



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de São José do Rio Preto

Daiane Bertholin Anselmo

**Análise microbiológica e parasitológica de alimentos servidos em
escolas do ensino infantil e fundamental de uma cidade da região de
São José do Rio Preto - SP**

São José do Rio Preto
2014

Daiane Bertholin Anselmo

**Análise microbiológica e parasitológica de alimentos servidos em
escolas do ensino infantil e fundamental de uma cidade da região de
São José do Rio Preto - SP**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Engenharia e Ciência de Alimentos junto ao programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos, Área de concentração – Ciência e Tecnologia de Alimentos, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de São José do Rio Preto.

Orientador: Prof. Dr. Fernando Leite Hoffmann

São José do Rio Preto/SP
2014

Anselmo, Daiane Bertholin.

Análise microbiológica e parasitológica de alimentos servidos em escolas do ensino infantil e fundamental de uma cidade da região de São José do Rio Preto - SP/ Daiane Bertholin Anselmo.-- São José do Rio Preto, 2014

112f. : il., gráfs., tabs.

Orientador: Fernando Leite Hoffmann

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas

1. Tecnologia de alimentos. 2. Alimentos - Microbiologia. 3. Segurança alimentar - São José do Rio Preto, Região de (SP) 4. Alimentos – Contaminação. 5. Merenda escolar. I. Hoffmann, Fernando Leite. II. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho". Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas. III. Título.

CDU – 664

Daiane Bertholin Anselmo

**Análise microbiológica e parasitológica de alimentos servidos em
escolas do ensino infantil e fundamental de uma cidade da região de
São José do Rio Preto – SP**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Engenharia e Ciência de Alimentos junto ao programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos, Área de concentração – Ciência e Tecnologia de Alimentos, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de São José do Rio Preto.

Banca Examinadora

Prof. Dr. Fernando Leite Hoffmann
UNESP – São José do Rio Preto/SP
Orientador

Prof. Dr. Raquel Guttierres Gomes
UEM – Maringá/PR

Prof. Dr. Vanildo Luiz Del Bianchi
UNESP – São José do Rio Preto/SP

São José do Rio Preto
21 de fevereiro de 2014

Dedico este trabalho primeiramente a Deus
Ao meu marido Emerson
Aos meus pais Valter e Leonise
A meu irmão Daniel
Que sempre estiveram ao meu lado me
apoiando principalmente nas horas mais
difíceis e souberam entender os meus
momentos de ausência, correria e estresse.
Família é tudo!

Agradecimentos

Agradeço especialmente ao Prof. Dr. Fernando Leite Hoffmann pela orientação, confiança, motivação, exemplo de vida e superação. Por seu tempo, atenção, paciência e conhecimento oferecidos a mim, ao senhor minha eterna gratidão.

Aos integrantes da banca examinadora da qualificação e defesa, pela disponibilidade, ensinamentos e sugestões que muito contribuíram para este trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPQ pelo apoio financeiro.

Ao Prof. Ms. Pedro que me ajudou e me deu grande incentivo de iniciar o mestrado, meus sinceros agradecimentos.

Aos amigos e compadres Nathália e Eduardo que me incentivaram a iniciar o mestrado.

Às escolas, diretores, responsáveis e manipuladores pela colaboração, confiança e paciência para realização deste trabalho.

À Tânia, que é uma ótima pessoa e de bom coração que ajuda a todos. Tânia, obrigada por tudo, por todos os ensinamentos, pela paciência, dedicação e amizade.

Aos meus colegas de laboratório Catharina, Marília e Juliano, obrigada por todo apoio e amizade. Catharina continue sendo essa pessoa boa, humilde e maravilhosa que você é obrigada por tudo.

À Catierine, uma pessoa muito boa, amiga, que sempre esteve ao meu lado desde o começo, me aceitando como estagiária e me ajudando, apoiando e dando forças até hoje em tudo que precisei. Obrigada pelo tempo, atenção, dedicação e amizade.

À Natália, minha vizinha de laboratório, amiga, parceira, muito obrigada por toda sua ajuda, paciência, por sempre me ouvir, conversar comigo e por sempre estar ao meu lado em tudo que precisei.

Aos meus estagiários, Luana, Renan e Renata, obrigada por toda ajuda nas análises.

Aos professores do curso de pós-graduação pelos ensinamentos transmitidos.

A minha avó Conceição que tenho certeza que onde ela estiver estará sempre torcendo por mim.

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

Meus sinceros agradecimentos!

A mente que se abre a uma nova ideia jamais voltará ao seu tamanho original.

Albert Einstein

RESUMO

A segurança alimentar é ameaçada principalmente quando os alimentos são preparados em grandes quantidades, como acontece nas instituições de ensino que servem refeições diariamente, colocando em risco a saúde das crianças. Várias doenças e mal estar da população são resultados de alimentos e água contaminados devido à presença de micro-organismos patogênicos ou produtores de toxinas, sendo indispensável avaliar a qualidade desses alimentos e o conhecimento das manipuladoras sobre a segurança alimentar. Considerando os itens mencionados, este estudo teve como objetivo avaliar os aspectos higiênico-sanitários de alimentos produzidos na cozinha piloto e distribuídos em todas as instituições de ensino de uma cidade da região de São José do Rio Preto – SP, por meio de análises microbiológicas e parasitológicas, visando avaliar o cardápio servido às crianças. Esta pesquisa avaliou 102 amostras de diferentes tipos de alimentos, 73 amostras de swab de mãos das manipuladoras e superfícies e 60 amostras de água dos bebedouros e torneiras da cozinha piloto, sendo que a água foi submetida às seguintes análises microbiológicas: contagem de bactérias heterotróficas, determinação do número mais provável de coliformes totais, termotolerantes, pesquisa de *Escherichia coli* e contagem de Bolores e Leveduras. Nos alimentos foram analisados: coliformes totais, termotolerantes, pesquisa de *E. coli*, e contagem de *Salmonella* spp., *Staphylococcus* coagulase positiva, *Bacillus cereus* e Clostrídios sulfito redutores. À partir dos swabs foram avaliados: coliformes totais, termotolerantes, pesquisa de *E. coli*, e de *Staphylococcus* coagulase positiva; e somente nas superfícies também foram pesquisados bactérias aeróbias mesófilas. Coliformes totais foram detectados na água da caixa da cozinha piloto, e *E. coli* no bebedouro da Escola A. Foram encontradas contagens >1.100 NMP de coliformes totais, <3 a 240 NMP de coliformes termotolerantes, *E. coli*, 2×10^2 UFC/g de *Bacillus cereus*, de <10 a 4×10^5 UFC/cm² de bactérias aeróbias mesófilas, de <100 a $1,8 \times 10^5$ UFC de *Staphylococcus* spp., sendo 6×10^3 UFC/g, $1,6 \times 10^4$ UFC/mãos e 5×10^1 UFC/cm² coagulase positiva. Nas cepas de *E. coli* e *S. aureus* presentes foi realizado o teste de sensibilidade a antimicrobianos onde estes foram resistentes a Ampicilina e Penicilina respectivamente. Para avaliação das condições de preparo da merenda realizou-se um “check list” na cozinha, onde foi

observada a necessidade de investimentos e treinamento dos manipuladores, pois todas as categorias apresentaram não conformidades acima de 50%. Para análise parasitológica da água, dos alimentos crus e swab de mãos foram pesquisados: *Entamoeba coli*, *Entamoeba hystolítica*, *Giardia lamblia*, *Ascaris lumbricoides* e *Taenia* sp. Determinou-se a presença dos parasitas *Entamoeba coli* na salada; *Ascaris lumbricoides* na salada e swab de mãos. O questionário aplicado às manipuladoras sobre conhecimentos, atitudes e práticas de segurança alimentar obtiveram 55, 13 e 76% de acertos respectivamente. Os resultados desta pesquisa nos mostra a necessidade de treinamento aos manipuladores para que haja melhores condições de higiene no preparo dos alimentos servidos às crianças, pois a merenda analisada ofereceu risco de saúde às crianças.

Palavras chave: Avaliação microbiológica e parasitológica, alimentação escolar, segurança alimentar.

ABSTRACT

The health safety is highly compromised when meals are prepared in large quantities, usually seen in educational institutions that serve meals daily, endangering the health of children. Several diseases and malaise of the population are due to the intake of contaminated dishes and water, due to the presence of pathogenic micro-organisms or producers toxins, being necessary to assess the quality of food and knowledge of food handlers on food security. Therefore, the aim of this project is to assess the sanitary-hygienic aspects of food produced in a kitchen pilot, of the meals distributed in all educational institutions of a city region São José do Rio Preto – SP, and the menu served to the children will also be examined through microbiological and parasitological analysis. This research evaluated 102 samples of different types of food, 73 swab samples from the hands and surfaces, 60 water samples from the drinking fountains and faucets at the pilot kitchen, and the water following was subjected from microbiological analysis: heterotrophic bacteria, total coliforms, thermotolerant coliforms and Escherichia coli along with yeast and molds. In foods were analyzed: total coliforms, thermotolerant, search E. coli and Salmonella spp. count, coagulase positive Staphylococci, Bacillus cereus and sulfite-reducing Clostridia. From the swabs were evaluated: total coliforms, thermotolerant, search E. coli, and coagulase positive Staphylococci, while aerobic mesophilic bacteria were exclusively analyzed in the surfaces. Coliform bacteria were found in the water of a crate inside the pilot kitchen and E. coli in the drinking fountains the school A. Counts were found >1.100 MPN of total coliforms, <3 a 240 MPN of thermotolerant coliforms and E. coli; 2×10^2 CFU/g of Bacillus cereus; <10 a 4×10^5 CFU/cm² of aerobic mesophilic bacteria; <100 a $1,8 \times 10^5$ CFU of Staphylococcus spp., being that 6×10^3 CFU/g, $1,6 \times 10^4$ CFU/hands swab and 5×10^1 CFU/cm² were coagulase positive. In strains of E. coli and S. aureus present the antimicrobial susceptibility testing was performed where they were resistant to Ampicillin and Penicillin respectively. To evaluation the conditions of preparation of meals took place a check list in the kitchen, where the need for investment and training of handlers was observed, for all categories presented nonconformities above 50%. For parasitological analysis of water, raw foods and hands swab were investigated:

Entamoeba coli, Entamoeba histolytica, Giardia lamblia, Ascaris lumbricoides and Taenia sp. Determined the presence of the parasite Entamoeba coli on salad; Ascaris lumbricoides in salad and hand swab. The questionnaire applied to the manipulators on knowledge, attitudes and practices of food safety achieved 55, 13 and 76% on the hits, respectively. The results of this research shows the need for training the handlers so that there is better hygiene conditions in the preparation of food served to children, because the meals analyzed offered health risk to children.

Keywords: Microbiological and parasitological evaluation, school feeding, food security.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	Ovo de <i>Ascaris lumbricoides</i> (não fecundado).....	74
Figura 2	Ovo de <i>Ascaris lumbricoides</i> (fecundado).....	74
Figura 3	Resultados obtidos após a aplicação do questionário para a avaliação das manipuladoras.....	76
Figura 4	Resultados obtidos após a aplicação do Check List inicial.....	77
Figura 5	Resultados obtidos após a aplicação do Check List final.....	77
Figura 6	<i>Escherichia coli</i> resistente ao antibiótico Ampicilina.....	82
Figura 7	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente ao antibiótico Penicilina.....	85

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Resultados obtidos após determinação do NMP/g de coliformes totais na cozinha piloto, escola A, escola C, escola O e escola V.	45
Tabela 2	Resultados obtidos após determinação do NMP/g de coliformes totais na cozinha piloto, creche D e creche I.	46
Tabela 3	Resultados obtidos após a determinação do NMP/g de coliformes termotolerantes na cozinha piloto, escola A, escola C, escola O e escola V.	48
Tabela 4	Resultados obtidos após determinação do NMP/g de coliformes termotolerantes na cozinha piloto, creche D e creche I.	49
Tabela 5	Resultados obtidos após pesquisa de <i>Escherichia coli</i> na cozinha piloto, creche D, creche I, escola C, escola O e escola V.	51
Tabela 6	Resultados obtidos da contagem de UFC/g de <i>Staphylococcus</i> spp. na cozinha e escolas.	53
Tabela 7	Resultados obtidos da contagem de UFC/g de <i>Staphylococcus</i> spp. na cozinha e creches.	54
Tabela 8	Resultados obtidos da contagem de UFC/g de <i>Bacillus cereus</i> na cozinha e escolas.	56
Tabela 9	Resultados obtidos da contagem de UFC/g de <i>Bacillus cereus</i> na cozinha e creches.	57
Tabela 10	Resultados após contagem de heterotróficos/bolores e leveduras [UFC/mL] e coliformes totais [NMP/mL] na cozinha piloto.	59
Tabela 11	Resultados após contagem de heterotróficos/bolores e leveduras [UFC/mL] e coliformes totais [NMP/mL] na cozinha piloto, no tempo zero e após fluxo de 2 minutos da água.	60
Tabela 12	Resultados após contagem de heterotróficos/bolores e leveduras [UFC/mL] e coliformes totais [NMP/mL] nas escolas.	61
Tabela 13	Resultados após contagem de heterotróficos/bolores e leveduras [UFC/mL] e coliformes totais [NMP/mL] nas escolas, no tempo zero e após fluxo de 2 minutos da água.	62

Tabela 14	Resultados após avaliação de swab de mãos das manipuladoras. ..	65
Tabela 15	Resultados após avaliação de swab de superfícies dos pratos e colheres.	68
Tabela 16	Resultados após avaliação de swab de superfícies na cozinha.	69
Tabela 17	Resultados após análises parasitológicas das saladas da cozinha piloto, creche D, creche I, escola V, escola C, escola O e escola A.	72
Tabela 18	Resultados após análises parasitológicas de swab de mãos das manipuladoras da cozinha piloto.	73
Tabela 19	Resultados após o teste de susceptibilidade aos antimicrobianos das cepas de <i>Escherichia coli</i>	81
Tabela 20	Resultados após o teste de susceptibilidade aos antimicrobianos das cepas de <i>Staphylococcus aureus</i>	83

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA	17
2. OBJETIVOS.....	19
2.1 Objetivos específicos	19
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	20
3.1 Doenças Transmitidas por Alimentos (DTAs)	20
3.2 Manipuladores de Alimentos	21
3.3 Água.....	21
3.4 Análises Parasitológicas	22
3.5 Análises Microbiológicas.....	23
3.6 Resistência aos Antimicrobianos	31
3.7 Check list e Boas Práticas de Fabricação.....	32
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	34
4.1 Coleta das amostras	34
4.2 Preparo das amostras	35
4.3 Análises microbiológicas	37
4.4 Teste de susceptibilidade antimicrobiana	42
4.5 Análise parasitológica.....	42
4.6 Questionário aplicado às manipuladoras	43
4.7 Check list	43
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
5.1 Coliformes totais.....	45
5.2 Coliformes termotolerantes.....	48
5.3 <i>Escherichia coli</i>	51
5.4 <i>Staphylococcus coagulase positiva</i>	53
5.5 <i>Salmonella</i> spp.....	56
5.6 <i>Bacillus cereus</i>	56
5.7 Clostrídios sulfito redutores	58
5.8 Análise de água.....	59
5.9 Avaliação de swab de mãos	65

5.10 Avaliação de swab de superfícies	66
5.11 Análises parasitológicas.....	71
5.12 Questionário sobre conhecimentos, atitudes e práticas das manipuladoras.....	75
5.13 Avaliação das Boas Práticas de Fabricação: Check List	76
5.14 Teste de susceptibilidade aos antimicrobianos	81
6. CONCLUSÕES	86
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	87
APÊNDICE	105

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

É direito de todo ser humano ter uma alimentação adequada reconhecida internacionalmente pela Declaração Universal dos Direitos Humanos (art. 25). De acordo com o Programa Nacional de Alimentação Escolar (PNAE, 2011), uma alimentação segura é direito de todos os alunos, do ponto de vista nutricional e microbiológico. A insegurança alimentar está presente em países de baixa e até os de mais alta renda, sendo em sua maioria países latino-americanos, incluindo o Brasil (ROSE, 2008).

