0%), *Arxula adeninovorans* com 1 (4,0%) e *Candida edax* com 1 (4,0%). As espécies e origens das leveduras estão apresentadas na Tabela 7.

A espécie *Debaryomyces hansenii* var. *fabryii* é normalmente encontrada em alimentos ácidos entre eles queijos e molhos. Tem capacidade de oxidar o ácido acético alterando o sabor do alimento (KURTZMAN; FELL, 1998), por este motivo considerada uma levedura deteriorante.

As saladas adicionadas de maionese sofrem normalmente deterioração por leveduras resistentes à temperatura como a *Debaryomyces hansenii* (SMITILE; FLOWERS, 1982).

**Tabela 7.** Distribuição das espécies de leveduras segundo as origens.

<b>Espécies de leveduras</b>	<b>Códigos das culturas</b>	<b>Números de culturas</b>	<b>Porcentagens (n=25)</b>
<i>Debaryomyces hansenii</i> var. <i>fabryii</i>	SM <sub>1,1</sub> ; SM <sub>1,3</sub> ; SM <sub>2,1</sub> ; SM <sub>3,1</sub> ; SM <sub>4,2</sub> ;	19	76,0%
	SM <sub>4,3</sub> ; SM <sub>4,4</sub> ; SM <sub>5,1</sub> ; SM <sub>5,2</sub> ; SM <sub>6,1</sub> ;		
	SM <sub>7,1</sub> ; SM <sub>7,2</sub> ; SM <sub>7,3</sub> ; SM <sub>7,4</sub> ; SM <sub>8,1</sub> ;		
<i>Cryptococcus laurentii</i>	SM <sub>8,2</sub> ; SM <sub>8,3</sub> ; SM <sub>10,1</sub> ; SM <sub>10,2</sub>	04	16,0%
	SM <sub>1,2</sub> ; SM <sub>2,3</sub> ; SM <sub>4,1</sub> ; SM <sub>4,5</sub>		
<i>Arxula adeninovorans</i>	SM <sub>2,2</sub>	01	4,0%
<i>Candida edax</i>	SM <sub>5,3</sub>	01	4,0%

Legenda: SM<sub>n,n<sub>1</sub></sub>, onde: SM = salada de maionese; n = número da amostra e n<sub>1</sub> = número da levedura.

Estudos relatam o isolamento de *Cryptococcus laurentii* em vinhos, água marinha, milho, camarão, solo e ar. É uma espécie não fermentativa, que possui capacidade de desenvolvimento em elevadas concentrações de ácido e sal (KURTZMAN; FELL, 1998).

A espécie *Arxula adeninovorans* é comumente isolada de solos e de insetos como a *Drosophila*, tem capacidade de fermentar glicose, galactose, sucrose, maltose, lactose, rafinose e trealose (KURTZMAN; FELL, 1998).

*Candida edax* é uma levedura isolada de solos, no Brasil o isotipo *Stephanoascus smithiae* é comumente encontrado. Trata-se de um microrganismo não fermentador e não patogênico (KURTZMAN; FELL, 1998). Em estudo realizado por Ettalibi; Baratti (1988) foi isolada uma variedade de *Candida edax* com capacidade amilolítica, a CBM 20, a partir do solo. A cepa pode desenvolver a 37°C em pH 4.5 em meio mineral com amido solúvel.

Após serem submetidas aos testes taxonômicos as leveduras foram divididas em 7 grupos de acordo com a discordância em alguns dos resultados em relação à descrição padrão.

Do total de leveduras isoladas verificou-se que 19 representadas por *Debaryomyces hansenii* var. *fabryii* estavam contidas nos grupos I, II, III; 03 de *Cryptococcus laurentii* nos IV e V; 01 de *Arxula adeninovorans* no VI e 01 de *Candida edax* no VII, como exibido na Tabela 8.

**Tabela 8.** Distribuição dos grupos segundo espécie e origem.

Grupos	Leveduras	Códigos das culturas	Nºs. de culturas	% (n=25)
I	<i>Debaryomyces hansenii</i> var. <i>fabryii</i>	SM <sub>1,1</sub> ; SM <sub>1,3</sub> ; SM <sub>2,1</sub> ; SM <sub>3,1</sub> ;	15	60,0
		SM <sub>4,2</sub> ; SM <sub>4,3</sub> ; SM <sub>4,4</sub> ; SM <sub>6,1</sub> ;		
		SM <sub>7,1</sub> ; SM <sub>7,2</sub> ; SM <sub>7,4</sub> ; SM <sub>8,1</sub> ;		
		SM <sub>8,2</sub> ; SM <sub>8,3</sub> ; SM <sub>10,2</sub>		
II	<i>Debaryomyces hansenii</i> var. <i>fabryii</i>	SM <sub>5,1</sub> ; SM <sub>5,2</sub> ; SM <sub>10,1</sub>	03	12,0
III	<i>Debaryomyces hansenii</i> var. <i>fabryii</i>	SM <sub>7,3</sub>	01	4,0
IV	<i>Cryptococcus laurentii</i>	SM <sub>1,2</sub> ; SM <sub>2,3</sub> ; SM <sub>4,1</sub>	03	12,0
V	<i>Cryptococcus laurentii</i>	SM <sub>4,5</sub>	01	4,0
VI	<i>Arxula adeninovorans</i>	SM <sub>2,2</sub>	01	4,0
VII	<i>Candida edax</i>	SM <sub>5,3</sub>	01	4,0

Legenda: SM<sub>n,n1</sub>, onde: SM = salada de maionese; n = número da amostra e n<sub>1</sub> = número da levedura.

Pode-se constatar que tais leveduras apresentaram variações em seus resultados, em relação à descrição padrão, conforme demonstra a Tabela 9.

As leveduras *Debaryomyces hansenii* var. *fabryii* do grupo I diferiram da descrição padrão, por assimilarem M-inositol e se desenvolverem a 40°C. O grupo II por não assimilar galactose, citrato e etanol, utilizar M-inositol e se desenvolver a 40°C. O grupo III por não assimilar galactose e citrato, utilizar M-inositol e se desenvolver a 40°C.

O grupo IV representado por *Cryptococcus laurentii* diferiu da descrição padrão por utilizar amido solúvel, desenvolver a 40°C e não ser ascospórigeno. O grupo V por utilizar amido solúvel e não ser ascospórigeno.

O grupo VI *Arxula adeninovorans*, diferiu da descrição padrão por assimilar inulina e galactitol e por ser ascospórigeno.

A levedura *Candida edax* representada pelo grupo VII diferiu da descrição padrão por assimilar inulina, desenvolver-se em glicose a 50,0% e por ser ascospórigeno.

**Tabela 9.** Resultados das provas morfológicas, fisiológicas e de assimilação apresentados pelas leveduras.

Prova/cultura	SM 1,1	SM 1,2	SM 1,3	SM 2,1	SM 2,2	SM 2,3	SM 3,1	SM 4,1	SM 4,2	SM 4,3	SM 4,4	SM 4,5
Colônias <i>pink</i>	-	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+
Esporos	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Fermentação da glicose	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
Fermentação da maltose	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
Fermentação da sacarose	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
Fermentação da lactose	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
Glicose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Galactose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
L-sorbose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Glicosamina	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D-ribose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D-xilose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
L-arabinose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D-arabinose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
L-ramnose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Sacarose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Maltose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Trealose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Celobiose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Salicina	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Melibiose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Lactose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Rafinose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Melezitose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Inulina	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Amido solúvel	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Glicerol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Eritritol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Ribitol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D-glucitol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D-manitol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Galactitol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
M-inositol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Citrato	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Etanol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Nitrato	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
35°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
40°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
42°C	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
Cicloheximida 100 ppm	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
Cicloheximida 1000 ppm	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Glicose 50%	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
NaCl 10%	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Legenda: SM<sub>n,n1</sub>, onde: SM = salada de maionese; n = número da amostra e n<sub>1</sub> = número da levedura.

**Tabela 9.** Resultados das provas morfológicas, fisiológicas e de assimilação apresentados pelas leveduras (continuação).

Prova/cultura	SM 5,1	SM 5,2	SM 5,3	SM 6,1	SM 7,1	SM 7,2	SM 7,3	SM 7,4	SM 8,1	SM 8,2	SM 8,3	SM 10,1	SM 10,2
Colônias <i>pink</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Esporos	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Fermentação da glicose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fermentação da maltose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fermentação da sacarose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fermentação da lactose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Glicose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Galactose	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+
L-sorbose	-	-	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+
Glicosamina	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+
D-ribose	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D-xilose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
L-arabinose	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D-arabinose	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
L-ramnose	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Sacarose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Maltose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Trealose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Celobiose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Salicina	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Melibiose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Lactose	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+
Rafinose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Melezitose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Inulina	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Amido solúvel	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Glicerol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Eritritol	-	-	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+
Ribitol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D-glucitol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D-manitol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Galactitol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
M-inositol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Citrato	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+
Etanol	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Nitrato	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
35°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
40°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
42°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-
Cicloheximida 100 ppm	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Cicloheximida 1000 ppm	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Glicose 50%	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
NaCl 10%	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Legenda: SM<sub>n,n1</sub>, onde: SM = salada de maionese; n = número da amostra e n<sub>1</sub> = número da levedura.