As doenças diarréicas de origem alimentar chegam a matar 1,5 milhões de crianças a cada ano em todo o mundo (HANSON et al., 2012). Os alimentos fornecidos para a alimentação escolar são consumidos diariamente pelos alunos, são essenciais, para a preservação da saúde, alimentos com condições de higiene satisfatórias. Seu controle inadequado é responsável pela ocorrência de surtos de doenças, provocadas principalmente pela ingestão de micro-organismos ou de suas toxinas, causando infecções ou intoxicações (CAMPOS et al., 2009).

Para garantir refeições de boa qualidade para alunos, os serviços de alimentação precisam seguir as normas estabelecidas pela Vigilância Sanitária, pois as medidas de segurança tomadas durante as várias fases de preparação da alimentação escolar são ainda insuficientes (SANTANA et al., 2009).

A água utilizada no preparo e higienização dos alimentos é uma importante fonte de contaminação, sendo seu abastecimento adequado um pré-requisito para uma vida saudável. As doenças transmitidas por águas contaminadas são uma das maiores causas de mortes em muitos lugares do mundo, afetando principalmente crianças (FAWELL et al., 2003).

Entre os micro-organismos mais importantes estão os fungos e as bactérias (GAVA, 2004). Segundo a Vigilância Sanitária de São Paulo os principais micro-organismos envolvidos em surtos são os *Bacillus cereus* tipo emético e diarréico, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, *Salmonella* spp., *Clostridium botulinum*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter jejuni* e *Escherichia coli* patogênica, enterohemorrágica, enteroinvasiva e enterotoxigênica.

Além das bactérias e fungos, outro grave problema de Saúde Pública no Brasil constitui as parasitoses intestinais, sendo um grande problema sanitário e social (BARRETO, 2006). Aproximadamente um terço da carga global de doença humana vem de parasitas, portanto há estudos que exploram a biologia estrutural para ajudar na luta contra doenças parasitárias, devido ao seu impacto na saúde humana (MODIS, 2012).

Com a maior frequência de crianças nas escolas durante o período integral, que realizam suas principais refeições neste local, a segurança alimentar é uma preocupação, pois é ameaçada principalmente devido as grandes quantidades de alimentos que são preparados nas instituições escolares. Assim, se faz necessária uma investigação e acompanhamento da qualidade desses alimentos e da água utilizada no preparo do alimento e a consumida pelos alunos em fase de desenvolvimento, visando avaliar a qualidade destes e propor ações de correção de comportamento, quando for o caso.

2. OBJETIVOS

O objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade microbiológica e parasitológica da alimentação servida aos alunos em escolas do ensino infantil e fundamental.

2.1 Objetivos específicos

- Análise microbiológica dos alimentos, das águas utilizada no preparo dos alimentos e de consumo dos alunos e compará-las com a legislação vigente
- Análise parasitológica da água, alimentos crus e “swab” de mãos
- Avaliar as condições de higiene em que os alimentos estão sendo preparados à partir de análises microbiológicas de superfícies, mãos das manipuladoras e aplicação de questionário sobre seus conhecimentos, atitudes e práticas.
- Avaliar as Boas Práticas de Fabricação por meio de um check list aplicado na cozinha piloto.
- Realizar testes de susceptibilidade aos antimicrobianos das cepas encontradas.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Doenças Transmitidas por Alimentos (DTAs)

Comer um alimento seguro ainda é uma das grandes preocupações da sociedade. Todos os anos, milhões de pessoas no mundo são hospitalizadas ou morrem devido às doenças de origem alimentar, que abrangem um amplo espectro de doenças que se manifestam após a ingestão de alimentos contaminados com micro-organismos ou por toxinas e podem ser causadas por uma variedade de agentes microbianos patogênicos que contaminam alimentos principalmente no processo de preparação, resultando em sintomas como dores de estômago, náuseas, vômitos, diarreia e febre (FORSYTHE, 2005; HANSON et al., 2012; OSAILI et al., 2013). Essas doenças crescem anualmente, principalmente devido ao aumento de refeições feitas fora de casa, potencializando seu surgimento e surtos de toxinfecções alimentares (PASSOS et al., 2008).

De acordo com o Ministério da Saúde, de 2000 a 2013 foram notificados 8.746 surtos de DTAs pela Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS), afetando 163.425 pessoas e resultando em 112 óbitos no Brasil; onde os micro-organismos mais ocorrentes foram *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. Segundo a SVS as escolas ocupam o terceiro lugar em ocorrências de surtos. A manipulação e o preparo inadequado podem ser os pontos onde surge a maioria dos surtos, porém várias doenças transmitidas por alimentos não são relatadas e às vezes nem há uma ligação entre elas e o alimento (MADIGAN et al., 2010).

As Doenças Transmitidas por Alimentos, em especial infecções gastrointestinais, representam um grupo muito grande de patologias com um forte impacto negativo sobre a saúde pública (MARZANO; BALZARETTI, 2011). Em ambientes de serviços de alimentação, vários fatores podem estar relacionados com DTAs, que incluem alimentos de fontes inseguras, culinária inadequada, temperatura imprópria, equipamentos contaminados e higiene pessoal inadequada. No entanto, a preparação higiênica de alimentos e educação dos envolvidos na preparação,

processamento e distribuição de refeições são fundamentais na prevenção da maioria dos tipos de DTAs (BALZARETTI; MARZANO, 2013).

3.2 Manipuladores de Alimentos

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) define, como manipulador de alimentos, toda pessoa que manipula diretamente os alimentos, embalados ou não, os equipamentos e utensílios utilizados nos alimentos, e as superfícies que entram em contato com os mesmos, da qual se espera que cumpra os requisitos de higiene dos alimentos. Os manipuladores são uma peça fundamental na segurança alimentar e podem contribuir na transmissão de patógenos durante as etapas de produção, processamento, distribuição e manipulação dos alimentos (ANGELILLO et al., 2000).

Estudos de levantamento de dados revelaram que os manipuladores de alimentos possuem falta de conhecimento sobre os conceitos básicos de higiene dos alimentos, incluindo como cozinhar corretamente, temperaturas de armazenamento de alimentos, contaminação cruzada e a higiene pessoal (OSAILI et al., 2013).

Várias pesquisas feitas com os manipuladores de alimentos têm comprovado que a qualidade higiênico-sanitária é na maioria das vezes inaceitável em questão de saúde, práticas e hábitos de higiene pessoal, acrescentando o risco de contaminação das mãos, bem como a contaminação cruzada em alimentos manipulados, sendo desta maneira um veículo de micro-organismos e que seu manuseio inadequado pode acarretar em doenças transmitidas por alimentos, sendo um grande risco para a saúde pública (CAMPOS et al., 2009).

3.3 Água

Segundo a Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS), a água pode veicular um elevado número de enfermidades. De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), bactérias, protozoários, vírus e helmintos são os agentes biológicos mais importantes de contaminação da água e, conseqüentemente, dos alimentos, e demonstram que as doenças causadas por veiculação hídrica, especialmente as gastroenterites, chegam a matar milhões de pessoas por ano.

Devido às crianças permanecerem cerca de um terço do seu dia nas escolas, e por serem mais propensas a doenças, é necessário sempre avaliar e acompanhar a

qualidade da água (ALMEIDA et al., 2009). As bactérias patogênicas transmitidas pela água que representam ameaça mais significativa para a saúde humana são *Salmonella*, *Campylobacter* e *Yersinia*. A qualidade da água geralmente é medida de acordo com o grau de contaminação bacteriana e da qualidade microbiológica da água que devem atender aos padrões de água locais, que podem diferir de país para país. A transmissão de parasitas intestinais pode ser facilitada devido à falta de instalações sanitárias adequadas, água potável e comportamento adequado de higiene (SHERKHONOV et al., 2013). Há dados estatísticos sobre a ocorrência e causas dos surtos de doenças transmitidas pela água nos Estados Unidos que incluem doença gastrointestinal aguda como, por exemplo, criptosporidiose e giardíase e doenças neurológicas como meningoencefalite amebiana primária (CRAUN et al., 2010).

A qualidade da água deve ser definida com base em indicadores bacterianos de contaminação, tais como *Escherichia coli*, os enterococos, e presença de bactérias aeróbias (LEE et al., 2011). Quase um décimo da carga global das doenças poderiam ser evitadas através da melhoria do abastecimento de água, saneamento, higiene e gestão dos recursos hídricos (MUKHOPADHYAY et al., 2012).

3.4 Análises Parasitológicas

Apesar da importância e atualidade do problema no Brasil, são poucas as pesquisas avaliando a ocorrência de parasitas. Assim, considerando o valor dos manipuladores de alimentos como importantes transmissores de enteroparasitoses e a possibilidade de romper este elo na cadeia de transmissão, busca-se realizar estes tipos de estudos (NOLLA; CANTOS, 2005).

A ascariíose, uma doença grave provocada pelo *Ascaris lumbricoides*, acomete milhões de pessoas, especialmente crianças, tornando-as debilitadas, afetando-as física e intelectualmente, sendo causada e conseqüentemente resultado do subdesenvolvimento de um país ou de uma região (NEVES; FILIPPIS, 2010). As infecções por helmintos intestinais causam diarreia, dor abdominal, obstrução intestinal, anemia, desnutrição, irritação da pele e área anal e implicações no desempenho cognitivo e físico (SHERKHONOV et al., 2013).

Há uma estimativa de 200.000 casos anuais de doenças transmitidas por alimentos por *Giardia lamblia* nos Estados Unidos, por meio de carnes contaminadas ou

infectadas. Alimentos frescos, tais como frutas, estão frequentemente implicados como fontes de parasitas, que possivelmente foram contaminados por matéria fecal presentes na água não tratada, utilizada na lavagem, irrigação e pulverização de colheitas (MADIGAN et al., 2010).

Segundo pesquisas de Naess et al. (2012) surtos de gastroenterite por *Giárdia lamblia* resultam em uma alta prevalência e longa duração dos sintomas de fadiga e dores abdominais.

Estudos realizados em escolas da Nigéria constataram a transmissão fecal-oral de parasitas em 92% dos manipuladores estudados. Devido a esses resultados é importante a realização de exames periódicos para detectar e tratar as parasitoses, a fim de diminuir o risco de contaminação dos alimentos (CAMPOS et al., 2009).

Um estudo na cidade de Catanduva, com crianças de escola pública, estas apresentaram presença do parasita *Giárdia lamblia* (44%). Devido à convivência diária com outras crianças e adultos, as crianças de creche ficam mais suscetíveis a contágios de doenças, e exibem mais problemas gastrintestinais. No entanto, beber água fervida ou filtrada, lavar bem os alimentos e tratar os indivíduos suspeitos de estarem com a doença são medidas possíveis de serem aplicadas para a prevenção da giardíase (BISCEGLI et al., 2009).

Diversas pesquisas apresentam a contaminação de hortaliças com ovos, larvas ou cistos de vários enteroparasitos como a *Taenia*, *Ascaris*, *Toxocara*, *Giardia*, *Cryptosporidium*, *Entamoeba* e *Schistosoma* (NEVES; FILIPPIS, 2010).

3.5 Análises Microbiológicas

3.5.1 Bactérias do grupo coliforme

Ainda não é possível avaliar com total segurança dos alimentos, apenas em função dos níveis de *Escherichia coli*, coliformes termotolerantes ou coliformes totais, pois um alto índice desses micro-organismos pode estar em certas circunstâncias, relacionado com uma maior probabilidade de presença de patógenos entéricos, porém, frequentemente podem não estarem. Da mesma forma, sua ausência nem sempre significa que os produtos estejam livres de bactérias entéricas patogênicas (DOWNES; ITO, 2001).

3.5.1.1 Coliformes totais

O grupo dos coliformes totais é um subgrupo da família *Enterobacteriaceae* que inclui 44 gêneros e 176 espécies. Neste grupo estão apenas as enterobactérias capazes de fermentar a lactose com produção de gás sob as condições de 35°C por 24 a 48 horas. Mais de 20 espécies entram nesta definição, sendo estas originárias tanto do trato gastrointestinal de humanos como também animais de sangue quente, como a *Escherichia coli*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiela*, *Serratia*, etc (BRENNER; FARMER III, 2005).

São indicadores das condições de higiene dos processos de fabricação por serem facilmente inativados pelos sanitizantes e capazes de colonizar vários lugares das plantas de processamento, quando a sanitização é falha (DOWNES; ITO, 2001).

3.5.1.2 Coliformes termotolerantes

Este grupo é também conhecido como coliformes fecais, é um subgrupo dos coliformes totais, restrito aos membros capazes de fermentar a lactose em 24 horas a 44,5-45,5°C, com produção de gás. Dentre seus membros está a *Escherichia coli* como maior representante. Podem ser utilizados como indicadores de falha no processamento ou de contaminação pós processo em alimentos pasteurizados, por possuírem facilidade em ser destruídos pelo calor e não sobreviver ao tratamento térmico (DOWNES; ITO, 2001).

Faustino et al. (2007) realizaram pesquisas em alimentos coletados na Baixada Santista e isolaram amostras de Coliformes termotolerantes em alimentos com recheios de frango e palmito, frango cru e frango ensopado. As análises mostraram que 50% das amostras contaminadas e avaliadas eram do grupo dos coliformes de origem fecal. Eles são indicadores de más condições higiênico-sanitárias dos alimentos, principalmente dos manipuladores, dos locais de preparação e/ou armazenamento. Estes tipos de contaminantes podem ser isolados de derivados de leite, carnes e derivados e verduras.

3.5.1.3 *Escherichia coli*

Este micro-organismo está incluído tanto no grupo dos coliformes totais quanto no dos coliformes termotolerantes (FENG; HARTMAN, 1982). São bacilos gram-negativos que são classificados como bactéria entérica. Várias de suas linhagens

correspondem a potenciais patógenos transmitidos por alimentos, que atuam inicialmente no intestino e possuem a capacidade de produzir potentes enterotoxinas (MADIGAN et al., 2010).

A *Escherichia coli* é normalmente encontrada no intestino de seres humanos e outros animais de sangue quente. Enquanto a maioria das cepas são inofensivas, algumas podem causar doenças de origem alimentar grave. A infecção por *E. coli* é geralmente transmitida por meio do consumo de água ou alimentos contaminados, tais como produtos de carne mal cozida e leite cru. Os sintomas da doença incluem cólicas abdominais e diarreia, febre e vômitos. A maioria dos pacientes podem se recuperar dentro de 10 dias, embora em alguns casos a doença pode tornar-se fatal (WHO, 2013).

De acordo com a Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS) foram notificados 480 surtos de *E. coli* no Brasil no período de 2000 a 2013.

A *EnterEscherichia coli* O157:H7 é um grave patógeno predominantemente associado à colite hemorrágica, síndrome hemolítico-urêmica, leve diarreia sanguinolenta e púrpura trombocitopênica trombótica. Um estudo realizado com os alimentos fornecidos em escolas do país de Gales envolveu 157 casos em um surto de *E. coli* O157:H7 relacionado a alimentos cozidos e carnes fatiadas (KOTZEKIDOU, 2013a). Esta linhagem é responsável por pelo menos 60.000 infecções e 50 óbitos ao ano nos EUA, devido às doenças transmitidas por alimentos (MADIGAN et al., 2010).

Em estudos feitos por Ryu et al. (2011), foi encontrado o agente patogênico *Escherichia coli* O157:H7 na merenda escolar, o que indicou um baixo nível de segurança nas merendas servidas em escolas de ensino fundamental coreanas. Para melhorar esse problema e tentar diminuir este tipo de riscos de contaminação, deve-se ter um controle diário desses alimentos servidos às crianças.

3.5.2 *Staphylococcus* spp.

Os *Staphylococcus* são cocos gram positivos, aeróbios facultativos, catalase e coagulase positiva. É um grande causador de intoxicação alimentar, pois ele tem a capacidade de se multiplicar no alimento e produzir várias enterotoxinas termoestáveis, que quando ingerido após uma a seis horas promove uma gastroenterite caracterizada por náuseas, vômitos e diarreia. Esta bactéria produz sete enterotoxinas diferentes, sendo a mais frequente a enterotoxina A, um superantígeno que ativa a resposta

inflamatória no intestino resultando na perda de fluídos intestinais (MADIGAN et al., 2010).

Segundo a FDA/CFSAN (2005) e o ICMSF (1996), os alimentos de maior risco em surtos são os de intensa manipulação e/ou que permanecem à temperatura ambiente após o preparo, aos quais incluem: produtos lácteos e derivados, macarrão, aves, ovos, saladas, carnes e produtos cárneos.

Este micro-organismo é um patógeno oportunista, se desenvolve em alimentos que apresentam atividade de água reduzida e tolera a salinidade, como nos ingredientes dos sanduíches, ou seja, produtos de carne cozidos, salsicha e queijo. Sua presença está associada à contaminação de matérias-primas ou contaminação cruzada que ocorre em consequência de manuseamento incorreto durante o processamento e armazenamento (KOTZEKIDOU, 2013a).

O *S. aureus* é a terceira causa mais importante de doenças transmitidas por alimentos no mundo, tendo como seus principais agravantes a produção de toxinas e resistência antimicrobiana. Nos seres humanos estão presentes principalmente nas narinas, embora também possa ser encontrada nas mãos, no entanto esta é a causa da maioria dos surtos de intoxicação alimentar, devido à inadequada higiene dos manipuladores (SOARES et al., 2012).

De acordo com a Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS), foram notificados 763 surtos de *S. aureus* no Brasil no período de 2000 a 2013. Em 10 de julho de 2000 no Japão, o Ministério da Saúde e Bem-Estar relatou um total de 13.809 casos de intoxicação alimentar em 8 estados ocidentais (WHO, 2013).

Diversos estudos analisaram a sobrevivência dessa bactéria patogênica em superfícies de contato com alimentos (por exemplo, aço inoxidável ou polipropileno) e sua relação com a contaminação cruzada. Ele é capaz de sobreviver em mãos, esponjas, roupas, moedas e outras superfícies durante horas ou dias (PÉREZ-RODRÍGUEZ et al., 2013).

3.5.3 *Salmonella* spp.

A *Salmonella*, um gênero da família Enterobacteriaceae, é um bastonete gram-negativo não esporogênico, anaeróbio facultativo e oxidase negativo (ELLERMEIER; SLAUCH, 2005; POPOFF; LE MINOR, 2005). As principais fontes são os pratos

intestinais do homem e de outros animais (MADIGAN et al., 2010). Podem sobreviver no solo principalmente úmido e com esterco de 7 a 25 semanas, sendo uma fonte de contaminação (OLAIMAT; HOLLEY, 2012). Todas as Salmonelas são consideradas patogênicas em algum grau, causando salmonelose ou gastroenterite por *Salmonella* (TORTORA; FUNKE; CASE, 2008).

Segundo a WHO (2013), a *Salmonella* é o principal agente causador de doenças de origem alimentar em todo o mundo. Os sintomas geralmente aparecem de 12 a 72 horas após a infecção, e incluem febre, dor abdominal, diarreia, náuseas e às vezes vômitos. A doença normalmente dura de 4 a 7 dias, e a maioria das pessoas se recuperam sem tratamento. No entanto, em crianças e idosos, e em casos quando as bactérias entram na corrente sanguínea, um tratamento com antibióticos pode ser necessário.

Este micro-organismo é uma das principais causas de hospitalização e morte, bem como gastroenterite, principalmente por se tornarem cada vez mais resistentes aos antibióticos clinicamente importantes (ZAIDI et al., 2012).

A incidência de infecções por *Salmonella* constitui a causa de maior registro de doenças diarreicas em quase todos os países industrializados. Ela adoece cerca de 40.000 pessoas e mata cerca de 600 nos EUA a cada ano (KOTZEKIDOU, 2013a). De acordo com a Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS) foram notificados 1.525 surtos no Brasil no período de 2000 a 2013.

Embora a maioria dos casos de intoxicações seja causada por ovos mal cozidos e frango, as folhas verdes são responsáveis por 30% dos surtos nos Estados Unidos, por possuírem uma grande área de superfície e o potencial para a internalização de patógenos em estruturas tais como os estomas (PUERTA-GOMEZ et al., 2013).

A *Salmonella* pode ser destruída por processos que envolvem altas temperaturas, como cozimento e a pasteurização, porém congelamento, refrigeração e secagem não a destroem, mas evitam sua multiplicação (ABUSHELAIBI et al., 2003).

3.5.4 *Bacillus cereus*

É uma bactéria patogênica de bacilos gram-positivos, esporogênica, anaeróbia facultativa e produz esporos facilmente, que apresentam resistência térmica podendo resistir até 6,3 minutos em caldo de arroz a 100°C. O crescimento do organismo pode

ocorrer como consequência de problemas no resfriamento dos produtos depois do tratamento térmico, porque os esporos podem germinar e produzir toxinas. O reaquecimento pode destruir as células de *B. cereus*, porém a toxina permanece ativa. Sua temperatura ótima de crescimento é de 30 a 40°C, o pH ótimo encontra-se entre 6,0 e 7,0 e a atividade de água mínima é de 0,93 (FDA, 2001; EUZÉBY, 2003; MADIGAN et al., 2010; KOTZEKIDOU, 2013a).

De acordo com a Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS), foram notificados 295 surtos de *B. cereus* no Brasil no período de 2000 a 2013. As doenças resultantes pela ação deste micro-organismo são intoxicações, resultantes da ingestão de toxinas formadas no alimento, quando ocorre a multiplicação das células.

Dois tipos de doenças são conhecidas: a síndrome diarréica, que é provocada pela toxina diarréica, uma proteína termossensível, inativada a 56°C por 5 minutos, que pode causar dores abdominais e diarreia, num período de incubação de 8 a 16 horas e sintomas entre 12 e 24 horas. A outra é a síndrome emética, que é provocada pela toxina emética, altamente resistente ao calor, que pode suportar o cozimento e, também, tratamento térmicos muito mais severos, como 126°C por 90 minutos ou 120°C por mais de uma hora, ela causa náuseas e vômitos, entre uma e cinco horas depois do consumo do alimento contaminado. O fato de o *B. cereus* estar no alimento não representa risco à saúde, a menos que possa se multiplicar e atingir populações maiores do que 10⁵ células viáveis por grama. Os alimentos mais implicados em surtos são produtos cozidos, ricos em amido ou proteínas, como o arroz, massas, vegetais, sopas, saladas de vegetais, brotos de sementes, pudins e carnes (ICMSF, 1996; BENNETT; BELAY, 2001; FDA, 2001).

3.5.5 Clostrídios sulfito redutores

É uma bactéria Gram-positiva, na forma de bastonetes, anaeróbia, formadora de esporos e que esporula facilmente no intestino. É comumente encontrada no solo e trato intestinal de homens e animais (MADIGAN et al., 2010; MIYAMOTO, LI, MCCLANE, 2012).

Clostrídios sulfito redutores, como o nome diz, são os clostrídios que reduzem o sulfito a sulfeto de hidrogênio (H₂S) a 46°C. Sua aplicação na análise de alimentos é oferecer uma indicação simples e rápida da presença de *C. perfringens*, que também é

sulfito redutor. Uma das características mais marcantes é que podem se desenvolver ativamente numa faixa de temperaturas, de 11 até 53°C, com uma temperatura ótima de crescimento em torno de 43°C, essa temperatura é utilizada como um indicativo da presença de *C. perfringens*, reduzindo assim o número de outras espécies que podem vir a crescer. Este micro-organismo provoca um largo espectro de doenças humanas e veterinárias. A virulência de *C. perfringens* em grande parte resulta da sua capacidade produtora de toxinas. Com base na produção de quatro toxinas principais e mais letais (alfa, beta, épsilon e iota), sendo as cepas da espécie geralmente classificadas em cinco tipos: A, B, C, D e E (CATO; GEORGE; FINEGOLD, 1986; ICMSF, 1996; BATES, 1997; FDA/CFSAN, 2005; MIYAMOTO, LI, MCCLANE, 2012; COMMEAU, JALOUSTRE, 2013).

Os esporos quando germinados no interior de um recipiente selado, e após o consumo do alimento contaminado, as células vivas começam a esporular no intestino, causando a produção da enterotoxina perfringens, e, como consequência, altera a permeabilidade do epitélio intestinal, provocando diarreia, cólica e febre em torno de 6-24 h após a ingestão do alimento contaminado. Os sintomas duram em torno de um dia ou menos e são geralmente leves, mas a doença pode ser responsável pela morte de pessoas vulneráveis (MADIGAN et al., 2010; JALOUSTRE et al., 2012). De acordo com a Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS), foram notificados 198 surtos de *C. perfringens* no Brasil no período de 2000 a 2013.

A espécie *C. perfringens* é a causa mais prevalente de intoxicações alimentares relatadas nos EUA, com um número estimado de 248.000 casos anuais. A intoxicação ocorre devido a uma grande dose de *C. perfringens* ($>10^8$ células), presentes em alimentos cozidos ou crus contaminados, principalmente carnes, aves domésticas e peixes. Surtos são frequentemente associados com carne processada, geralmente em instituições e restaurantes (MADIGAN et al., 2010; JALOUSTRE et al., 2012).

3.5.6 Bactérias heterotróficas

São micro-organismos que utilizam nutrientes orgânicos para seu crescimento e multiplicação. Eles estão por toda a parte, como, por exemplo, presentes na água, no alimento, na vegetação e no ar. Sua presença está bem estabelecida como um importante parâmetro para a avaliação da qualidade da água e dos alimentos (SOUSA, 2008).

Estas bactérias são muitas vezes utilizadas como indicadores de desempenho de desinfecção, porém não são considerados indicadores de segurança por não estarem relacionadas diretamente a presença de patógenos ou toxinas. Elas representam uma ampla gama de tipos de bactérias, incluindo agentes patogênicos primários e secundários de bactérias (*Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Serratia*, *Helicobacter*, etc), e que podem causar vários problemas à saúde humana. A deterioração da qualidade da água (por exemplo, problemas de gosto, odor, turvação, etc), filtros obstruídos, bio-incrustantes e bio-corrosão têm sido associados a bactérias heterotróficas (DOWNES; ITO, 2001; EATON et al., 2005; CHOWDHURY, 2012).

Na água, a contagem de bactérias heterotróficas é um modo de acompanhar variações nas condições de processo, como no caso das águas minerais, ou a eficiência das diversas etapas de tratamento, no caso de águas tratadas. Permite ainda confirmar as condições higiênicas em diferentes pontos da rede de distribuição (CLESCERI; GREENBERG; EATON, 1998; DOWNES; ITO; 2001).

O cloro residual livre é tipicamente usado para minimizar a contaminação por bactérias em sistemas de distribuição de água municipal. Apesar de tais medidas preventivas, a regeneração de bactérias heterotróficas e oportunistas na água e os biofilmes ainda precisam ser controlados completamente e mais estudados. Nenhuma abordagem tem demonstrado sucesso completo em eliminar os biofilmes ou bactérias heterotróficas da água e das superfícies de tubos. O controle de bactérias heterotróficas no sistema de abastecimento de água é importante para minimizar a exposição humana aos micro-organismos patogênicos (CHOWDHURY, 2012).

3.5.7 Fungos filamentosos e leveduras

Constitui um grande grupo de micro-organismos onde a maioria é encontrada no solo ou no ar. Os fungos filamentosos são muito instáveis, sua maioria é capaz de assimilar qualquer fonte de carbono oriundo de alimentos. Já as leveduras são mais exigentes, muitas não assimilam o nitrato e carboidratos complexos, algumas exigem vitaminas e outras não conseguem utilizar a sacarose como única fonte de carbono. A temperatura ótima de crescimento da maioria dos fungos é de 25 a 28°C, seu crescimento é comum sob condições de refrigeração (5°C). Os fungos filamentosos deteriorantes de alimentos exigem oxigênio para crescimento, podendo ser considerados

aeróbios estritos. Pelo contrário, as leveduras conseguem crescer na completa ausência de O₂ (DOWNES; ITO, 2001; PITT; HOCKING, 2009).

Os fungos filamentosos e leveduras são muito resistentes a condições adversas, como pH ácido e atividade de água baixa, no entanto seu crescimento é maior nestes casos, provocando deterioração de frutas, vegetais e cereais (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

Os sistemas de distribuição de água potável, reservatórios e tubulações são ambientes em que os fungos filamentosos podem sobreviver, proliferar e bloquear as tubulações de água, causando biodeterioração organoléptica e sendo fonte de patógenos. Cada vez mais há relatos da formação de biofilmes por fungos nestes locais (SIQUEIRA et al., 2013).

Os fungos ocorrem amplamente em fontes de água potável, muitas espécies identificadas podem ser responsáveis por lesões na pele, reações alérgicas e infecções sistêmicas, especialmente em indivíduos susceptíveis (PEREIRA et al. 2009; HEDAYATI et al., 2011). As infecções fúngicas são muito temidas por serem difíceis de prevenir e de tratar, e muitas vezes são fatais. Além disso, devem ser considerados que os fungos presentes na água potável podem multiplicar-se no decurso do processo de produção de alimentos, o que pode levar a um risco de saúde para o consumidor. (KANZLER et al., 2007).

3.6 Resistência aos Antimicrobianos

A prevalência de micro-organismos importantes como *Salmonella*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* resistentes a vários antibióticos está aumentando nos últimos tempos. Isso tem representado um grande problema e ameaça para a saúde pública em muitos países, devido a persistência da circulação de cepas de bactérias resistentes no ambiente e a possível contaminação de água e alimentos, podendo tornar-se um meio pela qual estas bactérias patogênicas resistentes aos antimicrobianos são transmitidas para as pessoas. Isso se deve também ao uso indiscriminado e inadequado de antibióticos que ocasionam uma pressão na seleção de genes de resistência antimicrobiana. O *Staphylococcus aureus* tem sido relatado como a bactéria mais frequente de resistência a antimicrobianos, sendo motivo de preocupação devido às

limitações de tratamento disponíveis para este tipo de infecção (GOLDSTEIN et al., 2014; GUVEN et al., 2010; MANGUIAT; FANG, 2013; ZANATTA et al., 2004).