## 5.5. Ensaio de resistência ao conservante alimentício sorbato de potássio contido na legislação vigente para molho de maionese

As duplas ligações conjugadas do ácido sórbico são reativas e podem ter influência tanto na sua capacidade antimicrobiana quanto na qualidade e segurança de produtos alimentícios (SOFOS, 1989). Industrialmente, o ácido sórbico é mais utilizado na forma de sais devido à maior solubilidade em água (SOFOS; BUSTA, 1993).

A concentração mínima de ácido sórbico necessária para a inibição de microrganismos varia dependendo de fatores como o tipo de substrato, pH do meio e microrganismos de interesse. As faixas de mínima concentração para inibição varia de 10 a 10000 ppm (bactérias), 25 a 400 ppm (leveduras) e para fungos de 10 a 1000 ppm (LUCK, 1997).

Os resultados obtidos nos ensaios demonstraram que 8,0% das leveduras isoladas foram sensíveis ao conservante sorbato de potássio na concentração de 0,05, 8,0% na concentração de 0,1 e 40,0% na concentração de 0,2 % (Tabela 10).

A legislação brasileira vigente permite para molhos de maionese somente o conservante sorbato de potássio na concentração máxima de 0,1% (BRASIL, 2007), nesta apenas 8,0% das leveduras foram sensíveis. A concentração de 0,2%, que representa o dobro da máxima permitida, foi suficiente para inibir 40,0% das leveduras isoladas de salada de maionese.

Mortimore; Wallace (1994) mencionaram que uma concentração de 0,02% de ácido sórbico é suficiente para inibir o desenvolvimento de leveduras, dados que diferem do encontrado neste trabalho onde na concentração de 0,05% apenas 8,0% das leveduras isoladas foram sensíveis ao sorbato de potássio.

As espécies *Arxula adeninovorans* (SM<sub>2,2</sub>) e *Candida edax* (SM<sub>5,3</sub>) não foram sensíveis ao conservante sorbato de potássio. Em relação à *Cryptococcus laurentii* 50,0% demonstraram sensibilidade nas concentrações de 0,05, 0,1 e 0,2%. Somente 8 (42,1%) entre 19 (100,0%) da espécie *Debaryomyces hansenii* var. *fabryii* foram sensíveis ao conservante na concentração de 0,2%.



**Tabela 10.** Leveduras sensíveis ao sorbato de potássio nas diferentes concentrações empregadas.

<b>Concentrações (%)</b>	<b>Códigos das culturas</b>	<b>Números de culturas</b>	<b>Porcentagens (n=25)</b>
0,05	SM <sub>1,1</sub> ; SM <sub>1,2</sub> ; SM <sub>4,5</sub>	03	8,0%
0,1	SM <sub>1,1</sub> ; SM <sub>1,2</sub> ; SM <sub>4,5</sub>	03	8,0%
0,2	SM <sub>1,1</sub> ; SM <sub>1,2</sub> ; SM <sub>1,3</sub> ; SM <sub>3,1</sub> ; SM <sub>4,2</sub> ; SM <sub>4,5</sub> ; SM <sub>6,1</sub> ; SM <sub>7,1</sub> ; SM <sub>7,3</sub> ; SM <sub>8,3</sub>	10	40,0%

Legenda: SM<sub>n,n1</sub>, onde: SM = salada de maionese; n = número da amostra e n<sub>1</sub> = número da levedura.

## 6. CONCLUSÕES

De acordo com o *check - list* aplicado para verificação das BPF, 70,0% dos estabelecimentos apresentaram *não conformidades* superiores a 25,0%, sendo classificados como insatisfatórios para produção de alimentos. Por isso, existe um potencial risco de contaminação microbiológica das saladas adicionadas de maionese produzidas nesses estabelecimentos, com a possibilidade de aparecimento de surtos de DTA, colocando em risco a saúde dos usuários.

Os dados obtidos neste trabalho por meio das análises microbiológicas ressaltam que o controle microbiológico é um eficiente indicador para a necessidade de se empreender medidas corretivas em restaurantes.

Conforme os resultados encontrados, 71,9% registraram uma amostra fora do padrão microbiológico exigido pela legislação vigente em, pelo menos, um dos parâmetros exigidos, sendo por este motivo, classificadas como “produtos em condições sanitárias insatisfatórias” e, por conseguinte “produtos impróprios para o consumo humano”.

O maior número de contaminação da salada com maionese foi causado por *Staphylococcus aureus* com variações de  $< 100$  a  $1,8 \times 10^7$  UFC/g, desse modo, destaca-se a aplicação de técnicas inadequadas de higiene dos manipuladores como possíveis veiculadores desse microrganismo.

Os dados encontrados revelam uma alta taxa de contaminação do produto por coliformes termotolerantes ( $< 3$  a  $> 1100$  NMP/g). Este fato demonstra que a técnica e frequência correta de lavagem de mãos não está sendo empregada, ou ainda, que os vegetais adicionados crus a salada não foram higienizados adequadamente, fortalecendo a necessidade de que medidas corretivas devam ser tomadas imediatamente, entre elas, o treinamento dos manipuladores de alimentos quanto aos aspectos higiênico-sanitários, a padronização de uma metodologia eficiente no processamento de vegetais, bem como, um controle mais rigoroso por parte das autoridades sanitárias no sentido da educação para a prevenção de possíveis surtos que possam ocorrer proveniente deste alimento.

A alta contaminação por bolores e leveduras encontradas neste alimento ( $1,3 \times 10^2$  a  $1,5 \times 10^7$ ) mostra a necessidade de um padrão microbiológico para estes microrganismos, pois sua presença indica defeitos no processamento de alimentos.

Dos 10 estabelecimentos, 4 (40,0%) melhoraram a qualidade da salada adicionada de maionese e um (10,0%) cessou a produção deste alimento após a vistoria e orientações dos técnicos da Vigilância Sanitária.

O ponto principal para que haja melhorias na produção da salada adicionada de maionese é a conscientização do proprietário do estabelecimento, de seus colaboradores e até mesmo dos comensais que devem exigir a qualidade desse alimento. Os processos rotineiros durante a manipulação e preparo deve ser objeto constante de cuidados e atenção, assim como, a implantação de um conjunto de procedimentos higiênico-sanitários visando à qualidade de seus produtos e a saúde dos consumidores, consequentemente garantindo a credibilidade no mercado.

Com relação às leveduras isoladas, a espécie *Debaryomyces hansenii* var. *fabryii* foi a mais freqüente, compreendendo 19 culturas (76,0%), seguida por *Cryptococcus laurentii* com 4 (16,0%), *Arxula adeninovorans* com 1 (4,0%) e *Candida edax* com 1 (4,0%).

O conservante sorbato de potássio inibiu 8,0% das leveduras isoladas na concentração 0,05, 8,0% na concentração 0,1 e 40,0% na concentração 0,2. As espécies *Arxula adeninovorans* e *Candida edax* não foram sensíveis ao conservante sorbato de potássio. Em relação à *Cryptococcus laurentii* 50,0% demonstraram sensibilidade nas concentrações de 0,05, 0,1 e 0,2%. Somente 8 (42,1%) entre 19 (100,0%) da espécie *Debaryomyces hansenii* var. *fabryii* foram sensíveis ao conservante na concentração de 0,2%.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDUL-RAOUF, U. M.; BEUCHAT, L. R.; AMMAR, M. S. Survival and growth of *Escherichia coli* O157:H7 on salad vegetables. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 59, n. 7, p. 1999-2006, 1993.

AKUTSU, R. C. et al. Adequação das boas práticas de fabricação em serviços de alimentação. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 18, n. 3, p. 419-427, 2005.

ALMEIDA, I. A. Z. C. et al. *Salmonella*: surtos de origem alimentar ocorridos na região de São José do Rio Preto-SP, no período de janeiro de 2006 a abril de 2007. In: VII Encontro do Instituto Adolfo Lutz, 2007, São Paulo, SP. **Anais**, 2007.

ALMEIDA, R. C. C. et al. Avaliação e controle de qualidade microbiológica de mãos de manipuladores de alimentos. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 29, n. 4, p. 290-294, 1995.

ANDRADE, J. N.; SILVA, R. M.; BRABES, K. C. S. Avaliação das condições microbiológicas em unidade de alimentação e nutrição. **Ciência Agrotecnológica**, Lavras, v. 27, n. 3, p. 590-596, 2003.

ARANTES, M. A. A.; LIMA, E. G.; CASTRO, O. C. Prevalência de portadores de *Staphylococcus aureus* entre trabalhadores de uma fábrica de produtos alimentícios. **Revista Goiana de Medicina**, Goiânia, v. 28, n. 3/4, p. 151-158, 1982.

ARAÚJO E. et al. Surtos alimentares por *Samonella* Enteritidis associados ao consumo de alimentos à base de ovos em Sorocaba, SP. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 9, n. 40, p. 24-26, 1995.

ARRUDA, G. A. **Manual de boas práticas na produção e distribuição de alimentos**. São Paulo: Ponto Crítico, 1996.