Fracassos em tratamentos devido à resistência aos antibióticos aumentam o custo do tratamento e causam morbidade por mais tempo aos pacientes, sendo um grande desafio, a busca de estratégias para a cura. Um grande problema é que genes como, por exemplo, da *Escherichia coli* resistentes a antibióticos, podem ser transferidos para outras espécies de bactérias por meio da aquisição de um plasmídeo (MELLATA, 2013).

Existe ligações entre os ecossistemas, onde as bactérias presentes no intestino hoje de uma vaca podem estar uma semana mais tarde em carne moída embalada, e dois meses depois em um reservatório de uma comunidade. Portanto a resistência antimicrobiana de bactérias de origem alimentar não deve ser considerada distinta daquelas isoladas de seres humanos ou animais, porque o consumo de alimentos é uma via importante para a entrada de bactérias nos seres humanos, garantindo assim uma atenção especial a presença de bactérias resistentes aos antimicrobianos em alimentos. *Escherichia coli*, por exemplo, foi encontrada em vários alimentos como vegetais, carnes e aves (SCHROEDER; WHITE; MENG, 2004).

3.7 Check list e Boas Práticas de Fabricação

O acompanhamento das práticas de segurança alimentar, instalações, documentação e procedimentos são usados para reunir dados sobre a produção dos alimentos e práticas de processamento, para que possa identificar deficiências em algumas áreas e assim poder melhorá-las (POWELL et al., 2013).

De acordo com Brasil (2002), é necessário que os manipuladores tenham unhas limpas e curtas, sem esmaltes e adornos e com os cabelos protegidos. O controle da saúde dos manipuladores deve ser registrado, e os que apresentarem lesões nas mãos ou estiverem doentes devem ser afastados temporariamente de suas atividades. É necessário lavatório exclusivo e em números suficientes para a higiene das mãos na área de manipulação, com sabonete líquido inodoro e anti-séptico, toalhas de mão não recicladas e lixo acionado sem contato manual (BRASIL, 2004).

Os banheiros e vestiários devem ser de uso exclusivo dos manipuladores e estar a uma boa distância do local de preparação dos alimentos, devem ser bem conservados,

possuir lavatórios, papel higiênico, sabonete líquido inodoro e anti-séptico, toalhas de papel não recicladas e lixos com abertura da tampa não manual (BRASIL, 2002).

Um treinamento freqüente e inspecionado é considerado a melhor forma de evitar possíveis contaminações dos alimentos, melhorando o aprendizado, práticas e habilidades dos manipuladores e conseqüentemente a segurança alimentar (MEDEIROS et al., 2011). Os erros mais comuns dos manipuladores de alimentos é realizar um cozimento inadequado, aquecimento e re-aquecimento de alimentos, a obtenção de alimentos de fontes inseguras; resfriamento e armazenamento de alimentos de maneira inadequada e permanência por um tempo do alimento pronto em temperatura ambiente antes de ser servido (ERGÖNÜL, 2013). Segundo Campos et al., (2009) o treinamento periódico dos manipuladores é um instrumento muito importante para a realização de boas práticas de alimentação, sendo necessário um acompanhamento da produção, armazenamento e verificação das estruturas para a produção de uma merenda de qualidade.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Coleta das amostras

Todas as amostras coletadas na cozinha e nas escolas foram acondicionadas em caixas de isopor com gelo e foram encaminhadas para o Laboratório de Microbiologia de Alimentos da Universidade Estadual Paulista – UNESP, campus São José do Rio Preto, e mantidas em geladeira até a análise, que foram realizadas no mesmo dia da coleta.

4.1.1 Merenda escolar

Foram obtidas amostras de merenda escolar da cozinha piloto e de seis escolas de ensino infantil e fundamental de uma cidade do interior do Estado de São Paulo. Em frascos estéreis foram coletadas aproximadamente 200g de cada alimento, logo após seu preparo e após chegarem às escolas antes de serem servidas às crianças. As amostras foram coletadas em dias alternados da semana, para garantir uma avaliação completa do cardápio elaborado e oferecido às crianças. As coletas foram realizadas nos meses de Fevereiro, Março, Abril e Novembro sendo 6 coletas nas duas creches e 3 coletas nas quatro escolas, totalizando 33 coletas e 102 amostras.

4.1.2 Água

Para a coleta das amostras de água, primeiramente as torneiras e os bebedouros foram submetidos à desinfecção com álcool a 70%. O primeiro jato de água do dia e após um fluxo de dois minutos a água foi coletada, em frasco estéril contendo 0,4 mL de uma solução de 3% de tiosulfato de sódio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) para a inativação do cloro residual, conforme metodologia recomendada pela 21ª Edição do Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (HUNT; RICE, 2005). Foram analisadas 60 amostras de água no total, da cozinha piloto e das escolas, onde foi avaliada a água oriunda da rua e da caixa, sendo a dos bebedouros das escolas a água da caixa, e na cozinha piloto tanto a água da caixa como a da rua são usadas na higienização e preparo dos alimentos.

4.1.3 “Swab”

A coleta de swab das mãos foi feita com o consentimento dos manipuladores e após estes assinarem o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) e através de uma autorização do responsável pela cozinha. Também foi obtido o parecer do comitê de ética, protocolo 12831713.0.0000.5466, parecer 245.638, obtido em 11 de abril de 2013. Para a obtenção das amostras, o swab estéril foi passado na palma das mãos, entre os dedos e unhas, após a higienização das mãos. Já os swabs de superfícies foram realizados conforme metodologia recomendada pela American Public Health Association (DOWNES; ITO, 2001), foram coletados também da bancada de preparo dos alimentos, do processador, do cortador e dos pratos e colheres das escolas utilizados pelos alunos, com o auxílio de um molde estéril de 100 cm² para delimitação da área a ser amostrada, sendo que todos foram limpos antes da coleta.

4.2 Preparo das amostras

Após a coleta, as amostras foram homogeneizadas e diluídas em água peptonada a 0,1% para realização das análises microbiológicas segundo metodologia recomendada pela American Public Health Association (MIDURA; BRYANT, 2001) e pelo Standard Methods for the Examination of Water & Wastewater (HUNT; RICE, 2005).

4.2.1 Merenda Escolar

As amostras foram pesadas e homogeneizadas no laboratório. Para pesquisa de *Salmonella* foi pesado 25 g e para as demais análises 10 g, onde foram colocadas frascos de Erlenmeyer assépticos contendo 90 mL de água peptonada 0,1% estéril, constituindo a diluição 10⁻¹ e a partir desta foram realizadas as diluições 10⁻² e 10⁻³. Os micro-organismos pesquisados foram os do grupo coliforme, *Salmonella* spp., *Staphylococcus* coagulase positiva, *Bacillus cereus* e Clostridio sulfito redutor. Nos alimentos crus foram pesquisados os parasitas *Entamoeba coli*, *Entamoeba histolítica*, *Giárdia lamblia*, *Ascaris lumbricoides* e *Taenia* sp. As análises microbiológicas foram realizadas conforme metodologia recomendada pela American Public Health Association (BENNETT; BELAY, 2001; KORNACKI; JOHNSON, 2001; LANCETTE; BENNETT, 2001; ANVISA, 2001; ANDREWS; HAMMACK, 2007). As

análises parasitológicas foram realizadas conforme metodologia de Ritchie (1948) modificada.

4.2.2 Água

As amostras de água contendo em torno de 400 ml foram homogeneizadas e realizadas as diluições de 10^{-1} e 10^{-2} em água peptonada. A primeira diluição foi feita transferindo 10 ml da amostra de água para um Erlenmeyer com 90 ml de água peptonada e a segunda diluição foi realizada transferindo 1 ml da diluição 10^{-1} em um tubo de ensaio com 9 ml de água peptonada. Para análise microbiológica, foram pesquisadas bactérias do grupo coliforme, contagem de bactérias heterotróficas, fungos filamentosos e leveduras. Para as pesquisas parasitológicas, foram investigados os parasitas *Entamoeba coli*, *Entamoeba histolítica*, *Giárdia lamblia*, *Ascaris lumbricoides* e *Taenia* sp. As análises microbiológicas foram realizadas conforme metodologia recomendada pela American Public Health Association do Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (HUNT; RICE, 2005). As parasitológicas foram realizadas conforme metodologia de Ritchie (1948) modificada.

4.2.3 “Swab”

As amostras foram homogeneizadas em um agitador de tubos, por cerca de dez segundos, em seguida foram realizadas as diluições, onde a 10^{-1} representa o tubo de 10 mL de água peptonada 0,1% onde foi armazenada a amostra de “swab”.

Para a análise das mãos foram pesquisadas as bactérias do grupo coliforme e *Staphylococcus* coagulase positiva, onde seus resultados foram expressos em NMP/mãos e UFC/mãos. Foram pesquisados também os parasitas *Entamoeba coli*, *Entamoeba histolítica*, *Giárdia lamblia*, *Ascaris lumbricoides* e *Taenia* sp.

Para a análise das superfícies foram analisadas bactérias do grupo coliforme, *Staphylococcus* coagulase positiva e Bactérias aeróbias mesófilas. Seus resultados foram expressos em NMP/cm² e UFC/cm². As análises microbiológicas foram realizadas conforme metodologia recomendada pela American Public Health Association (KORNACKI; JOHNSON, 2001; LANCETTE; BENNETT, 2001; MORTON, 2001; SWANSON; PETRAN; HANLIN, 2001). As parasitológicas foram realizadas conforme metodologia de Ritchie (1948) modificada.

4.3 Análises microbiológicas

4.3.1 Coliformes totais

Um método tradicional para contagem de coliformes em alimentos é a técnica do Número Mais Provável (NMP), recomendado pela American Public Health Association (KORNACKI; JOHNSON, 2001). Para alimentos foram utilizadas três séries de 3 tubos e para análise de água três séries de 5 tubos, onde cada série representava uma diluição. Todos os tubos foram incubados por 48 horas a 35° C em Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST), onde foram considerados suspeitos da presença de coliformes aqueles que apresentaram produção de gás no tubo de Durham.

Para a confirmação de coliformes totais, foi coletada uma alçada dos tubos do teste presuntivo considerados suspeitos e inoculada em tubos de Caldo Verde Brilhante Bile 2% (VB) e novamente incubados por 48 horas a 35°C. Após esse tempo, os tubos que apresentaram crescimento com produção de gás no tubo de Durham foram considerados positivos para coliformes totais. Para a obtenção dos resultados, foi utilizada a combinação dos tubos positivos e comparados à tabela de Hoskins.

4.3.2 Coliformes termotolerantes

Para a determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes termotolerantes, recomendado pela American Public Health Association (KORNACKI; JOHNSON, 2001), foram utilizados os tubos considerados suspeitos no teste presuntivo de coliformes totais, e foi retirada uma alçada e transferida para os tubos com caldo *Escherichia Coli* (EC). Os tubos foram incubados em banho Maria por 24 horas a 45,5°C. Foram considerados positivos aqueles que obtiveram crescimento e produção de gás no tubo de Durham. Para a obtenção dos resultados, foi utilizada a combinação dos tubos positivos e comparadas à tabela de Hoskins.

4.3.3 *Escherichia coli*

Conforme as recomendações da American Public Health Association (KORNACKI; JOHNSON, 2001), os tubos de EC positivos para coliformes termotolerantes foram considerados suspeitos para a presença de *Escherichia coli*. Para sua confirmação, uma alçada de cada tubo EC positivo foi estriada pela técnica de

esgotamento em placas de petri contendo Ágar Levine Eosina de Metileno (L-EMB). As placas foram incubadas por 24 horas a 35°C. Em seguida, é necessário passar uma colônia isolada para o Ágar Padrão para Contagem (PCA) e incubar em estufa a 35°C por 24 horas e realizar os testes bioquímicos para sua confirmação: Citrato, Teste de Indol, Teste de Vermelho de Metila e Voges-Proskauer. As culturas que apresentaram Indol positivo ou negativo, Vermelho de Metila positivo, Voges-Proskauer negativo e Citrato negativo, foram consideradas com presença de *E. coli*.

4.3.4 Contagem de Heterotróficos

Para a contagem de heterotróficos em água, o método usado foi a contagem em placas, com plaqueamento por profundidade (pour plate), onde foi pipetado 1 mL de cada diluição (10^0 , 10^{-1} e 10^{-2}), em placas de petri previamente esterilizadas (realizada em duplicatas), e foram vertidos de 15 a 20 mL de meio de cultura PCA previamente fundido e resfriado a 45°C e para misturar o inóculo ao meio de cultura foi utilizado movimentos na forma de 8.

Após a solidificação do meio de cultura, as placas foram incubadas invertidas por 48 horas a 35°C. Para o cálculo dos resultados, foram selecionadas as placas com 30 a 300 colônias que foram contadas com auxílio de um contador de colônias, sendo calculado o Número de Unidades Formadoras de Colônia (UFC) multiplicando-se o número de colônias pelo inverso da diluição e realizando uma média das placas de mesma diluição (HUNT; RICE, 2005).

4.3.5 Contagem de Bactérias Aeróbias Mesófilas

Para contagem total de Aeróbios Mesófilos em superfícies, foi selecionado o método de contagem padrão em placas, com plaqueamento em profundidade (pour plate), onde foi pipetado 1 mL de cada diluição (10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3}) em placas de petri previamente esterilizadas (realizado em duplicata), e foram vertidos de 15 a 20 mL de meio de cultura PCA previamente fundido e resfriado a 45°C. Foi misturado o inóculo ao meio de cultura utilizando-se movimentos na forma de 8.

Após a solidificação do meio de cultura, as placas foram incubadas invertidas por 48 horas a 35°C. Para o cálculo dos resultados, foram selecionadas as placas com 30 a 300 colônias e foram contadas com auxílio de um contador de colônias, foi calculado

o Número de Unidades Formadoras de Colônia (UFC/cm²) multiplicando-se o número de colônias pelo inverso da diluição, após realizar uma média das placas de mesma diluição (MORTON, 2001; SWANSON; PETRAN; HANLIN, 2001).

4.3.6 Contagem de Bolores e Leveduras

Foi utilizado o método de plaqueamento por superfície para a obtenção do número total de bolores e leveduras. O ágar utilizado foi o Dextrose Batata (PDA) acidificado até pH 4.0 com uma solução aquosa de ácido tartárico a 10% previamente preparado e esterilizado. Foram inoculados 0,1 mL de cada diluição (10⁰–10⁻²) em placas de petri previamente preparadas e secas, espalhando-se por toda superfície da placa com o auxílio da alça de Drigalski. Em seguida, as placas foram incubadas a 25°C por cinco dias, sem inverter.

Para a obtenção dos resultados, foram selecionadas placas de 30 a 300 colônias, que foram contadas com auxílio de um contador de colônias. O cálculo do resultado em UFC/g foi feito multiplicando-se o número de colônias contadas por dez e pelo inverso da diluição. Cada diluição foi realizada em duplicata, portanto foi realizada uma média entre as duas placas para a obtenção do resultado final (BEUCHAT; COUSIN, 2001).