AYRES, C. et al. Avaliação da condição higiênico-sanitária de restaurantes comerciais de Porto Alegre frente à legislação vigente. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 17, n. 104/105, p. 16-17, 2003.

BAIRD-PARKER, A. C. An improved diagnostic and selective medium for isolating coagulase positive staphylococci. **Journal of Applied Bacteriology**, Oxford, v. 25, n. 1, p. 12-19, 1962.

BARNET, J. A.; PAYNE, R. W.; YARROW, D. **Yeasts: characteristics and identification**. Cambridge, Cambridge University Press, 1983.

BARNET, J. A.; PAYNE, R. W.; YARROW, D. **Yeasts: characteristics and identification**. 2 ed., Cambridge, Cambridge University Press, 1990.

BENEVIDES, C. M. J.; LOVATTI, R. C. C. Segurança alimentar em estabelecimentos processadores de alimentos. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 18, n. 125, p. 24-27, 2004.

BEUCHAT, L. R. et al. Efficacy of spray application of chlorinate water killing pathogenic bacteria on raw apples, tomatoes and lettuce. **Journal of Food Protection**, Iowa, v. 61, n. 10, p. 1305-1311, 1998.

BOARI, C. A. et al. Ocorrência de cepas de estafilococos coagulase positiva formadoras de colônias atípicas em ágar Baird-Parker. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 17, n. 104/105, p. 141-142, 2003.

BOOTH, I. R.; KROLL, R. G. The preservation of foods by low pH. In: *Mechanismis of Action of Food Preservation Procedures* (ed. G. W. Gould). Elsevier, London, p. 119-160, 1989.

BRACKETT, R. E. Shelf stability and safety on fresh produce as influenced by sanitation and disinfection. **Journal of Food Protection**, Iowa, v. 55, n. 10, p. 808-814, 1992.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa n. 62, de 26 de agosto de 2003. Oficializa os métodos analíticos para análises microbiológicas para produtos de origem animal e água. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 18 de setembro de 2003, Seção 1, p. 4.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. **Métodos analíticos oficiais para o controle de produtos de origem animal e seus ingredientes. I. Métodos microbiológicos**. Brasília, 1981.

BRASIL. Portaria n. 1428, de 26 de novembro de 1993. Dispõe sobre o controle de qualidade na área de alimentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 2 de dez. de 1993. Seção 1, p. 18415-18419.

BRASIL. Portaria n. 326 de 30 de julho de 1997. Aprova o regulamento técnico sobre condições higiênico-sanitárias e de boas práticas de fabricação para estabelecimentos produtores/industrializadores de alimentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 01 de ago. de 1997, Seção 1, p. 16560-16563.

BRASIL. Portaria n. 368 de 04 de setembro de 1997. Aprova o regulamento técnico sobre as condições higiênico-sanitárias e de boas práticas de fabricação para estabelecimentos elaboradores/industrializadores de alimentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 08 de set. de 1997. Seção 1, p. 19697-19699.

BRASIL. Portaria n. 451, de 19 de setembro de 1997. Aprova o regulamento técnico, princípios gerais para o estabelecimento de critérios e padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 22 de set. de 1997. Seção 1, p. 21005-21011.

BRASIL. Resolução CISA/MA/MS n. 10, de 31 de julho de 1984. Dispõe sobre instruções para conservação nas fases de transporte, comercialização e

consumo dos alimentos perecíveis, industrializados ou beneficiados, acondicionados em embalagens. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 01 de ago. de 1984, Seção 1, p. 11175.

BRASIL. Resolução RDC n. 12 de 02 de janeiro de 2001. Aprova o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 10 de jan. de 2001, Seção 1, p. 45-53.

BRASIL. Resolução RDC n. 216, de 15 de setembro de 2004. Dispõe sobre regulamento técnico de boas práticas para serviços de alimentação. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 16 de set. de 2004, Seção 1, p. 25.

BRASIL. Resolução RDC n. 275, 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. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 06 de nov. de 2002, Seção 1, p. 4-21.

BRASIL. Resolução RDC n. 4, de 15 de janeiro de 2007. Dispõe sobre atribuição de aditivos e seus limites máximos para a categoria de alimentos 13: molhos e condimentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 17 de jan. de 2007. Disponível em: [http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/2007/rdc/2\\_rdc.pdf](http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/2007/rdc/2_rdc.pdf). Acesso em 06 ago. 2007.

BRICIO, S. M. L.; LEITE, S. G. F.; VIANA, C. M. Avaliação microbiológica de salpicão de frango e salada de maionese com ovos servidos em restaurantes self-service na cidade do Rio de Janeiro. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 19, n. 137, p. 90-94, 2005.

BROCKLEHURST, T. F.; LUND, B.M. Microbiological changes in mayonnaise-based salads during storage. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 1, n. 11, p. 5-12, 1984.

BRYAN, F. L. **Hazard analysis critical control point evaluations : A guide to identifying hazards and assessing risks associated with food preparation and storage**. Geneva: World Health Organization, 1992.

BRYAN, F. L. Análise de risco nas empresas de alimentos. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 3, n. 2, p. 92-100, 1984.

BRYAN, F. L. Application of HACCP to ready-to-eat chilled foods. **Journal of Food Technology**, Campinas, v. 44, n. 7, p. 70-77, 1990.

BRYAN, F. L. Risk of practices, procedures and processes that lead to outbreaks of foodborne diseases. **Journal of Food Protection**, Iowa, v. 60, n. 5, p. 663-673, 1998.

CARMO, L. S. et al. An outbreak of staphylococcal food poisoning in the municipality of Passos, MG, Brazil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 46, n. 4, p. 581-586, 2003.

CASTRO, M. M. V.; IARIA, S. T. *Staphylococcus aureus* enterotoxigênico no vestíbulo nasal de manipuladores de alimentos em cozinhas de hospitais do município de João Pessoa - PB. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v.18, n. 3, p. 235-245, 1984.

CAVALLI, S. B.; SALAY, E. Segurança do alimento e recursos humanos: estudo exploratório em restaurantes comerciais dos municípios de Campinas, SP e Porto Alegre, RS. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 18, n. 126/127, p. 29-34, 2004.



CENTRO DE VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA. **Divisão de Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar-CVE/SES/SP**. Manual disponível em <http://www.cve.saude.sp.gov.br>, em Doenças Transmitidas por Alimentos, 2002.

CLIVER, D. O. **Foodborne diseases**. San Diego: Academic Press, 1990.

COLLINS, M. A. Effect of pH and acidulant type on the survival of some food poisoning bacteria in mayonnaise. **Microbiologie Aliments Nutrition**, Nancy, v. 3, p. 215-221, 1985.

CORLETT, D. A. Refrigerated foods and use of hazard analysis and critical control point principles. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v. 43, n. 2, p. 91-4, 1989.

CORREIA, M. H. S. et al. Avaliação microbiológica de salada de vegetais com maionese, servidas em restaurantes comerciais self-service por quilo, na região central de Goiânia, GO. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 16, n. 102/103, p. 63-70, 2002.

CUNHA NETO, A.; SILVA, C. G. M.; STAMFORD, T. L. M. *Staphylococcus* enterotoxigênicos em alimentos in natura processados no Estado de Pernambuco, Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 22, n. 3, p. 263-271, 2002.

DALLARI, S. G. Vigilância Sanitária de alimentos de consumo imediato no município de São Paulo: a importância da informação para o planejamento. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v.14, n. 76, p. 24-35, 2000.

DAMASCENO, K. S. F. S. C. et al. Condições higiênico-sanitárias de "self-services" do entorno da UFPE e das saladas cruas por elas servidas. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 16, n. 102/103, p. 74-78, 2002.

DAMASCENO, K. S. F. S. C.; STAMFORD, T. L. M.; ALVES, M. A. Vegetais minimamente processados: uma revisão. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 15, n. 85, p. 20-25, 2001.

DEÁK, T. Foodborne yeasts. **Advances in applied microbiology**, San Diego, v. 36, n. 1, p. 179-278, 1991.

DENNIS, C. Microbiology of fruits and vegetables. In: Norris, J.R., Pettipher, G.L. (Eds.), **Essays in Agricultural and Food Microbiology**. Wiley, New York, p. 227-260, 1987.

DEPREE, J. A.; SAVAGE, G. P. Physical and flavour stability of mayonnaise. **Trends in Food Science and Technology**, Cambridge, v. 12, n. 5, p.157-163, 2001.

DESCHAMPS, C. et al. Avaliação higiênico-sanitária de cozinhas industriais instaladas no município de Blumenau, SC. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 17, n. 112, p. 12-15, 2003.

DUTRA, C. R.; FIGUEIREDO, D. M. S. Vigilância epidemiológica de doenças transmitidas por alimentos - Rio Grande do Sul - 1980 a 2000. In: Simpósio brasileiro de Vigilância Sanitária, 2000, São Paulo, SP. **Anais**, 2002.

ETTALIBI, M.; J. C. BARATTI, J. C. Isolation and characterization of an amylolytic yeast: *Candida edax*. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, Oxford, v. 4, n. 2, p. 193-202, 1988.