4.3.7 Contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva

Para contagem de *Staphylococcus*, foram realizadas três diluições (10⁻¹, 10⁻² e 10⁻³), inoculando 0,1 mL de cada diluição na superfície das placas contendo Ágar Baird Parker (BP), que foi suplementado com solução de gema de ovo e telurito de potássio a 1%. O inóculo foi espalhado com o auxílio da alça de Drigalski. As placas foram incubadas invertidas a 35°C por 48 horas, e foram selecionadas, para a contagem, as placas que apresentaram de 20 a 200 colônias, contadas com o auxílio de um contador de colônias. As colônias contadas foram apenas as típicas de *S. aureus*, que são circulares, com 2-3 mm de diâmetro, pretas rodeadas por uma zona opaca e um halo de hidrólise transparente. As colônias atípicas que não são circulares, foram contadas e anotadas separadamente.

Para confirmação, foram selecionadas cinco colônias típicas e cinco atípicas caso houvesse, que foram transferidas para tubos de PCA inclinado e incubadas a 35°C por 24 horas. Após 24 horas foi realizado a coloração de Gram. As que apresentaram

morfologia de cocos gram positivos foram submetidas ao teste da coagulase. Para a realização deste teste, foi pipetado 0,5 mL de Plasma de Coelho EDTA em um tubo vazio estéril, e foi transferida uma alçada da colônia para este tubo, que foi incubado em banho Maria a 37°C e observado de meia em meia hora durante 6 horas a formação do coágulo. Os tubos que formaram coágulo foram considerados coagulase positiva, os que não apresentaram coágulo foram mantidos incubados por mais 24 horas para confirmação.

Para a obtenção dos resultados, foi calculado o número de UFC/g em função do número de colônias contadas, diluição inoculada e percentagem de colônias confirmadas pelo teste bioquímico da coagulase (LANCETTE; BENNETT, 2001).

4.3.8 *Salmonella* spp.

Para a detecção de *Salmonella* nos alimentos, foi usado o método de presença e ausência, para garantir sua detecção até mesmo em condições desfavoráveis. A técnica possui 4 etapas: pré-enriquecimento, enriquecimento seletivo, plaqueamento diferencial e confirmação.

Na etapa de pré-enriquecimento foi utilizado o Caldo Lactosado (CL), onde foram pesados 25 gramas da amostra que foram misturados e homogeneizados no caldo que foi incubado a 35°C por 24 horas.

No enriquecimento seletivo, foram empregados três diferentes meios de enriquecimento: Caldo Selenito Cistina, Caldo Tetracionato e Caldo Rappaport Vassilidis. Foi transferido 1 mL do CL para os Caldos Selenito Cistina e Tetracionato e incubado a 35°C por 24 horas. Já para o Caldo Rappaport, foi transferido 0,1 mL do CL e incubado em banho Maria a 41,5°C por 24 horas.

Na fase de plaqueamento diferencial, foram usados os meios de culturas Ágar *Salmonella Shigella* (SSA) e Ágar Verde Brilhante (BG), onde os inóculos dos três caldos de enriquecimento foram plaqueados pela técnica de esgotamento. Em seguida, as placas foram incubadas a 35°C por 24 horas.

Para a confirmação, foram escolhidas colônias típicas isoladas, que são cremes com centro negro no SSA e vermelhas opacas no BG. Estas colônias foram transferidas para tubos de PCA inclinado e incubadas a 35°C por 24 horas, sendo então submetidas aos testes bioquímicos Ágar Tríplise Açúcar de Ferro (TSIA) e Ágar Lisina

Descarboxilase (LIA). As amostras que obtiveram um perfil bioquímico típico de *Salmonella* foram submetidas à sorologia, empregando anti-soro polivalente somático (ANDREWS; HAMMACK, 2007).

4.3.9 *Bacillus cereus*

Para a determinação de *Bacillus cereus*, foram pesadas duas porções de 10 gramas de amostras cada, e, para a realização das diluições, um dos frascos foi submetido ao choque térmico para determinação e contagem dos esporos caso estes estivessem presentes. Nas placas de *Bacillus cereus* Ágar Base (BCAB) adicionado com solução de gema de ovo e polimixina B, foram inoculados 0,1 mL de cada diluição (10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3}) com e sem choque, espalhando o inóculo por toda a superfície da placa com o auxílio da alça de Drigalski. Em seguida as placas foram incubadas invertidas a 35°C por 48 horas.

Foram selecionadas, para a contagem, as que obtiveram entre 10 e 100 UFC, e consideradas colônias típicas aquelas que apresentaram uma coloração creme com bordas planas e secas e com um halo grande de precipitação devido à reação com a gema de ovo. Os resultados foram obtidos através do cálculo do número de UFC/g em função do número de colônias contadas, multiplicado por 10 e pelo inverso da diluição utilizada (BENNETT; BELAY, 2001).

4.3.10 Clostrídios sulfito redutores

Para a análise de Clostrídios sulfito redutores, foram pesados dois frascos com 10 gramas de amostras cada, e, para a realização das diluições, um deles foi dado um choque térmico para a ativação dos esporos caso estivessem presentes. Essas diluições (10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3}) foram inoculadas em placas de Petri pela técnica de profundidade, pipetando 1 mL do inóculo e 20 mL do Ágar Sulfito de Polimixina Sulfadiazina (SPS) previamente resfriado a 45°C. Assim que as placas solidificaram, foi aplicada uma sobre-camada do Ágar e após a completa solidificação da sobre-camada as placas foram incubadas a 46°C por 48 horas em atmosfera anaeróbia.

Os resultados foram obtidos através de placas contendo entre 20 e 200 colônias e, após a contagem realizada com o auxílio de um contador de colônias, foi multiplicado o número de UFC pelo inverso da diluição utilizada (ANVISA, 2001).

4.4 Teste de susceptibilidade antimicrobiana

As cepas de *Escherichia coli* e *Staphylococcus coagulase positiva*, isoladas de alimentos, água e “swab”, foram submetidas ao teste de susceptibilidade antimicrobiana.

Foi utilizado o método disco difusão, segundo Bauer et al., (1966) onde o inóculo foi preparado na escala 0,5 McFarland e semeados em Ágar Mueller-Hinton (MHA). As amostras foram incubadas a 35°C por 18-24 horas. Para se obter um controle de qualidade dos testes, foram aplicadas as seguintes cepas padrão ATCC (American Type Culture Collection) *Escherichia coli* ATCC 25922 e *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, recomendadas pelo Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), 2012.

As bactérias foram testadas aos seguintes antibióticos, de acordo com a recomendação do CLSI, (2012). As cepas de *Escherichia coli* foram testadas frente à Ampicilina (10µg), Cloranfenicol (30µg), Norfloxacin (10µg), Amicacina (30µg), Ácido clavulânico + Amoxicilina (20/10µg), Nitrofurantoína (300µg), Piperacilina + Tazobactam (100/10µg), Cefepime (30µg), Tetraciclina (30µg), Tobramicina (10µg), Trimetoprim (5µg), Cefoxitina (30µg), Ceftriaxona (30µg), Levofloxacin (5µg), Imipenem (10µg). Para as cepas de *Staphylococcus aureus* foram testados: Azitromicina (15µg), Clindamicina (2µg), Oxacilina (1µg), Penicilina (10 unidades), Sulfa + Trimetoprim (23,75/1,25µg), Linezolida (30µg), Tetraciclina (30µg), Rifampicina (5µg), Cloranfenicol (30µg), Ciprofloxacina (5µg), Gentamicina (10µg), Norfloxacin (10µg), Nitrofurantoína (300µg) e Trimetoprim (5µg). Com o auxílio de uma régua milimetrada foi medido o diâmetro do halo de inibição, assim as cepas foram classificadas de acordo com a dimensão do halo em sensíveis, intermediárias e resistentes, de acordo com as recomendações do CLSI (2012).

4.5 Análise parasitológica

Para análises parasitológicas, foram avaliadas amostras de água, os alimentos crus e o swab de mãos. Foram realizadas de acordo com a metodologia de Ritchie (1948) modificada, que consistiu na centrifugação da água por 1 minuto a 1.500 rpm, descartou-se o sobrenadante e os parasitas presentes no sedimento foram pesquisados.

Para tanto, o sedimentado foi ressuspenso com 2 gotas de lugol, que foi colocado uma lâmina, e uma lamínula por cima da gota e observado em um microscópio óptico.

Para a análise dos alimentos crus, foram utilizadas luvas cirúrgicas, e as amostras de alimentos crus foram lavadas em um recipiente estéril com água destilada, em seguida o alimento foi desprezado e a água foi colocada em tubos através de pipetas de Pasteur e realizado o mesmo passo anterior.

4.6 Questionário aplicado às manipuladoras

O questionário aplicado às manipuladoras continha 40 questões com respostas escritas e alternativas para avaliar os conhecimentos, atitudes e práticas de 12 manipuladoras da cozinha piloto. Cada manipuladora recebeu um questionário (apêndice 1), que foi respondido individualmente. As questões foram formuladas de acordo com informações que são necessárias ao conhecimento de um manipulador e por observações realizadas no dia-a-dia das manipuladoras.

Todas as manipuladoras participantes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). As respostas foram avaliadas como acertos ou erros.

4.7 Check list

O check list foi aplicado na cozinha piloto, onde eram preparadas as merendas escolares, consistiu em um questionário para avaliar as Boas Práticas de Fabricação (BPF), que foi realizado de acordo com a RDC 275 de 21 de outubro de 2002 e a RDC 216 de 15 de setembro de 2004 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Esta tem como objetivo estabelecer procedimentos de Boas Práticas para serviços de alimentação a fim de garantir as condições higiênico-sanitárias do alimento preparado. O check list inicial foi aplicado em fevereiro de 2013 e o check list final em novembro de 2013.

As respostas foram preenchidas com Sim, se foi atendido ao item observado e Não, se não foi atendido ao item observado. O check list foi composto por 80 itens divididos em 5 categorias incluindo avaliação da edificação e das instalações; sanitização; equipamentos em geral; recursos humanos e avaliação de produção e transporte do alimento.

Este check list foi preenchido de acordo com perguntas feitas aos manipuladores, ao responsável pela cozinha e por observações realizadas durante a visita.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Coliformes totais

Os resultados obtidos nas análises de coliformes totais estão apresentados nas Tabelas 1 e 2.

Tabela 1. Resultados obtidos após determinação do NMP/g de coliformes totais na Cozinha piloto, Escola A, Escola C, Escola O e Escola V

Coliformes totais (NMP/g)					
Amostras	Cozinha Piloto	Escola A	Escola C	Escola O	Escola V
Coleta dia 09/04/2013					
Arroz sírio	<3	7,4	23	93	75
Salada de tomate	>1.100	1.100	240	460	150
Coleta dia 18/04/2013					
Arroz colorido	<3	<3	1.100	<3	460
Repolho e tomate	240	1.100	210	240	1.100
Coleta dia 05/11/2013					
Galinhada	<3	<3	<3	<3	<3
Salada de tomate	150	1.100	240	>1.100	<3
Padrão Federal Brasil 2001			Ausência de padrão		

Tabela 2. Resultados obtidos após determinação do NMP/g de coliformes totais na Cozinha piloto, Creche D e Creche I

Coliformes totais (NMP/g)			
Coleta dia 26/02/2013			
Amostras	Cozinha Piloto	Creche D	Creche I
Arroz	<3	<3	<3
Feijão	<3	<3	<3
Carne de porco	<3	14	43
Repolho com cenoura	>1.100	240	43
Coleta dia 05/03/2013			
Arroz	<3	<3	<3
Feijão	<3	23	<3
Carne com batata	<3	<3	<3
Salada de alface	>1.100	43	15
Coleta dia 12/03/2013			
Arroz	<3	<3	<3
Feijão	<3	<3	<3
Linguiça calabresa	<3	<3	<3
Salada de alface	>1.100	240	1.100
Coleta dia 26/03/2013			
Arroz	<3	<3	<3
Feijão	<3	23	9,2
Linguiça de frango	<3	<3	<3
Repolho com cenoura	>1.100	210	>1.100
Coleta dia 03/04/2013			
Arroz	<3	240	<3
Feijão	<3	<3	<3
Frango assado	<3	3,6	<3
Repolho com cenoura	>1.100	210	210
Coleta dia 12/11/2013			
Arroz	<3	460	<3
Feijão	<3	<3	<3
Linguiça de frango	<3	<3	<3
Salada de alface	>1.100	>1.100	>1.100
Padrão Federal Brasil 2001	Ausência de padrão		

De acordo com os resultados obtidos nas Tabelas 1 e 2, foi verificada maior contagem de bactérias nas saladas, o que pode ser explicado por ser um alimento cru, que tem a contaminação facilitada devido ao contato direto com o solo ou até mesmo causado pela falta de higiene do manipulador e higienização no alimento. Observaram-se menores contagens de bactérias nas saladas das escolas em comparação com a cozinha piloto. Acredita-se que essa diminuição da contaminação seja devido ao vinagre, pois essas saladas são temperadas apenas nas escolas momentos antes de serem servidas aos alunos. O estudo de Sengun e Karapinar (2005) concluíram que o vinagre causa uma redução significativa da carga microbiana presente no alimento. A presença de coliformes totais nas 14 amostras (escolas e creches) que passaram pelo processo de cozimento pode ser resultado de uma contaminação pós-processamento, pois os coliformes totais são facilmente destruídos pelo calor, e as amostras coletadas logo após seu preparo na cozinha piloto não apresentaram crescimento de bactérias. As contagens variaram de 3,6 a 1.100 NMP/g. Das 102 amostras avaliadas 17 (16,7%) apresentaram contagem igual ou superior a 1.100 UFC/g, o que demonstra uma deficiência das condições higiênico-sanitárias do local devido aos resultados tão altos.

No período de 1996 a 2004, a Administração de Alimentos e Drogas (FDA) respondeu a 14 surtos de doenças transmitidas por alimentos, nos quais alfaces ou tomates foram confirmados como a fonte de contaminação, onde haviam 859 casos da doença relatados. Em 2011, o Comitê Consultivo para a Segurança Microbiológica de Alimentos (ACMSF) informou que no Reino Unido houve 531 casos de morbidade devido o consumo de frutas e vegetais, incluindo um óbito (GOODBURN; WALLACE, 2013).

5.2 Coliformes termotolerantes

Os resultados se apresentam nas Tabelas 3 e 4.

Tabela 3. Resultados obtidos após a determinação do NMP/g de coliformes termotolerantes na Cozinha piloto, Escola A, Escola C, Escola O e Escola V

Coliformes termotolerantes (NMP/g)					
Coleta dia 09/04/2013					
Amostras	Cozinha Piloto	Escola A	Escola C	Escola O	Escola V
Arroz sírio	<3	<3	9,2	9,2	3,6
Salada de tomate	<3	<3	<3	21	<3
Coleta dia 18/04/2013					
Arroz colorido	<3	<3	<3	<3	<3
Repolho e tomate	<3	<3	<3	<3	<3
Coleta dia 05/11/2013					
Galinhada	<3	<3	<3	<3	<3
Salada de tomate	<3	3,6	<3	<3	<3
Padrão Federal Brasil 2001		10² NMP/g			
					2x10 NMP/g para carnes assadas e cozidas

Tabela 4. Resultados obtidos após determinação do NMP/g de coliformes termotolerantes na Cozinha piloto, Creche D e Creche I

Coliformes termotolerantes (NMP/g)			
Coleta dia 26/02/2013			
Amostras	Cozinha Piloto	Creche D	Creche I
Arroz	<3	<3	<3
Feijão	<3	<3	<3
Carne de porco	<3	<3	<3
Repolho com cenoura	20	<3	3,6
Coleta dia 05/03/2013			
Arroz	<3	<3	<3
Feijão	<3	<3	<3
Carne com batata	<3	<3	<3
Salada de alface	23	15	<3
Coleta dia 12/03/2013			
Arroz	<3	<3	<3
Feijão	<3	<3	<3
Linguiça calabresa	<3	<3	<3
Salada de alface	<3	<3	3,6
Coleta dia 26/03/2013			
Arroz	<3	<3	<3
Feijão	<3	<3	<3
Linguiça de frango	<3	<3	<3
Repolho com cenoura	28	<3	240
Coleta dia 03/04/2013			
Arroz	<3	<3	<3
Feijão	<3	<3	<3
Frango assado	<3	<3	<3
Repolho com cenoura	<3	<3	<3
Coleta dia 12/11/2013			
Arroz	<3	<3	<3
Feijão	<3	<3	<3
Linguiça de frango	<3	<3	<3
Salada de alface	9,2	3,6	9,2
Padrão Federal Brasil 2001	10² NMP/g		
	2x10 NMP/g para carnes assadas e cozidas		

Em referência a RDC de 02 de janeiro de 2001 apenas uma amostra que corresponde a 1% do total de amostras coletadas e analisadas, não atendeu ao padrão quanto aos coliformes termotolerantes, este resultado pode ser explicado pela qualidade microbiológica inadequada das mãos dos manipuladores, do alimento, dos utensílios que entraram em contato com a salada como, por exemplo, a vasilha e o talher, e até mesmo devido a um transporte inadequado do alimento.

Da mesma forma Santana et al. (2009) encontraram coliformes termotolerantes nas saladas de alface com cenoura e tomate da merenda escolar de escolas públicas de Salvador - BA. Sospedra et al. (2013) também coletaram várias amostras de alimentos, onde seus resultados mostraram que as amostras de alface e tomate foram os vegetais que mais apresentaram contaminação por enterobactérias, estando estes microorganismos em menor quantidade no arroz (13%). De acordo com os autores, as falhas de higiene na manipulação de alimentos têm contribuído para a contaminação dos alimentos, o que também é apresentado neste estudo, o que poderá causar surtos de intoxicação alimentar, sendo estes ainda mais graves se causados pela *E. coli* que pode estar presente.

5.3 *Escherichia coli*

Os resultados se apresentam na Tabela 5.

Tabela 5. Resultados obtidos após pesquisa de *Escherichia coli* na Cozinha piloto, Creche D, Creche I, Escola C, Escola O e Escola V

<i>Escherichia coli</i>			
Amostras	Local	Termotolerantes	<i>E. coli</i>
Repolho com cenoura	Cozinha piloto	20 NMP/g	Ausente
Salada de alface	Cozinha piloto	23 NMP/g	Presente
Repolho com cenoura	Cozinha piloto	28 NMP/g	Ausente
Salada de alface	Cozinha piloto	9,2 NMP/g	Ausente
Salada de alface	Creche D	15 NMP/g	Ausente
Salada de alface	Creche D	3,6 NMP/g	Ausente
Repolho com cenoura	Creche I	3,6 NMP/g	Ausente
Salada de alface	Creche I	3,6 NMP/g	Presente
Repolho com cenoura	Creche I	240 NMP/g	Presente
Salada de alface	Creche I	9,2 NMP/g	Ausente
Arroz sírio	Escola C	9,2 NMP/g	Ausente
Arroz sírio	Escola O	9,2 NMP/g	Ausente
Salada de tomate	Escola O	21 NMP/g	Ausente
Arroz sírio	Escola V	3,6 NMP/g	Ausente
Salada de tomate	Escola A	3,6 NMP/g	Ausente
Padrão Federal Brasil 2001			Ausência

Das 15 amostras que apresentaram coliformes termotolerantes, 3 (20%) foram confirmadas para presença de *E. coli*, não atendendo aos padrões estabelecidos, que estipulam ausência deste micro-organismo. Da mesma forma, Sospedra et al. (2013) também encontraram *E. coli* em 6,6% amostras de alface que foram coletadas em restaurantes na Espanha. Devido à detecção de *E. coli* apenas nas creches e na cozinha, foram coletadas mais amostras destes locais, com o objetivo de uma maior e melhor aplicação das Boas Práticas na cozinha e nas creches, evitando assim a presença deste micro-organismo.

Em 2006, nos Estados Unidos, houve um surto de *E. coli* O157:H7 devido ao espinafre contaminado, envolvendo 276 casos, sendo três mortes relatadas. Em maio de 2011, a Alemanha relatou um surto de Shiga-toxina produzindo *E. coli* (STEC), o sorotipo O104: H4. No final do surto 3.785 casos da doença e 45 mortes foram relatados na Alemanha. Outras doenças e mortes referidas a este surto foram relatadas fora da Alemanha, onde mais tarde foi descoberto que os veículos do surto foram brotos de feijão (GOODBURN; WALLACE, 2013). No Brasil, além dos vários surtos notificados, ainda há uma grande dificuldade de conscientização quanto ao relato destes surtos, como mostra os dados de Brasil, 2013 com um total de 46,31% de casos ignorados dos agentes etiológicos associados aos surtos de DTA de 2000 a 2013.

De acordo com a legislação brasileira, os alimentos contaminados com *E. coli* são impróprios para o consumo. No entanto estes estão sendo ingeridos por crianças diariamente, podendo causar graves doenças e até óbitos. Esses resultados sugerem um maior cuidado na aquisição da matéria-prima utilizada, manipulação, condições de higiene do alimento, das superfícies de contato, do transporte e tipo de armazenagem.

5.4 *Staphylococcus* coagulase positiva

Os resultados da pesquisa de *Staphylococcus* se apresentam nas Tabelas 6 e 7.

Tabela 6. Resultados obtidos da contagem de UFC/g de *Staphylococcus* spp. na cozinha e escolas

<i>Staphylococcus</i> spp. (UFC/g)					
Coleta dia 09/04/2013					
Amostras	Cozinha Piloto	Escola A	Escola C	Escola O	Escola V
Arroz sírio	<100	<100	0,5x10 ² (-)	<100	<100
Coleta dia 18/04/2013					
Arroz colorido	1x10 ⁴ (-)	9,1x10 ⁴ (-)	6x10 ⁴ (-)	1x10 ⁵ (-)	1,8x10 ⁵ (-)
Coleta dia 05/11/2013					
Galinhada	2x10 ² (+)	1x10 ² (+)	3x10 ² (+)	2x10 ² (+)	5x10 ¹ (+)
Padrão Federal Brasil 2001		10³ UFC/g para <i>Staphylococcus</i> coagulase (+)			

Legenda: (+) Teste de coagulase positivo, (-) Teste de coagulase negativo.

Tabela 7. Resultados obtidos da contagem de *Staphylococcus* spp. (UFC/g) na Cozinha piloto, Creche D e Creche I

<i>Staphylococcus</i> spp. (UFC/g)			
Coleta dia 26/02/2013			
Amostras	Cozinha Piloto	Creche D	Creche I
Arroz	<100	1,5x10 ² (-)	<100
Feijão	<100	<100	<100
Carne de porco	<100	<100	<100
Coleta dia 05/03/2013			
Arroz	<100	<100	1x10 ² (-)
Feijão	<100	<100	<100
Carne com batata	<100	<100	<100
Coleta dia 12/03/2013			
Arroz	0,5x10 ² (-)	3x10 ² (-)	1x10 ² (-)
Feijão	0,5x10 ² (-)	1x10 ² (-)	3x10 ² (-)
Linguiça calabresa	<100	1x10 ² (-)	1,5x10 ² (-)
Coleta dia 26/03/2013			
Arroz	<100	<100	<100
Feijão	<100	<100	<100
Linguiça de frango	<100	<100	<100
Coleta dia 03/04/2013			
Arroz	<100	1,9x10 ⁴ (-)	<100
Feijão	<100	<100	<100
Frango assado	<100	4x10 ⁴ (-)	<100
Coleta dia 12/11/2013			
Arroz	6x10 ³ (+)	<100	5x10 ³ (+)
Feijão	<100	<100	<100
Linguiça de frango	<100	<100	<100
Padrão Federal Brasil 2001	10³ UFC/g para <i>Staphylococcus coagulase</i> (+)		

Legenda: (+) Teste de coagulase positivo, (-) Teste de coagulase negativo.

Neste estudo foram encontradas 7 amostras de *Staphylococcus coagulase* positiva, que correspondem a 10,1% do total de amostras coletadas. Duas amostras (2,9%) ultrapassaram o padrão recomendado pela ANVISA, apresentando contagem superior a 10^3 . Este resultado pode ter sido ocasionado por alguns fatores como à má higiene do manipulador e manipulação inadequada do alimento.

Também foi detectado *Staphylococcus coagulase* negativa em 18 amostras, com contagens de $0,5 \times 10^2$ a $1,8 \times 10^5$ UFC/g que correspondem a 26,1% de amostras fora do padrão. A ANVISA não possui padrões de contagem para *Staphylococcus coagulase* negativa, porém deve-se evitar sua presença. Estudos realizados por Freitas et al. (2009) detectaram a presença de genes toxigênicos de *Staphylococcus* spp. isolados de queijo de coalho, o que nos mostra que pode ter ocorrência de vários genes toxigênicos em amostras de *Staphylococcus coagulase* negativa, fato este preocupante por poder causar doenças nos seres humanos.

Ryu et al. (2011) ao analisarem amostras de sopas, saladas e frutas servidas em escolas do ensino fundamental na Coréia, não encontraram este micro-organismo em nenhuma das amostras investigadas.

Por outro lado, Kotzekidou (2013a) encontrou *Staphylococcus aureus* em 12,5% das sobremesas com creme de leite e em 11% dos sanduíches de cantinas universitárias, resultado semelhante a este estudo quanto a presença do micro-organismo, porém são tipos diferentes de alimentos .

Da mesma forma, como foi encontrado *Staphylococcus coagulase* positiva nas amostras de arroz nesta pesquisa, Santana et al. (2009), investigando refeições servidas em escolas, mostraram que dentre as amostras coletadas que eram arroz e almôndegas também obtiveram resultados de contaminação por *Staphylococcus coagulase* positiva, com contagens maiores do que os padrões estabelecidos pela ANVISA, onde em ambos os estudos estes resultados podem ter sido ocasionados devido a má qualidade microbiológica das mãos das manipuladoras que prepararam o arroz, podendo assim causar graves doenças às crianças.

5.5 *Salmonella* spp.

Foram pesquisadas 102 amostras de alimentos para presença de *Salmonella* estando estas de acordo com os padrões estabelecidos pela legislação que determinam a ausência deste micro-organismo em 25 gramas do alimento (BRASIL, 2001). Da mesma forma, Marzano e Balzaretto (2011) não encontraram este micro-organismo em amostras de alimentos de restaurantes. Em pesquisas realizadas por Oliveira et al. (2013) em alimentos servidos em escolas públicas de Porto Alegre, também observou-se a ausência de *Salmonella* spp. nos alimentos.

No entanto, Duarte et al. (2009) encontraram amostras positivas para *Salmonella* spp. em 9,6% de carcaças de frango, onde a *Salmonella* Enteritidis foi o sorotipo mais frequente, o que é um resultado muito grave. Faustino et al. (2007) realizaram pesquisas em alimentos suspeitos de DTA, onde 30,7% das amostras foram condenadas devido a presença de *Salmonella* sp. em mousse de clara de ovos e bolo de chocolate. Em avaliações realizadas no restaurante e na cantina de uma universidade, das 343 amostras analisadas Kotzekidou (2013b) encontrou apenas 1 (0,3%) positiva para *Salmonella* spp., o alimento acusado foi uma torta congelada.

5.6 *Bacillus cereus*

Os resultados da contagem de *Bacillus cereus* se apresentam nas Tabelas 8 e 9.

Tabela 8. Resultados obtidos da contagem de UFC/g de *Bacillus cereus* na cozinha e escolas

<i>Bacillus cereus</i> (UFC/g)					
Coleta dia 09/04/2013					
Amostras	Cozinha Piloto	Escola A	Escola C	Escola O	Escola V
Arroz sírio	<100	<100	<100	<100	<100
Coleta dia 18/04/2013					
Arroz colorido	<100	<100	<100	<100	<100
Coleta dia 05/11/2013					
Galinhada	<100	<100	<100	<100	<100
Padrão Federal Brasil 2001			10³ UFC/g		

Tabela 9. Resultados obtidos na contagem de UFC/g de *Bacillus cereus* na cozinha e creches

<i>Bacillus cereus</i> (UFC/g)			
Coleta dia 26/02/2013			
Amostras	Cozinha Piloto	Creche D	Creche I
Arroz	<100	<100	<100
Feijão	<100	<100	<100
Carne de porco	<100	<100	<100
Coleta dia 05/03/2013			
Arroz	<100	<100	<100
Feijão	<100	<100	<100
Carne com batata	<100	<100	<100
Coleta dia 12/03/2013			
Arroz	<100	2×10^2	<100
Feijão	<100	<100	<100
Linguiça calabresa	<100	<100	<100
Coleta dia 26/03/2013			
Arroz	<100	<100	<100
Feijão	<100	<100	<100
Linguiça de frango	<100	<100	<100
Coleta dia 03/04/2013			
Arroz	<100	<100	<100
Feijão	<100	<100	<100
Frango assado	<100	<100	<100
Coleta dia 12/11/2013			
Arroz	<100	<100	<100
Feijão	<100	<100	<100
Linguiça de frango	<100	<100	<100
Padrão Federal Brasil 2001	10^3 UFC/g		

Todas as 69 (100%) amostras analisadas estavam dentro dos padrões estabelecidos pela legislação, porém uma (1,4%) amostra apresentou contagem de 2×10^2

UFC/g. Estudos realizados por Chaves, Pires e Vivoni (2011) sobre diversidade genética, em relação ao perfil toxigênico de *Bacillus cereus* isolados de alimentos, sugerem que a maioria das estirpes presentes em vários tipos de alimentos no Brasil apresentam um potencial risco de provocar intoxicação alimentar, devido à elevada prevalência dos genes de toxinas encontrados nestas estirpes. Aragon-Alegro et al., (2008) também confirmaram que todas as cepas de *Bacillus cereus*, investigadas em vários alimentos no Brasil, apresentaram capacidade toxigênica podendo representar um risco para os consumidores, quando as boas práticas de fabricação não forem seguidas.

Passos et al. (2008) não detectaram a presença de *Bacillus cereus* nas amostras de alimentos investigados no surto de toxinfecção alimentar ocorrido com funcionários de uma empreiteira da construção civil no município de Cubatão, São Paulo.

Ao contrário, pesquisas realizadas em cantinas universitárias, Kotzekidou (2013a) encontrou bactéria patogênica *B. cereus* em 31,8% dos bolos congelados. Ryu et al. (2011) também encontraram *Bacillus cereus* em uma amostra de alimento servida em escola da Coreia. De 80 surtos de DTAs ocorridos no Distrito Federal, *Bacillus cereus* foi o agente mais identificado, 41,2% (NUNES; MOTA; CALDAS, 2013).