FABIAN, F. W.; WETHERINGTON, M. C. Bacterial and chemical analysis of mayonnaise, salad dressing and related products. **Food Research**, Chicago, v. 15, n. 2, 138-145, 1950.

FENG, P. *Escherichia coli* serotype O157:H7: Novel vehicles of infections and emergence of phenotypic variants. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 1, n. 2, p. 1-9, 1995.

FERNANDEZ, A. T. et al. Ocorrência de surtos de doenças transmitidas por alimentos na cidade do Rio de Janeiro. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 17, n. 111, p. 58-63, 2003.

FERNANDEZ-ESCArtÍN, E.; SALDAÑA-LOZANO, J.; RODRIGUEZ-GARCIA, O. Fate of *Salmonella* in salpicon, a Mexican cold shredded beef salad. **Journal of Food Protection**, Iowa, v. 56, n. 3, p. 197-200, 1993.

FLORES, L. M. et al. Avaliação da reação em cadeia da polimerase na análise de ovos, saladas de batatas e maioneses, envolvidos em surtos de toxinfecção alimentar. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 16, n. 100, p. 75-83, 2002.

FLOWERS, R. S.; ORDAL, J. Current methods to detect stressed Staphylococci. **Journal of Food Protection**, Iowa, v. 42, n. 4, p. 362-367, 1979.

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da segurança alimentar**. São Paulo: Artmed, 2002.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2003.

FREITAS, I. R. et al. Avaliação das condições higiênico-sanitárias de preparo de alimentos em restaurante comercial de Palmas - TO. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 17, n. 104/105, p. 77-78, 2003.

FURLANETTO, S. M. P.; LACERDA, A. A.; CERQUEIRA-CAMPOS, M. L. Pesquisa de alguns microrganismos em saladas com maionese adquiridas em restaurantes, lanchonetes e "rotisseries". **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 16, n. 6, p. 307-316, 1982.

GELLI, D. S. et al. Condições higiênico-sanitária de hortaliças comercializadas na cidade de São Paulo, SP, Brasil. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 39, n. 1, p. 37-43, 1979.

GENTA, T. M. 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, M. I. S. et al. Manipuladores de alimentos: capacitar ? É preciso regulamentar ? ... Será preciso ??? **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 14, n. 78/79, p. 18-22, 2000.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. **Higiene e vigilância sanitária de alimentos**, 2 ed. Livraria Varela: São Paulo, 2003.

GIRIOLI, M. A. **Uma estratégia para avaliação da qualidade higiênico-sanitária de alimentos comercializados em serviços de alimentação**. 1993. 124f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte - MG, 1993.

GOLÇALVES, P. M. R. Toxinfecção alimentar: uma revisão. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 12, n. 53, p. 38-44, 1998.

GOLLUCKE, A. P. B. et al. Avaliação das condições higiênico-sanitárias de restaurantes *self-service* de um município da baixada santista. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 17, n. 104/105, p. 84-85, 2003.

GÓMEZ-LUCIA, E. et al. Growth of *Staphylococcus aureus* and enterotoxin production in homemade mayonnaise prepared whit different pH valeus. **Journal of Food Protection**, Iowa, v. 50, n. 10, p. 872-875, 1987.

GOTTARDI, C. P. T.; SOUZA, C. A. S.; SCHMIDT, V. Surtos de toxinfecção alimentar no município de Porto Alegre/RS, no período de 1995 a 2002. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 20, n. 143, p. 50-55, 2006.

HARRISON, L. J.; CUNNINGHAM, F. E. Factors influencing the quality of mayonnaise. **Journal of Food Quality**, Watsport, v. 8, n. 1, p. 1-20, 1985.

HATAKKA, M. et al. Genotypes and enterotoxicity of *Staphylococcus aureus* isolated from hands and nasal cavities of flight-catering employees. **Journal of Food Protection**, Iowa, v. 63, n. 11, p. 1487-1491, 2000.

HATHCOX, A. K.; BEUCHAT, L. R.; DOYLE, M. P. Death of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in real mayonnaise and reduced-calorie mayonnaise dressing as influenced by initial population and storage temperature. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 61, n. 12 p. 4172-4177, 1995.

HOBBS, B. C.; ROBERT, D. **Toxinfecções e controle higiênico e sanitário de alimentos**. São Paulo: Varela, 1999.

HWANG, CHENG-AN.; MARMER, B. S. Growth of *Listeria monocytogenes* in egg salad and pasta salad formulated with mayonnaise of various pH and stored at refrigerated and abuse temperatures. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 24, n. 3, p. 211-218, 2007.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATION FOR FOODS (ICMSF). **Microorganisms in foods: their significance and methods of enumeration**. 2. ed., University of Toronto Press, v. 1, 1978.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATION FOR FOODS (ICMSF). **Microbial ecology of foods**. New York, Academic Press, v. 2, 1980.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATION FOR FOODS (ICMSF). **Ecología microbiana de los alimentos**. Productos alimentícios. Zaragoza: Acribia, v. 2, 1985.

JACOB, M. **Manipulación correcta de los alimentos**. Ginebra: OMS, 1990.

JAY, J. M. **Modern food microbiology**. 6. ed. Maryland: Aspen, 2000.

KAKU, M. et al. Surto alimentar por *Salmonella* Enteritidis no Noroeste do Estado de São Paulo, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 29, n. 2, p. 127-131, 1995.

KARAN, L. B.; MIGLIORANZA, L. H. S.; OLIVEIRA, T. C. R. M. Avaliação da técnica de lavagem de mãos e luvas empregada por funcionários que manipulam produtos derivados de leite. In: XVI Congresso brasileiro de ciência e tecnologia de alimentos Rio de Janeiro, RJ. **Anais**, 1998.

KREEGER VAN RIJ, N. J. W. **The yeasts: a taxonomy study**. Amsterdam, Elsevier Science Publication, 1984.

KURTZMAN, C. P.; FELL, J. W. **The yeasts: a taxonomy study**. 4. ed. [S.l.]: Elsevier, 1998.

KURTZMAN, C. P.; ROGERS, P. R.; HESSELTINE, C. W. Microbiological spoilage of mayonnaise and salad dressings. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 21, n. 5, p. 870-874, 1971.

LEDERBERG, J.; LEDERBERG, E. M. Replica plating and indirect selection of bacterial mutants. **Journal of Bacteriology**, Washington, v. 63, p. 399-406, 1952.

LEITÃO, M. F. F. et al. **Tratado de microbiologia**. São Paulo: Mamoli, 1988.

LOVATTI, R. C. C. Gestão da qualidade em alimentos: uma abordagem prática. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 18, n. 125, p. 90-93, 2004.

LUCCA, A.; TORRES, E. A. F. S. Condições de higiene de "cachorro-quente" comercializado em vias públicas. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 36, n. 3, p. 350-352, 2002.

LUCK, E. **Conservacion quimica de los alimentos**. Editorial Acribia, Zaragoza, 1977.

MAISTRO, L. C. Alface minimamente processada: uma revisão. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 14, n. 3, p. 219-224, 2001.

MARCHETTI, R.; CASADEI, M. A.; GUERZONI, M. E. Microbial population dynamics in ready-to-use vegetable salads. **Italian Journal of Food Science**, Pinerolo, v. 4, n. 2, p. 97-108, 1992.

MARTH, E. E. **Standard methods for the examination of dairy products**. 14 ed. Washington, APHA, 1978.

MATEO, J. Actividad de agua y pH de los distintos alimentos elaborados o semielaborados en los establecimientos de restauración social. **Alimentaria**, Madrid, v. 34, n. 281, p. 35-38, 1997.

MCKELLAR, R. C.; LU, X.; DELAQUIS, P. J. A probability model describing the interface between survival and death of *Escherichia coli* O157:H7 in a mayonnaise model system. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 19, n. 2/3, p. 235-247, 2002.

MOMESSO, A. P.; MATTÉ, M. H.; GERMANO, P. M. L. Avaliação das condições higiênico-sanitárias de restaurante tipo self-service, por quilo, do município de São Paulo, durante o período de distribuição de refeições. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 19, n. 136, p. 81-89, 2005.

MORITA, T. N.; WOODBURN, M. Enterotoxin C<sub>2</sub> production by *S.aureus* in entrée salads. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 48, n. 1, p. 243-245, 1983.

MORTIMORE, S; WALLACE, C. **HACCP: Enfoque Prático**. Ed. Espanha. Tradução de HACCP. A Practical Approach. Chapman & Hall, UK. 1994.

NASCIMENTO, G. A.; BARBOSA, J. S. BPF - Boas Práticas de Fabricação: uma revisão. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 21, n. 148, p. 24-30, 2007.

NASCIMENTO, M. S. et al. Avaliação comparativa de diferentes desinfetantes na sanitização de uva. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 6, n. 1, p. 63-68, 2003.

NASCIMENTO, V. P.; SILVA, A. B. Controle de qualidade de produtos de origem avícola: programas de monitorização de Salmonelas. In: Ciclo de conferência da A.V.E., Porto Alegre, RS. **Anais**, 1994.