5.7 Clostrídios sulfito redutores

Para a análise de Clostrídios sulfito redutores, todas as amostras apresentaram contagens <10 UFC/g do micro-organismo, atendendo aos padrões estabelecidos pela legislação brasileira que determina contagens inferiores a 10^3 UFC/g deste micro-organismo no alimento (BRASIL, 2001). Os mesmos resultados foram encontrados por Vieira et al. (2005), tendo avaliado a qualidade microbiológica em relação a este grupo microbiano em preparações a base de carne servidas em nove escolas de Poços de Caldas, MG.

Já um surto investigado por Dailey et al. (2012) ocorrido na Carolina do Norte, com participantes de uma conferência, confirmaram que *Clostridium perfringens* foi o causador do surto, onde participantes disseram que o frango servido estava mal cozido. Daelman et al. (2013) realizaram análises nos alimentos de uma empresa para gestão da segurança alimentar da mesma, e detectaram a presença de Clostrídios sulfito redutores em 1,94% das 258 amostras analisadas.

5.8 Análise de água

Os resultados das análises de água encontram-se nas Tabelas 10, 11, 12 e 13.

Tabela 10. Resultados após contagem de heterotróficos/bolores e leveduras (UFC/mL) e coliformes totais (NMP/mL) e coliformes totais (NMP/mL) na cozinha piloto

Análise de água – Cozinha Piloto						
Data da coleta	Amostra	Contagem de Heterotróficos	Coliformes totais	Coliformes termotolerantes	Bolores e Leveduras	
27/04/2012	Caixa	1,1x10 ² UFC/mL	7,8 NMP/100 mL	<2NMP/100 mL	1x10 ¹ UFC/mL	
27/04/2012	Rua	1,4x10 ² UFC/mL	<2NMP/100 mL	<2NMP/100 mL	3,9x10 ² UFC/mL	
27/04/2012	Poço art	1,8x10 ¹ UFC/mL	<2NMP/100 mL	<2NMP/100 mL	9,5x10 ¹ UFC/mL	
19/12/2012	Caixa	8,6x10 ¹ UFC/mL	<2NMP/100 mL	<2NMP/100 mL	<10 UFC/mL	
19/12/2012	Rua	9x10 ⁰ UFC/mL	<2NMP/100 mL	<2NMP/100 mL	5x10 ⁰ UFC/mL	
19/12/2012	Poço art	4x10 ⁰ UFC/mL	<2NMP/100 mL	<2NMP/100 mL	5x10 ⁰ UFC/mL	
Padrão Federal Brasil, 2011		5x10² UFC/mL	Ausência em 100 ml	Ausência em 100 ml	Ausência de padrão	

Tabela 11. Resultados após contagem de heterotróficos/bolores e leveduras (UFC/mL) e coliformes totais (NMP/mL) na cozinha piloto, no tempo zero e após fluxo de 2 minutos da água

Análise de água – Cozinha Piloto				
Data da coleta	Amostra	Contagem de Heterotróficos	Coliformes totais	Bolores e Leveduras
23/09/2013	Caixa t ₀	1,6x10 ³ UFC/mL	<2NMP/100 mL	2x10 ² UFC/mL
23/09/2013	Rua t ₂	3x10 ¹ UFC/mL	<2NMP/100 mL	1x10 ² UFC/mL
23/09/2013	Poço t ₀	2x10 ⁴ UFC/mL	<2NMP/100 mL	4x10 ¹ UFC/mL
23/09/2013	Caixa t ₂	9x10 ¹ UFC/mL	<2NMP/100 mL	1x10 ¹ UFC/mL
23/09/2013	Rua t ₀	4x10 ³ UFC/mL	<2NMP/100 mL	3x10 ¹ UFC/mL
23/09/2013	Poço t ₂	2x10 ³ UFC/mL	<2NMP/100 mL	2x10 ¹ UFC/mL
Padrão Federal Brasil, 2011		5x10² UFC/mL	Ausência em 100 ml	Ausência de padrão

Legenda: (t₀) água coletada em tempo zero, (t₂) após fluxo de 2 min da água

Tabela 12. Resultados após contagem de heterotróficos/bolores e leveduras (UFC/mL) e coliformes totais (NMP/mL) nas escolas

Análise de água – Escolas				
Data da coleta	Amostra	Contagem de Heterotróficos	Coliformes totais	Bolores e Leveduras
27/04/2012	Caixa EA	1,9x10 ¹ UFC/mL	<2NMP/100 mL	2,5x10 ¹ UFC/mL
27/04/2012	Rua EA	7,8x10 ¹ UFC/mL	<2NMP/100 mL	<10 UFC/mL
27/04/2012	Caixa EO	5x10 ⁰ UFC/mL	<2NMP/100 mL	1,3x10 ² UFC/mL
27/04/2012	Rua EO	9x10 ⁰ UFC/mL	<2NMP/100 mL	5x10 ¹ UFC/mL
27/04/2012	Caixa EV	4x10 ⁰ UFC/mL	<2NMP/100 mL	3x10 ¹ UFC/mL
27/04/2012	Rua EV	2x10 ² UFC/mL	<2NMP/100 mL	9,5x10 ¹ UFC/mL
27/04/2012	Caixa CD	1,6x10 ² UFC/mL	<2NMP/100 mL	1x10 ² UFC/mL
27/04/2012	Rua CD	2,4x10 ¹ UFC/mL	<2NMP/100 mL	7x10 ¹ UFC/mL
27/04/2012	Caixa CI	7,5x10 ⁰ UFC/mL	<2NMP/100 mL	1,1x10 ² UFC/mL
27/04/2012	Rua CI	5x10 ⁰ UFC/mL	<2NMP/100 mL	4,4x10 ² UFC/mL
27/04/2012	Caixa EC	2x10 ⁰ UFC/mL	<2NMP/100 mL	3,5x10 ¹ UFC/mL
27/04/2012	Rua EC	3,5x10 ¹ UFC/mL	<2NMP/100 mL	5,5x10 ¹ UFC/mL
19/12/2012	Caixa EA	1x10 ⁰ UFC/mL	<2NMP/100 mL	<10 UFC/mL
19/12/2012	Rua EA	<1 UFC/mL	<2NMP/100 mL	5x10 ⁰ UFC/mL
19/12/2012	Caixa EO	3,6x10 ¹ UFC/mL	<2NMP/100 mL	<10 UFC/mL
19/12/2012	Rua EO	<1 UFC/mL	<2NMP/100 mL	5x10 ⁰ UFC/mL
19/12/2012	Caixa EV	3,3x10 ¹ UFC/mL	<2NMP/100 mL	<10 UFC/mL
19/12/2012	Rua EV	1x10 ⁰ UFC/mL	<2NMP/100 mL	5x10 ⁰ UFC/mL
19/12/2012	Caixa CD	2,3x10 ¹ UFC/mL	<2NMP/100 mL	5x10 ⁰ UFC/mL
19/12/2012	Rua CD	2x10 ⁰ UFC/mL	<2NMP/100 mL	<10 UFC/mL
19/12/2012	Caixa CI	4,2x10 ² UFC/mL	<2NMP/100 mL	<10 UFC/mL
19/12/2012	Rua CI	3,4x10 ¹ UFC/mL	<2NMP/100 mL	<10 UFC/mL
19/12/2012	Caixa EC	1x10 ⁰ UFC/mL	<2NMP/100 mL	<10 UFC/mL
19/12/2012	Rua EC	2x10 ⁰ UFC/mL	<2NMP/100 mL	5x10 ⁰ UFC/mL
Padrão Federal Brasil, 2011		5x10² UFC/mL	Ausência em 100 ml	Ausência de padrão

Tabela 13. Resultados após contagem de heterotróficos/bolores e leveduras (UFC/mL) e coliformes totais (NMP/mL) nas escolas, no tempo zero e após fluxo de 2 minutos da água

Data da coleta	Análise de água – Escolas					
	Amostra	Contagem de Heterotróficos	Coliformes totais	Coliformes termotolerantes	<i>Escherichia coli</i>	Bolores e Leveduras
29/10/2013	Caixa EA t ₀	2x10 ³ UFC/mL	4,5 NMP/100 mL	23 NMP/100 mL	Presente	2x10 ³ UFC/mL
29/10/2013	Caixa EA t ₂	7.8x10 ¹ UFC/mL	6,8 NMP/100 mL	11 NMP/100 mL	Presente	2x10 ¹ UFC/mL
29/10/2013	Rua EA t ₀	4 UFC/mL	<2NMP/100 mL	<2NMP/100 mL	Ausente	<10 UFC/mL
29/10/2013	Rua EA t ₂	1x10 ¹ UFC/mL	<2NMP/100 mL	<2NMP/100 mL	Ausente	5 UFC/mL
23/09/2013	Caixa OB t ₀	2 UFC/mL	<2NMP/100 mL	<2NMP/100 mL	Ausente	2x10 ¹ UFC/mL
23/09/2013	Caixa OB t ₂	2 UFC/mL	<2NMP/100 mL	<2NMP/100 mL	Ausente	2x10 ¹ UFC/mL
23/09/2013	Rua OB t ₀	8x10 ² UFC/mL	<2NMP/100 mL	<2NMP/100 mL	Ausente	9x10 ¹ UFC/mL
23/09/2013	Rua OB t ₂	7x10 ¹ UFC/mL	<2NMP/100 mL	<2NMP/100 mL	Ausente	2x10 ¹ UFC/mL
29/10/2013	Caixa VB t ₀	3x10 ² UFC/mL	<2NMP/100 mL	<2NMP/100 mL	Ausente	<10 UFC/mL
29/10/2013	Caixa VB t ₂	4x10 ¹ UFC/mL	<2NMP/100 mL	<2NMP/100 mL	Ausente	<10 UFC/mL
29/10/2013	Rua VB t ₀	1x10 ² UFC/mL	<2NMP/100 mL	<2NMP/100 mL	Ausente	<10 UFC/mL
29/10/2013	Rua VB t ₂	<1 UFC/mL	<2NMP/100 mL	<2NMP/100 mL	Ausente	<10 UFC/mL
29/10/2013	Caixa CD t ₀	1x10 ² UFC/mL	<2NMP/100 mL	<2NMP/100 mL	Ausente	5x10 ¹ UFC/mL
29/10/2013	Caixa CD t ₂	3 UFC/mL	<2NMP/100 mL	<2NMP/100 mL	Ausente	<10 UFC/mL
29/10/2013	Rua CD t ₀	6 UFC/mL	<2NMP/100 mL	<2NMP/100 mL	Ausente	1x10 ² UFC/mL
29/10/2013	Rua CD t ₂	<1 UFC/mL	<2NMP/100 mL	<2NMP/100 mL	Ausente	5 UFC/mL
29/10/2013	Caixa CI t ₀	6x10 ¹ UFC/mL	<2NMP/100 mL	<2NMP/100 mL	Ausente	<10 UFC/mL
29/10/2013	Caixa CI t ₂	2x10 ² UFC/mL	<2NMP/100 mL	<2NMP/100 mL	Ausente	2x10 ¹ UFC/mL
29/10/2013	Rua CI t ₀	3x10 ¹ UFC/mL	<2NMP/100 mL	<2NMP/100 mL	Ausente	5 UFC/mL
29/10/2013	Rua CI t ₂	6x10 ² UFC/mL	2NMP/100 mL	<2NMP/100 mL	Ausente	<10 UFC/mL
23/09/2013	Caixa EC t ₀	3x10 ² UFC/mL	<2NMP/100 mL	<2NMP/100 mL	Ausente	2x10 ¹ UFC/mL
23/09/2013	Caixa EC t ₂	5x10 ¹ UFC/mL	<2NMP/100 mL	<2NMP/100 mL	Ausente	3x10 ¹ UFC/mL
23/09/2013	Rua EC t ₀	2x10 ² UFC/mL	<2NMP/100 mL	<2NMP/100 mL	Ausente	3x10 ¹ UFC/mL
23/09/2013	Rua EC t ₂	8x10 ¹ UFC/mL	<2NMP/100 mL	<2NMP/100 mL	Ausente	6x10 ¹ UFC/mL
Padrão Federal Brasil, 2011						
		5x10 ² UFC/mL	Ausência em 100 ml	Ausência em 100 ml	Ausência em 100 ml	Ausência de padrão

Legenda: (t₀) água coletada em tempo zero, (t₂) após fluxo de 2 min da água

Para contagem de bactérias heterotróficas, das 60 amostras analisadas 7 (11,7%) estavam em desacordo com os padrões estabelecidos pela portaria número 2.914 de 12 de dezembro de 2011, que preconiza os padrões microbiológicos da água para o consumo humano, sendo o limite de 5×10^2 UFC/ml. Das amostras com resultados fora do padrão, 5 (8,3%) foram coletadas no tempo 0 (primeiro fluxo de água da torneira) e 2 (3,3%) após 2 minutos do fluxo de água. Assim, o primeiro jato de água que saiu da torneira apresentou maior contaminação de bactérias heterotróficas em relação à coletada após 2 minutos do fluxo de água, isto pode ter acontecido devido o encanamento ser velho e assim formar biofilmes microbianos.

Já para coliformes totais, 4 amostras (6,7%) não atenderam aos padrões estabelecidos pela legislação, que estabelece ausência em 100 mL de água. Estas amostras foram testadas para coliformes termotolerantes e *E. coli*, estando também em desacordo com a legislação, onde estavam presentes em 2 amostras (3,3%).

Apesar de não termos padrões na legislação brasileira para contagem de bolores e leveduras na água, foi realizada a pesquisa destes micro-organismos, pois estes possuem a capacidade de produzir micotoxinas, e sua contagem elevada indica um padrão sanitário baixo, sendo assim, contagens elevadas devem ser evitadas. Foi detectada a presença de fungos em 43 amostras (71,7%), sendo que a maior contagem foi de $4,4 \times 10^2$ UFC/ml.

Estes resultados constataram o perigo da contaminação dos alimentos e utensílios, e principalmente dos alimentos que são servidos crus, uma vez que essa água é utilizada na higienização dos mesmos. Já a amostra 4 do bebedouro da escola A apresentou um resultado muito grave com a presença da bactéria *Escherichia coli*, podendo causar graves doenças às crianças que ingerem esta água.

Hedayati et al. (2011), analisaram água da torneira de hospitais e obtiveram resultados semelhantes a este estudo onde foi detectado o crescimento de fungos em 77,5% das amostras, sendo que foram identificados 12 gêneros diferentes. Heinrichs et al. (2013) também observaram uma fonte potencial de fungos na água para beber e na água da torneira, coletados de diferentes sistemas de distribuição de água em uma cidade na Alemanha.

Nunes, Mota e Caldas (2013), ao avaliarem a qualidade microbiológica da água do Distrito Federal, obtiveram contagens de heterotróficos dentro dos padrões

estabelecidos, no entanto, houve presença de coliformes totais em 5,2% das amostras analisadas, e coliformes termotolerantes em 1,4% das amostras, estando estes ausentes para *E. coli*.

5.9 Avaliação de swab de mãos

Foram analisados swab das mãos das manipuladoras da cozinha piloto, estes foram identificados com a data da coleta e um número para representar cada manipuladora. Os resultados se apresentam na Tabela 14.