NERVINO, C. V. **Relevância de *Staphylococcus aureus* e enterotoxina na contaminação microbiana e nas doenças de origem alimentar, no Estado do Paraná**. 1997. 117f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina - PR, 1997.

NUNES, I. F. S.; FERREIRA, G. P.; ALBUQUERQUE, W. F. Perfil microbiológico dos microrganismos causadores de DTA's em restaurantes self-service na cidade de Teresina-PI. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 16, n. 102/103, p. 59-62, 2002.

OLIVEIRA, A. G. M. et al. Avaliação das condições higiênico-sanitárias em restaurantes comerciais do tipo *self-service*. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 21, n. 150, p. 448, 2007.

OLIVEIRA, A. G. M.; COLARES, L. G. T.; LOPES, M. L. M. Verificação dos aspectos higiênico-sanitários de restaurante público popular do município do Rio de Janeiro. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 21, n. 150, p. 446-447, 2007.

OLIVEIRA, E. C. M.; VALLE do, R. H. P. Aspectos microbiológicos dos produtos hortícolas minimamente processados. **Higiene alimentar**, São Paulo, v. 14, n. 78/79, p. 50-54, 2000.

OLIVEIRA, L. L.; FIGUEIREDO, R. M.; REBOUÇAS, T. N. H. Avaliação higiênico-sanitária de restaurantes da feira livre do município de Vitória da Conquista - BA. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 21, n. 150, p. 386, 2007.



PACHECO, G. S. et al. Teste de diferença entre a maionese “light” e a maionese tradicional. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 17, n. 104/105, p. 141-142, 2003.

PANZA, S. G. A. et al. Avaliação das condições higiênico-sanitária durante a manipulação de alimentos, em um restaurante universitário, antes e depois do treinamento dos manipuladores. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 20, n. 138, p. 15-19, 2006.

PASSOS, M. H. C.; KUAYE, A. Y. Avaliação de surtos de enfermidades transmitidas por alimentos comprovados laboratorialmente no município de Campinas - SP- no período de 1987-1993. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 56, n. 1, p. 77-82, 1996.

PEREIRA, C. H. C. et al. Avaliação de unidades de alimentação e nutrição da cidade de Franca/SP em relação à RDC 216. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 21, n. 150, p. 456, 2007.

PERESI, J. T. M. et al. Surtos de doenças transmitidas por alimentos contaminados por *Staphylococcus aureus*, ocorridos no período de dezembro de 2001 a abril de 2003, na região de São José do Rio Preto - SP. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 63, n. 2, p. 232-237, 2004.

PERESI, J. T. M. **Perfil epidemiológico dos surtos de doenças bacterianas transmitidas por alimentos, elucidadas laboratorialmente, ocorridos na região de noroeste do Estado de São Paulo, no período de abril de 1990 a dezembro de 2003 e susceptibilidade das cepas de *Staphylococcus aureus* e *Salmonella* aos agentes antimicrobianos.** 2004. 130f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto - SP, 2004.

PERETTI, A. P. R.; SPEZIA, D. S.; ARAÚJO, W. M. C. Certificação de qualidade no segmento de *food service*. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 18, n. 121, p. 14-18, 2004.

PINTO, A. T.; BERGMAN, G. P. Investigação de enfermidades transmitidas por alimentos. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 14, n. 74, p. 21-25, 2000.

POPKIN, B. M.; BISGORV, E. Urbanization and nutrition in low-income countries. **Food and Nutrition Bulletin**, Tokyo, v. 10, n. 1, p. 3-23, 1988.

PROENÇA, R. P. C. Novas tecnologias para a produção de refeições: recomendações de introdução para a realidade brasileira. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 12, n. 1, p. 43-53, 1999.

RADFORD, S. A.; BOARD, R, G. Review: Fate of pathogens in home-made mayonnaise and related products. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 10, n. 4, p. 269-278, 1993.

RAGHUBEER, E. V. et al. Fate of *Escherichia coli* O157:H7 and other coliforms in commercial mayonnaise and refrigerated salad dressing. **Journal of Food Protection**, Iowa, v. 58, n. 1, p. 13-18, 1997.

RÊGO, J. C. et al. Proposta de um programa de boas práticas de manipulação e processamento de alimentos para unidades de alimentação e nutrição. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 15, n. 89, p. 22-27, 2001.

RÊGO, J. C.; PIRES, E. F.; MEDINA, G. P. O treinamento como instrumento de melhoria da qualidade higi nica, em Unidade de Alimentação e Nutrição hospitalar. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 13, n. 66/67, p. 81-86, 1999.

RIBEIRO, L. L.; CARVALHO, E. P.; PILON, L. Análise de perigos e pontos críticos de controle no preparo de pratos à base de creme de maionese caseira, em restaurante self-service. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 14, n. 68/69, p. 93-100, 2000.

RIBEIRO, M.; PIETRO, R. C. L. R. Avaliação microbiológica de vegetais folhosos in natura e os minimamente processados. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 20, n. 145, p. 66-69, 2006.

RIBEIRO-FURTINI, L. L.; ABREU, L. R. Utilização de APPCC na indústria de alimentos. **Ciência Agrotecnológica**, Lavras, v. 30, n. 2, p. 358-363, 2006.

RICHERT, K. J. et al. Survival and growth of *Escherichia coli* O157:H7 on broccolis, cucumber e green pepper. **Dairy, Food and Enviromental Sanitation**, Iowa, v. 20, n. 1, p. 24-28, 2000.

ROBACH, M. C. Use of preservatives to control microorganisms in food. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 34, n. 10, p. 81-84, 1980.

ROBBS, P. G. Controle microbiológico em cozinhas industriais: situação atual no Rio de Janeiro. In: IV Simpósio brasileiro de microbiologia de alimentos, Goiânia, GO. **Anais**, 1991.

ROSA, O. O.; CARVALHO, E. P. Implementação do sistema de análise e perigos e pontos críticos de controle (APPCC) para o controle de qualidade de produtos minimamente processados. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 18, n. 123, p. 30-36, 2004.

SALYERS, A. A.; WHITT, D. D. **Bacterial pathogenesis**: a molecular approach. Washington: ASM Press, 2001.

SAMPAIO, R. M. et al. Boas Práticas de Fabricação em restaurantes comerciais. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 21, n. 150, p. 366-367, 2007.

SANT'ANA, A. S.; CORREA, S. S. Efeito da adição de dicloran ao diluente, para enumeração de fungos em alimentos desidratados utilizando-se o sistema petrifilm<sup>TM</sup> para bolores e leveduras. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 21, n. 140, p. 122-126, 2006.

SÃO PAULO. Portaria CVS - n. 6 de 3 de março de 1999. Aprova o regulamento técnico que estabelece os parâmetros e critérios para o controle

higiênico-sanitário em estabelecimentos de alimentos. **Diário Oficial do Estado de São Paulo**, São Paulo, 12 de mar. de 1999, Seção 1, p. 24-27.

SATAKE, T. **Estudo das condições sanitárias das águas de irrigação de hortaliças do município de Ribeirão Preto - SP, por meio da determinação de NMP do grupo coliformes e de *Escherichia coli***. 1973. 66f. Tese (Doutorado em Ciências - Análises Clínicas e Toxicológicas) Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto - SP, 1973.

SCHILLING, M. **Qualidade em nutrição**: método de melhorias contínuas ao alcance de indivíduos e coletividades. São Paulo: Livraria Varela, 1995.

SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE - SVS. Vigilância epidemiológica das doenças transmitidas por alimentos no Brasil, 1999-2004. **Boletim Eletrônico Epidemiológico**, São Paulo, n. 6, p. 7, 2005.

SEIXAS, F. R. F. et al. *Check list* para diagnóstico inicial de serviços de alimentação visando atingir condições higiênico-sanitárias satisfatórias. In: XX Congresso brasileiro de ciência e tecnologia de alimentos, Curitiba, PR. **Anais**, 2006.

SERVIÇO NACIONAL DE APRENDIZAGEM COMERCIAL - SENAC. **Manual de elementos de apoio para o sistema APPCC**. Rio de Janeiro: SENAC/Departamento Nacional, 2001.

SHEREE LIN, C. C.; FUNG, D. Y. C.; COX, N. A. Conventional and rapid methods for yeasts identification. **Critical Reviews in Microbiology**, Cleveland, v. 14, n. 4, p. 273-289, 1987.

SILLIKER, J. H. Fats and oils. In: **Microbial ecology of foods**. v. 2. The International Commission on Microbiological Specification for Foods. p. 752-760. New York. Academic Press, 1980.

SILVA JR., E. A. Controle microbiológico em cozinhas industriais: situação atual e experiência em São Paulo. In: IV Simpósio brasileiro de microbiologia de alimentos, Goiânia, GO. **Anais**, 1991.

SILVA JR., E. A. **Manual de controle higiênico-sanitário em alimentos** 4. ed., São Paulo: Livraria Varela, 2001.

SILVA, A. B. P; COUTO, S. M.; TÓRTORA, J. C. O. O controle microbiológico dos manipuladores, como indicativo da necessidade de medidas corretivas higiênico-sanitárias, em restaurante comercial. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 20, n. 115, p. 36-39, 2006.

SILVA, C. H. P. M.; NETTO, H. T. Presença de coliformes em mãos e unhas de manipuladores de alimentos no município de Vitória-ES, **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 17, n. 104/105, p. 141-142, 2003.

SILVA, N. et al. Ocorrência de *Escherichia coli* O157:H7 em vegetais e resistência aos agentes de desinfecção de verduras. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 23, n. 2, p. 167-173, 2003.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. **Microbiologia de Alimentos**. Campinas: Varela. 1997.

SILVA, W. P.; GANGRA, E. A. *Staphylococcus* sp coagulase-positiva: patógenos de importância em alimentos. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 18, n. 122, p. 32-40, 2004.

SILVEIRA, I. A. et al. Monitoramento microbiológico das mãos de funcionários de uma cantina universitária na cidade de Lavras - MG, **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 17, n. 104/105, p. 141-142, 2003.

SIQUEIRA, I. M. C. et al. Avaliação microbiológica de saladas cruas e cozidas servidas em restaurantes industriais da grande Belo Horizonte. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 11, n. 49, p. 36-39, 1997.

SMITTLE, R. B. Microbiology of mayonnaise and salad dressing: a review. **Journal of Food Protection**, Iowa, v. 40, n. 6, p. 415-422, 1977.

SMITTLE, R. B.; FLOWERS, R. S. Acid tolerant microorganisms involved in the spoilage of salad dressings. **Journal of Food Protection**, Iowa, v. 45, n. 10, p. 977-983, 1982.

SOFOS, J. N.; BUSTA, F. F. Sorbic acid and sorbates. In: DAVIDSON, P. M. & BRANEN, A. L. (Eds.) **Antimicrobials in Foods**. New York: Marcel Dekker Inc. Cap. 3, p. 49-94, 1993.

SOTO, F. R. M. et al. Resultado da ação da vigilância sanitária de alimentos em um supermercado do Estado de São Paulo. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 20, n. 146, p. 21-25, 2006.

SOUSA, A. A. et al. Identificação de pontos críticos em uma unidade de alimentação e nutrição hospitalar: subsídios para implantação do sistema HACCP. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 15, n. 84, p. 25-42, 2001.

SOUZA, S. S.; PELICIONI, M. C. F.; PEREIRA, I. M. T. B. A vigilância sanitária de alimentos como instrumento de promoção à saúde. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 17, n. 113, p. 33-37, 2003.

SPENCER, J. F. T.; SPENCER, D. M. **Yeasts in Natural and Artificial Habitats**. Berlin: Springer-Verlag, 1997.

STOLTE, D.; TONDO, E. C. Análise de perigos e pontos críticos de controle em uma unidade de alimentação e nutrição. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 15, n. 85, p. 41-49, 2001.

TANCREDI, R. C. P.; MORAES, O. M. G.; MARIN, V. A. Vigilância sanitária do município do Rio de Janeiro: considerações sobre as ações fiscais na área de alimentos. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 19, n. 135, p. 21-27, 2005.

TELZAK, E. E. et al. Nosocomial outbreak of *Salmonella* Enteritidis infection due to the consumption of raw eggs. **The New England Journal of Medicine**, Waltham, v. 323, n. 6, p. 394-397, 1990.

THATCHER, F. S.; CLARK, D. S. **Análisis microbiológico de los alimentos**. Zaragoza: Acribia, 1973.

TOMPKIN, R. B. Indicator organisms in meat and poultry products. **Journal of Food Technology**, Oxford, v. 37, p. 107-110, 1983.

TORNAI-LEHOCZKI, J.; PETER, G.; DLAUCHY, D. CHROMagar Candida medium as a practical tool for the differentiation and presumptive identification of yeast species isolated from salads. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 86, n. 3, p. 189-200, 2003.

TRANter, H. S. Foodborne staphylococcal illness. **Lancet**, Minneapolis, v. 336, n. 8722, p. 1044-1046, 1990.

TRIGO, C. V. **Manual prático e sanidade nas Unidades de Alimentação e Nutrição**. Varela: São Paulo, 1999.

UBOLDI EIROA, M. N. Investigação de surtos de toxinfecção bacteriana causado por alimentos processados. **Coletânea do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 19, n. 2, p. 101-112, 1989.

VALEJO, F. A. M. et al. Vigilância sanitária: avaliação e controle da qualidade dos alimentos. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 17, n. 106, p. 16-21, 2003.

VALENTE, D. A Vigilância Sanitária e as políticas de saúde. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 15, n. 87, p. 15-18, 2001.

VARNAM, A. H.; EVANS, M. G. **Foodborne pathogens**. London: Wolfe, 1991.

VEIGA, C. F. et al. Estudo das condições sanitárias dos estabelecimentos comerciais de manipulação de alimentos do município de Maringá, PR. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 20, n. 138, p. 28-36, 2006.

VERGARA, P. V. G.; REVUELTA, C. C.; MAJEM, L. S. Evaluación de la eficacia de los cursos de formación sanitaria dirigidos a los manipuladores de alimentos del área sanitaria de Ganídias Valência. **Revista Española de Salud Pública**, Madrid, v. 74, n. 3, p. 229-307, 2000.

VIEIRA, J. L. et al. **Manual da alimentação escolar**. Prefeitura municipal de Juiz de Fora, Secretaria Municipal de Agropecuária e Abastecimento, Juiz de Fora, 1996.

WEINGOLD, S. E.; GUZEWICH, J.; FUDALA, J. K. Use of foodborne disease data for HACCP risk assessment. **Journal of Food Protection**, Iowa, v. 57, n. 9, p. 820-830, 1994.

WILSON, I.; HEANEY, J. C. N. Surveillance for *Escherichia coli* and other pathogens in retail premises. **Diary, Food and Environmental Sanitation**, Iowa, v. 19, n. 3, p. 170-179, 1999.

ZHAO, T.; DOYLE, M. P. Fate of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in commercial mayonnaise. **Journal of Food Protection**, Iowa, v. 57, n. 9, p. 780-783, 1994.

ZOLI, J. A.; NEGRETE, I. R. A.; OLIVEIRA, T. C. R. M. Avaliação da contaminação por *Staphylococcus aureus* e *Salmonella* spp., de maionese de batata comercializada em Londrina, PR. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 16, n. 95, p. 62-71, 2002.



## 8. ANEXOS

8.1. Check - list utilizado para verificação das BPF nos estabelecimentos produtores de salada adicionada de maionese

**Quadro 3. Check - list para diagnóstico inicial das BPF em estabelecimentos produtores de alimentos (SENAC, 2001).**

### 1- Aspectos gerais de recursos humanos - 16 itens.

Requisito	Conformidade
1.01 - Os manipuladores recebem treinamento de higiene e boas práticas, compatíveis com as tarefas que irão executar ?	
1.02 - A aplicação dos treinamentos é reforçada e/ou realizada periodicamente ou quando necessária, bem como suas revisões e atualizações ?	
1.03 - Os manipuladores apresentam higiene corporal adequada, cabelos e bigodes protegidos e totalmente cobertos, unhas curtas, limpas e sem esmalte, barbeados e proibição do uso de adornos (brincos, anéis, pulseiras, etc) ?	
1.04 - Os procedimentos de higienização das mãos encontram-se escritos e disponíveis em lugar visível ao funcionário ?	
1.05 - Os manipuladores executam a higienização correta das mãos nos momentos e de forma adequados ?	
1.06 - Os manipuladores evitam comportamentos, atitudes e gestos (fumar, tossir sobre os alimentos, cuspir, manipular dinheiro, ect) incorretos durante a manipulação ?	
1.07 - Os manipuladores são submetidos a exames médicos e laboratoriais, na periodicidade adequada ?	
1.08 - Os manipuladores com ferimentos, lesões nas mãos, nos braços, infecções respiratórias, oculares ou gastrointestinais ou afecções que contaminem os alimentos, são orientados a comunicar sua gerência e não manipular alimentos ?	
1.09 - Os manipuladores utilizam uniformes adequados para as atividades executadas, completos e de cores claras ?	
1.10 - Os uniformes encontram-se limpos e conservados e são trocados diariamente ?	
1.11 - Os manipuladores usam aventais adequados e específicos para a atividade em execução ?	
1.12 - Os manipuladores são treinados sobre o uso de EPI - Equipamento de Proteção Individual ?	
1.13 - As luvas de borracha são mantidas limpas e usadas só para serviços de limpeza ?	
1.14 - Todos os tipos de luvas são guardadas em local adequado ?	
1.15 - Visitantes das áreas de produção utilizam uniforme adequado para circular em nessas ?	
1.16 - O trânsito de manipuladores e visitantes não resulta em contaminação cruzada dos produtos ?	

continua

## 2 - Aspectos gerais de condições ambientais - 2 itens.

Requisito	Conformidade
2.01 - Os arredores da empresa estão livres de sucatas, fossas, lixo, terra, poeira, animais (inclusive insetos e roedores), inundações e outros contaminantes ?	
2.02 - Acesso à empresa é direto e independente ?	

## 3- Aspectos gerais de instalações, edificações e saneamento - 42 itens.

Requisito	Conformidade
3.01 - O <i>lay out</i> da empresa é adequado, evitando risco de contaminações, principalmente cruzada (contato do limpo com o sujo) ?	
3.02 - O <i>lay out</i> garante proteção contra a entrada de pragas ou outros animais (proteção nas aberturas da parte inferior das portas, telas, cortinas de ar, outros) ?	
3.03 - As paredes e divisórias têm superfície lisa e impermeável até altura adequada (mínimo 2 metros) e são de cores claras ?	
3.04 - As paredes e divisórias encontram-se em bom estado de conservação ?	
3.05 - Os pisos são de material liso, antiderrapante, impermeável, lavável e com caimento em direção aos ralos ?	
3.06 - Os pisos encontram-se em bom estado de conservação ?	
3.07 - Ralos e canaletas têm revestimento liso, caimento que facilita o escoamento e possuem proteção contra a entrada de insetos e roedores ?	
3.08 - Ralos e canaletas são mantidos limpos e em bom estado de conservação ?	
3.09 - Os tetos e forros possuem acabamento liso, impermeável e são de cor clara ?	
3.10 - Os tetos e forros são mantidos em bom estado de conservação (livres de trincas, rachaduras, goteiras, umidade, bolor, descascamentos e infiltrações) ?	
3.11 - As portas têm superfície lisa, não absorvente, de fácil limpeza e com fechamento automático, molas ou similar ?	
3.12 - As portas são mantidas em bom estado de conservação ?	
3.13 - As janelas são de fácil limpeza, ajustadas aos batentes, de material liso e não absorvente ?	
3.14 - As janelas são mantidas em bom estado de conservação ?	
3.15 - As janelas estão dispostas de forma a não permitir a incidência de raios solares diretamente sobre os alimentos ?	
3.16 - As janelas possuem telas milimétricas, em bom estado de conservação e facilmente removíveis para limpeza ?	
3.17 - A iluminação natural ou artificial é adequada para cada setor, sem provocar ofuscamentos, sombras, reflexos, etc ?	
3.18 - As luminárias são dotadas de sistema de proteção (contra queda e explosão) e em bom estado de conservação ?	
3.19 - As instalações elétricas encontram-se em bom estado de conservação, segurança e uso ?	
3.20 - A ventilação é suficiente e adequada para garantir o conforto térmico e a ausência de gases, fumaça, condensação e fungos ?	

continua

3.21 - O fluxo de ar é da área limpa para área suja ?	
3.22 - Existem pias para higienização de mãos em número suficiente, em bom estado de conservação e com todas as facilidades (sabão líquido e anti-séptico, papel toalha não reciclado ou outro sistema de secagem e lixeiras)?	
3.23 - Os sanitários atendem as exigências de instalações gerais (piso, paredes, janelas, etc) ?	
3.24 - Os sanitários são mantidos em bom estado de conservação e organização ?	
3.25 - Os sanitários não se comunicam diretamente com as áreas de produção ?	
3.26 - Os sanitários possuem vasos sanitários com tampas, mictórios e lavatórios em bom estado de conservação e em número suficiente, independente para cada sexo e de uso exclusivo para os manipuladores ?	
3.27 - Os sanitários são dotados de todas as facilidades para higienização das mãos e possuem lixeiras revestidas com sacos plásticos, com tampa, sem acionamento manual, para descarte de papel higiênico ?	
3.28 - Os vestiários são independentes, para cada sexo com chuveiros em número suficiente, com água fria e quente e armários em números suficiente e em bom estado de conservação ?	
3.29 - Os vestiários cumprem as exigências de instalações gerais (parede, piso, portas, etc) e encontram-se em bom estado de conservação e organização ?	
3.30 - As instalações sanitárias para o público são totalmente independentes da área de produção e são mantidos limpas ?	
3.31 - Os recipientes para lixo são de material adequado, de fácil limpeza, com tampa e são revestidos com sacos plásticos ?	
3.32 - Os recipientes para lixo são mantidos devidamente higienizados, após a remoção do lixo, são transportados e removidos de forma e com frequência adequadas, sem risco de contaminação ?	
3.33 - O lixo externo é mantido em área que não oferece risco de acesso a pragas e animais e isolado das áreas de produção e estoque e recolhido com frequência adequada ?	
3.34 - As caixas de gordura e de esgoto estão localizadas fora das áreas de produção ?	
3.35 - O sistema de esgoto é adequado, sem refluxo ou odores ?	
3.36 - A água utilizada na manipulação dos alimentos é potável e atende aos padrões da legislação vigente ?	
3.37 - Os reservatórios de água possuem tampas e encontram-se em bom estado de conservação e protegidos de contaminação ?	
3.38 - A limpeza dos reservatórios de água é realizada de forma e frequência adequadas, por pessoa ou empresa habilitada, com comprovação do serviço ?	
3.39 - Os procedimentos de rotinas de limpeza estão descritos e registrados ?	
3.40 - Os encanamentos encontram-se em estado satisfatório, com ausência de infiltrações e de interconexões, evitando cruzamento entre água potável e não potável?	
3.41 - Existe controle microbiológico periódico da água, com existência de registros desse controle ?	
3.42 - Existe controle de cloro residual periódico da água, com existência de registros desse controle ?	

continua

**4- Aspectos gerais de equipamentos - 5 itens.**

<b>Requisito</b>	<b>Conformidade</b>
4.01 - Os equipamentos apresentam superfícies lisas, impermeáveis, resistentes, não absorventes, sem riscos de contaminação química ou física, com desenho sanitário (favorecendo a higienização), em bom estado de funcionamento, em bom estado de conservação e dimensionados em número suficiente ?	
4.02 - Os utensílios apresentam superfícies lisas, resistentes, não-absorventes, sem riscos de contaminação química ou física, de material apropriado (favorecendo a higienização), em bom estado de estado de conservação e dimensionados em números suficientes ?	
4.03 - As bancadas apresentam superfícies lisas, impermeáveis, resistentes, não-absorventes, sem riscos de contaminação química ou física, com desenho sanitário (favorecendo a higienização), em bom estado de conservação e dimensionado em números suficiente ?	
4.04 - Existe programa de manutenção preventiva e calibração dos equipamentos (termômetros, balanças, etc).?	
4.05 - Existe registro das manutenções e calibrações ?	

**5 - Aspectos gerais de sanitização - 15 itens.**

<b>Requisito</b>	<b>Conformidade</b>
5.01 - Os procedimentos de higienização de utensílios e equipamentos encontram-se escritos, disponíveis, visíveis e corretos ?	
5.02 - Os procedimentos de higienização das instalações estão escritos, disponíveis, visíveis e corretos ?	
5.03 - Os funcionários são treinados para o cumprimento dos procedimentos de higienização ?	
5.04 - Existe supervisão e registro da execução dos procedimentos ?	
5.05 - As etapas de higienização de utensílios / equipamentos são cumpridas, garantindo as condições de limpeza ?	
5.06 - As etapas de higienização das instalações são cumpridas, garantindo as condições de limpeza ?	
5.07 - São usados somente produtos de limpeza aprovados por órgãos competentes e estão corretamente identificados ?	
5.08 - O uso de produtos de limpeza é feito de forma correta (diluição, troca periódica, etc) ?	
5.09 - O local e instalações para higienização de utensílios e equipamentos são apropriados para limpeza e sanitificação, isolados das áreas de produção, através de barreira física ?	
5.10 - Os panos de limpeza, vassouras, rodos, esponjas e escovas são de uso exclusivo para este fim, higienizados após o uso e guardados em local adequado ?	
5.11 - As mangueiras de limpeza são dotadas de fechamento adequado e guardadas enroladas e penduradas sem contato direto com o piso ?	
5.12 - Existe programa de controle de pragas (desinsetização e desratização) e é eficiente ?	

continua

5.13 - O controle de infestação por pragas, quando necessário, é efetuado por empresa especializada e credenciada ?	
5.14 - No controle de pragas são usados produtos químicos devidamente registrados no Ministério da Saúde ?	
5.15 - Existem registros do controle de pragas, listas de produtos usados, métodos de aplicação e frequência, além do prazo de garantia e realização de revisões, quando necessárias ?	

#### 6 - Aspectos gerais de produção - 38 itens.

Requisito	Conformidade
6.01 - O recebimento das matérias primas segue os critérios estabelecidos para seleção de fornecedores/matérias-primas baseados na segurança do produto ?	
6.02 - Existe área adequada para o recebimento e encontra-se em boa condição de higiene, com recursos adequados e em número suficiente ?	
6.03 - As embalagens externas e as caixas de fornecedores são substituídas por monoblocos limpos ou sacos plásticos apropriados ?	
6.04 - Existem planilhas de controle de recebimento ?	
6.05 - Os produtos não- conformes são devolvidos imediatamente ou separados e identificados para devolução posterior ?	
6.06 - A capacidade física do estoque é suficiente, encontra-se em condição higiênica adequada, com aberturas protegidas por telas milimétricas, com portas de acesso mantidas fechadas, iluminação adequada, temperatura ambiente amena (máxima de 26°C) e armazenamento protegido da luz solar direta ?	
6.07 - Os estrados e prateleiras são de material adequado, encontram-se em número suficiente, com empilhamento que favorece a circulação de ar e com as distâncias mínimas exigidas entre os alimentos e entre eles e o piso, a parede e o forro ?	
6.08 - Os produtos armazenados estão devidamente identificados, respeitando as regras do PEPS (primeiro que entra é o primeiro que sai) ou do PVPS (primeiro que vence é o primeiro que sai), controlando o prazo de validade com o uso do produto ?	
6.09 - Os produtos de limpeza são armazenados separados dos gêneros alimentícios e dos produtos descartáveis ?	
6.10 - Os produtos descartáveis são armazenados protegidos de contaminação ?	
6.11 - As temperaturas dos equipamentos são adequadas para a conservação de cada classe de alimento, monitoradas conforme programa, registradas e arquivadas ?	
6.12 - Os equipamentos de manutenção possuem termômetro ?	
6.13 - Os alimentos são armazenados de forma a evitar riscos de contaminação cruzada e respeitando as regras do PEPS ou do PVPS ?	
6.14 - Os produtos encontram-se devidamente armazenados, identificados e com controle do prazo de validade com o uso do produto ?	

continua

6.15 - Os produtos, após a abertura, são acondicionados e identificados adequadamente ?	
6.16 - Os temperos preparados são mantidos e identificados adequadamente ?	
6.17 - Os produtos pré-preparados são mantidos refrigerados até o preparo final ?	
6.18 - O setor ou área de pré-preparo de hortifrutigranjeiros encontra-se dimensionado de forma a impedir o cruzamento das atividades, sem risco de contaminação química e física (pregos, farpas, produtos de limpeza ), possui recursos construídos com material adequado e em número suficiente, e está adequadamente higienizado ?	
6.19 - Os equipamentos e peças do setor ou área de pré-preparo de hortifrutigranjeiros são guardados protegidos e em segurança ?	
6.20 - O procedimento de higienização de hortifrutigranjeiros servidos crus está correto, completo e é adequadamente cumprido (lavagem, preparo de solução clorada, tempo de imersão, enxágüe) ?	
6.21 - Existe controle do uso dos produtos para desinfecção, com monitoramento e registro do procedimento ?	
6.22 - A manipulação final dos hortifrutigranjeiros é feita em condições seguras ?	
6.23 - A área e os recursos para cocção/ reaquecimento são adequados para o cumprimento dos procedimentos ?	
6.24 - As temperaturas dos alimentos são controladas com termômetros próprios e registradas em planilhas adequadas ?	
6.25 - Existem procedimentos e cuidados que evitem contaminação física e química dos alimentos após cocção ?	
6.26 - Existe segurança suficiente para evitar contaminação cruzada pelo ambiente, equipamentos, utensílios e manipuladores ?	
6.27 - É proibido o uso de ovos mal passados ou crus ?	
6.28 - Existem recursos adequados para o resfriamento correto (imersão no gelo, freezer a -18, geladeira a 2 ou 3°C, ou equipamentos de resfriamento rápido) ?	
6.29 - Faz - se o resfriamento prévio dos ingredientes das saladas frias cozidas antes da mistura ou resfriam-se rapidamente as saladas já prontas ?	
6.30 - Os porcionamentos ou envases são realizados observando-se as recomendações de tempo, e evita-se a recontaminação ou a contaminação cruzada ?	
6.31 - A área de distribuição possui recursos adequados e em número suficiente para o cumprimento dos procedimentos adequados ?	
6.32 - Os alimentos frios, que oferecem maior risco, são distribuídos no máximo a 10°C ?	
6.33 - Os alimentos frios que estiverem entre 10 e 21°C cumprem o tempo máximo de distribuição de 2 horas, sendo desprezados após este tempo ?	
6.34 - Os balcões frios encontram-se com temperatura adequada (máxima de 10°C) ?	
6.35 - Os alimentos expostos estão protegidos de contaminação, seja pelo ambiente, superfícies ou pessoas ?	
6.36 - A reposição dos alimentos na distribuição é efetuada com critérios adequados de higiene e segurança ?	
6.37 - A programação de preparo é feita de forma a minimizar sobras ?	

continua

6.38 - As sobras de alimentos quentes e frios prontos, que não foram distribuídos, somente são aproveitadas se tiverem sido monitoradas durante a manutenção ?	
--	--

**7 - Aspectos gerais de embalagem e rotulagem - 3 itens.**

<b>Requisito</b>	<b>Conformidade</b>
7.01 - O tipo de material utilizado para a embalagem dos produtos prontos (quando aplicável) é adequado ?	
7.02 - As condições de armazenamento e os critérios de identificação adotados para os produtos prontos estão de acordo com as BP ?	
7.03 - É realizada inspeção nas embalagens e recipientes antes do uso ?	

**8 - Aspectos gerais de controle de qualidade - 2 itens.**

<b>Requisito</b>	<b>Conformidade</b>
8.01 - A empresa possui Manual de Boas Práticas ?	
8.02 - Existe algum tipo de controle (microbiológico, químico, físico ou sensorial) do produto final, com frequência pré-estabelecida ?	

## 8.2. Composição e suplementos dos meios de cultura utilizados para as diferentes análises microbiológicas

Os Quadros 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 e 12 apresentam as composições e suplementos dos meios de cultivo utilizados nas diferentes análises microbiológicas realizadas neste trabalho (SILVA; JUNQUEIRA; SILVEIRA, 1997).

**Quadro 4.** Composição e suplementos do ágar Baird - Parker (BP) utilizado para isolamento de *S. aureus*.

<b>Composição base</b>	<b>Quantidade (g/L)</b>
Triptona	10,0
Extrato de carne	5,0
Extrato de levedura	1,0
Piruvato de sódio	10,0
Glicina	12,0
Cloreto de lítio	5,0
Ágar	20,0

<b>Suplementos</b>	
Solução aquosa de telurito de potássio 1%	10,0 mL / 940 mL base
Emulsão gema de ovo:salina	50,0 mL / 940 mL base

**Quadro 5.** Composição do ágar batata dextrose acidificado (PDA) utilizado para isolamento de bolores e leveduras.

<b>Composição base</b>	<b>Quantidade (g/L)</b>
Infusão de batatas	200,0
Dextrose	20,0
Ágar	15,0

<b>Suplementos</b>	
Ácido tartárico 10%	1mL para 100 mL de meio



**Quadro 6.** Composição do ágar eosina azul de metileno (EMB) utilizado na detecção presuntiva de *E. coli*.

Composição base	Quantidade (g/L)
Peptona	10,0
Lactose	10,0
Fosfato dipotássico (K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> )	2,0
Eosina amarela	0,4
Azul de metileno	0,065
Ágar	15,0

**Quadro 7.** Composição do ágar padrão para contagem (PCA) utilizado para enriquecimento e manutenção de bactérias.

Composição base	Quantidade (g/L)
Triptona	5,0
Extrato de levedura	2,5
Dextrose	1,0
Ágar	15,0

**Quadro 8.** Composição do ágar *Salmonella Shigella* (SSA) utilizado para isolamento de *Salmonella* e *Shigella* em alimentos.

Composição base	Quantidade (g/L)
Extrato de carne	5,0
Proteose peptona	5,0
Lactose	10,0
Sais biliares nº. 3	8,5
Citrato de sódio	8,5
Tissulfato de sódio	8,5
Citrato férrico	1,0
Verde brilhante	0,33
Vermelho neutro	0,025
Ágar	13,5

**Quadro 9.** Composição do caldo *E. coli* (EC) utilizado para contagem de coliformes termotolerantes, confirmação de resultado presuntivo pelo método NMP.

<b>Composição base</b>	<b>Quantidade (g/L)</b>
Triptose	20,0
Lactose	5,0
Sais biliares	1,5
Fosfato dipotássico (K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> )	4,0
Fosfato monopotássico (KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> )	1,5
Cloreto de sódio	5,0

**Quadro 10.** Composição do caldo lactosado (LB) utilizado como meio de pré-enriquecimento para detecção de *Salmonella* spp.

<b>Composição base</b>	<b>Quantidade (g/L)</b>
Extrato de carne	3,0
Peptona	3,0
Lactose	5,0

**Quadro 11.** Composição do caldo lauril sulfato triptose (LTS) utilizado para detecção presuntiva de coliformes totais, coliformes fecais e *E. coli* pelo método de NMP.

<b>Composição base</b>	<b>Quantidade (g/L)</b>
Triptose	20,0
Lactose	5,0
Fosfato dipotássico (K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> )	2,75
Fosfato monopotássico (KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> )	2,75
Cloreto de sódio	5,0
Lauril sulfato de sódio	5,0

**Quadro 12.** Composição do caldo selenito cistina (SCB) utilizado para enriquecimento seletivo de *Salmonella* spp. em alimentos.

<b>Composição base</b>	<b>Quantidade (g/L)</b>
Triptona	5,0
Lactose	4,0
Fosfato dissódico ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ )	10,0
Selenito ácido de sódio	4,0
L-Cistina	0,01