Tabela 14. Resultados após avaliação de swab de mãos das manipuladoras

Análise de swab de mãos				
Data	Amostra	<i>Staphylococcus</i> spp. (UFC/mãos)	Coliformes totais (NMP/mãos)	Coliformes termotolerantes (NMP/mãos)
11/04/2013	1	1x10 ² (-)	<3	<3
11/04/2013	2	1x10 ² (-)	<3	<3
11/04/2013	3	1,1x10 ³ (-)	<3	<3
11/04/2013	4	1,2x10 ³ (-)	<3	<3
11/04/2013	5	1x10 ² (-)	<3	<3
11/04/2013	6	0,5x10 ² (-)	<3	<3
22/04/2013	1	2,5x10 ² (-)	<3	<3
22/04/2013	2	3x10 ³ (-)	3,6	<3
22/04/2013	3	9,7x10 ⁴ (-)	15	<3
22/04/2013	4	4x10 ² (-)	<3	<3
22/04/2013	5	1,6x10 ⁴ (+)	<3	<3
22/04/2013	6	4x10 ² (-)	<3	<3
10/09/2013	7	<100	<3	<3
10/09/2013	8	2x10 ² (-)	<3	<3
10/09/2013	9	2x10 ³ (-)	9,2	<3
10/09/2013	10	9x10 ² (-)	3,6	<3
10/09/2013	11	1x10 ³ (-)	93	<3
10/09/2013	12	1x10 ³ (-)	75	<3
14/10/2013	7	3x10 ² (-)	<3	<3
14/10/2013	8	5x10 ² (-)	<3	<3
14/10/2013	9	2x10 ³ (-)	<3	<3
14/10/2013	10	<100	<3	<3
14/10/2013	11	2x10 ² (-)	<3	<3
12/11/2013	12	2x10 ³ (+)	<3	<3

Legenda: (+) Teste de *Staphylococcus* coagulase positiva, (-) Teste de coagulase negativa.

Das 24 amostras analisadas, 6 apresentaram coliformes totais (25%), que foram testadas para coliformes termotolerantes, apresentando ausência deste micro-organismo. Foram observadas 20 amostras para a presença de *Staphylococcus* spp. (83,3%), com 8 amostras apresentando altas contagens deste micro-organismo, variando de 1×10^3 a $9,7 \times 10^4$ UFC/mãos (33,3%), das quais em 2 foi detectada a presença de cepas coagulase positiva (8,3%). Os resultados obtidos mostram que os manipuladores precisariam de uma maior atenção e avaliação quanto à sua higiene pessoal, principalmente das mãos como mostra as contagens de 2×10^3 e $1,6 \times 10^4$ UFC/mãos de *Staphylococcus* coagulase positiva em duas (8,3%) das amostras analisadas, podendo assim transmitir este micro-organismo para o alimento e causar uma DTA. Werle et al. (2012) também realizaram pesquisas de swab de mãos de manipuladores de três creches de um município do interior do estado de São Paulo, onde foram detectadas a presença de coliformes totais em 18 das 31 amostras analisadas e sendo 6 amostras com cepas coagulase positiva. Em pesquisas realizadas por Soares et al. (2012) nas mãos de manipuladores de alimentos de escolas de Camaçari – Brasil, também foram encontradas presença de *Staphylococcus* coagulase positiva em 53,3% das amostras analisadas.

Os manipuladores de alimentos desempenham um papel importante na transmissão de doenças de origem alimentar. A contaminação pode ocorrer devido à falta de higiene pessoal, contaminação cruzada, cozimento e armazenamento inadequado dos alimentos (OSAILI et al., 2013).

5.10 Avaliação de swab de superfícies

Foram analisados swab de superfícies da bancada, do cortador, do processador, das torneiras da cozinha piloto, dos pratos e colheres utilizados pelas crianças em suas refeições nas escolas e creches.

Devido a inexistência de padrões microbiológicos estabelecidos pela legislação brasileira para swab de superfícies, foram utilizadas como padrão as recomendações da American Public Health Association (SVEUM et al., 1992), onde preconiza uma contagem de até 2 UFC/cm² em superfícies para contagem de bactérias aeróbias mesófilas. No entanto, esta recomendação é considerada rígida para as condições dos locais de preparo das refeições, por isso alguns pesquisadores como, por exemplo, Silva

Junior (2008) consideraram contagens de até 50 UFC/cm². Os resultados estão apresentados nas Tabelas 15 e 16.

Tabela 15. Resultados após avaliação de swab de superfícies dos pratos e colheres

Análise de swab de superfícies dos pratos e colheres					
Coleta dia 11/04/2013					
Amostras	Coliformes totais (NMP/cm ²)	Coliformes termotolerantes (NMP/cm ²)	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus</i> spp. (UFC/cm ²)	Aeróbios Mesófilos (UFC/cm ²)
Prato EV	>110	3,5	Ausente	2,8x10 ² (-)	1,6x10 ⁴
Prato EO	4,3	0,36	Ausente	6x10 ¹ (-)	8,1x10 ²
Prato EC	46	2,3	Ausente	0,5x10 ¹ (-)	6,3x10 ³
Prato EA	<3	<3	Ausente	1x10 ¹ (-)	8,1x10 ¹
Coleta dia 22/04/2013					
Prato EV	24	<3	Ausente	<100	1,5x10 ⁴
Prato EO	<3	<3	Ausente	<100	2x10 ²
Prato EC	<3	<3	Ausente	<100	<10
Prato EA	<3	<3	Ausente	<100	1x10 ²
Coleta dia 16/09/2013					
Prato EV	<3	<3	Ausente	1x10 ¹ (-)	8x10 ¹
Colher EV	<3	<3	Ausente	<100	2x10 ¹
Prato EO	<3	<3	Ausente	<100	2
Colher EO	<3	<3	Ausente	<100	<10
Prato EC	<3	<3	Ausente	<100	1
Colher EC	<3	<3	Ausente	<100	6x10 ¹
Prato EA	<3	<3	Ausente	<100	2
Colher EA	<3	<3	Ausente	<100	5x10 ²
Prato CD	110	<3	Ausente	5x10 ¹ (-)	5x10 ³
Colher CD	<3	<3	Ausente	2x10 ² (-)	1x10 ⁴
Prato CI	23	<3	Ausente	1x10 ¹ (-)	2x10 ¹
Colher CI	93	3,6	Presente	<100	9x10 ³
Coleta dia 21/10/2013					
Prato EV	110	<3	Ausente	<100	2x10 ²
Colher EV	<3	<3	Ausente	<100	<10
Prato EO	<3	<3	Ausente	<100	7
Colher EO	<3	<3	Ausente	1x10 ² (-)	4x10 ¹
Prato EC	4,3	<3	Ausente	<100	9x10 ²
Colher EC	<3	<3	Ausente	<100	2x10 ¹
Prato EA	24	<3	Ausente	<100	1x10 ³
Colher EA	460	7,4	Ausente	1x10 ³ (-)	1x10 ⁴
Prato CD	<3	<3	Ausente	2x10 ¹ (-)	1x10 ²
Colher CD	<3	<3	Ausente	<100	2x10 ¹
Prato CI	110	<3	Ausente	3x10 ³ (-)	2x10 ³
Colher CI	1.100	3,6	Ausente	3x10 ⁴ (-)	4x10 ³
Padrão APHA (SVEUM,1992)	-	-	-	-	2 UFC/cm²
Recomendação (SILVA JÚNIOR, 2008)	-	-	-	-	50 UFC/cm²

Legenda: Cozinha piloto (CP), Creche I (CI), Creche D (CD), Escola V (EV), Escola O (EO), Escola C (EC), Escola A (EA), Teste de *Staphylococcus* coagulase positiva (+), Teste de coagulase negativa (-).

Tabela 16. Resultados após avaliação de swab de superfícies na cozinha

Análise de swab de superfícies na cozinha – Coleta dia 18/04/2013					
Amostras	Coliformes totais (NMP/cm ²)	Coliformes termotolerantes (NMP/cm ²)	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus</i> spp. (UFC/cm ²)	Aeróbios Mesófilos (UFC/cm ²)
SB	<3	<3	Ausente	5x10 ¹ (+)	2,9x10 ¹
SP	2,3	<3	Ausente	9,6x10 ² (-)	2,7x10 ⁴
Coleta dia 22/04/2013					
SC	<3	<3	Ausente	1,5x10 ¹ (-)	9,4x10 ¹
Coleta dia 10/09/2013					
SB	<3	<3	Ausente	<100	1x10 ¹
SP	9,2	<3	Ausente	<100	3x10 ⁴
SC	43	<3	Ausente	1x10 ¹ (-)	5x10 ²
ST1	<3	<3	Ausente	<100	5x10 ³
ST2	93	<3	Ausente	<100	1x10 ⁵
ST3	3,6	<3	Ausente	2x10 ³ (-)	4x10 ⁵
STB	1.100	<3	Ausente	6x10 ³ (-)	2x10 ⁴
Coleta dia 14/10/2013					
SB	0,36	<3	Ausente	1x10 ¹ (-)	<10
SP	<3	<3	Ausente	7x10 ² (-)	2x10 ¹
SC	<3	<3	Ausente	1x10 ¹ (-)	7
ST1	<3	<3	Ausente	<100	1x10 ²
ST2	<3	<3	Ausente	1x10 ² (-)	8x10 ¹
ST3	<3	<3	Ausente	<100	1x10 ²
STB	<3	<3	Ausente	5x10 ³ (-)	3x10 ²
Padrão APHA (SVEUM,1992)	-	-	-	-	2 UFC/cm²
Recomendação (SILVA JÚNIOR, 2008)	-	-	-	-	50 UFC/cm²

Legenda: Swab da bancada (SB), Swab do processador (SP), Swab do cortador (SC), Swab torneiras (ST1, ST2 e ST3), Swab torneira do banheiro (STB), Teste de *Staphylococcus* coagulase positiva (+), Teste de coagulase negativa (-).

De acordo com os resultados apresentados nas Tabelas 15 e 16, bactérias aeróbias mesófilas foram enumeradas em 44 amostras (89,8%), estando estas em desacordo com os padrões estabelecidos pela APHA. Para coliformes totais, os valores obtidos variaram de <3 a 1.100 NMP/cm², estando presentes em 20 amostras (40,8%). Coliformes termotolerantes foram constatados em 6 (12,2%) amostras (pratos e colheres), com valores de 0,36 a 7,4 NMP/cm², sendo confirmada a presença de *E. coli* em uma (2%) amostra de colher. Houve contagem de *Staphylococcus* spp. em 23 amostras (46,9%). Em 1 amostra (2%) de bancada foi confirmada a presença de *Staphylococcus* coagulase positiva com contagem de 5x10¹. Portanto, algumas das superfícies analisadas foram consideradas em condições higiênico-sanitárias insatisfatórias, inadequadas para a utilização, principalmente a superfície da bancada contaminada com *Staphylococcus* coagulase positiva, e a colher contaminada com *Escherichia coli*. Esta bancada é utilizada para manuseio de todos os alimentos que são preparados e servidos às crianças.

Em estudos realizados por Coelho et al. (2010), foram observadas contagens elevadas de bactérias aeróbias mesófilas em superfícies de bancadas, onde a totalidade das amostras de superfícies de bancadas examinadas todas estavam fora do limite recomendado pela APHA, enquanto nos equipamentos foi verificado um percentual de inadequação de 71%.

Keeratipibul, Techaruwichit e Chaturongkasumrit (2009) verificaram através de esfregaços ambientais que a positividade para coliformes no equipamento de corte foi de 3,85% em uma fábrica distribuidora de produtos de camarão. Da mesma forma Ramos, Scatena e Ramos (2008) ao avaliarem superfície de pias e bancadas em uma unidade de alimentação de Campo Grande/MS, que distribui cerca de 1.500 refeições diárias, detectaram uma contaminação de 12,5% por coliformes termotolerantes. Carrasco et al. (2008) também encontraram coliformes termotolerantes em mesas e bancadas (28%) e tábuas de corte (19%) em domicílios. Por outro lado Cosby et al. (2008) encontraram 44% de *E. coli* em superfícies de preparação de alimentos em creches da cidade de Knoxville-Knox County, TN – EUA.

Marzano e Balzaretto (2011) avaliaram 280 amostras de superfícies de contato com o alimento em três estabelecimentos de alimentação, onde 2,5% estavam presentes com *Staphylococcus* coagulase positiva.

Com estas falhas de higienização, várias bactérias incluindo as de deterioração de alimentos e patogênicas podem formar biofilmes em diferentes superfícies, levando à contaminação cruzada, pois quando formado o biofilme, seus níveis de resistência à inativação são elevados (BAE; BAEK; LEE, 2012).

5.11 Análises parasitológicas

Foram realizadas análises parasitológicas da água e dos alimentos crus da cozinha piloto e das escolas, e também dos swab de mãos das manipuladoras que foram representadas por números. Os resultados estão apresentados nas Tabelas 17 e 18.

Tabela 17. Resultados após análises parasitológicas das saladas da cozinha piloto, creche D, creche I, escola V, escola C, escola O e escola A

Análise parasitológica		
Amostra/Data	Local	Resultado
Repolho com cenoura 26/02/2013	Cozinha piloto	Ausente
	Creche D	Ausente
	Creche I	Ausente
Salada de alface 05/03/2013	Cozinha piloto	Ausente
	Creche D	Cisto de <i>Entamoeba coli</i>
	Creche I	Ausente
Salada de alface 12/03/2013	Cozinha piloto	Ausente
	Creche D	Ausente
	Creche I	Ausente
Repolho com cenoura 26/03/2013	Cozinha piloto	Ausente
	Creche D	Ausente
	Creche I	Ovo de <i>Ascaris lumbricoides</i> *
Repolho com cenoura 03/04/2013	Cozinha piloto	Ausente
	Creche D	Ausente
	Creche I	Ausente
Salada de tomate 09/04/2013	Cozinha piloto	Ausente
	Escola V	Ausente
	Escola C	Ausente
	Escola O	Ausente
	Escola A	Ausente
Repolho com tomate 18/04/2013	Cozinha piloto	Ausente
	Escola V	Ausente
	Escola C	Ausente
	Escola O	Ausente
	Escola A	Ausente
Salada de tomate 05/11/2013	Cozinha piloto	Ausente
	Escola V	Ausente
	Escola C	Ausente
	Escola O	Ausente
	Escola A	Ausente
Salada de alface 12/11/2013	Cozinha piloto	Ausente
	Creche D	Ausente
	Creche I	Ausente

*Não fecundado

Tabela 18. Resultados após análises parasitológicas de swab de mãos das manipuladoras da cozinha piloto

Análise parasitológica		
Data	Amostra	Resultado
11/04/2013	1	Ausente
11/04/2013	2	Ausente
11/04/2013	3	Ausente
11/04/2013	4	Ausente
11/04/2013	5	Ausente
11/04/2013	6	Ausente
22/04/2013	1	Ausente
22/04/2013	2	Ausente
22/04/2013	3	Ausente
22/04/2013	4	Ausente
22/04/2013	5	Ausente
22/04/2013	6	Ovo de <i>Ascaris lumbricoides</i> *
10/09/2013	7	Ausente
10/09/2013	8	Ausente
10/09/2013	9	Ausente
10/09/2013	10	Ausente
10/09/2013	11	Ausente
10/09/2013	12	Ausente
14/10/2013	7	Ausente
14/10/2013	8	Ausente
14/10/2013	9	Ausente
14/10/2013	10	Ausente
14/10/2013	11	Ausente
12/11/2013	12	Ausente

Legenda: Cada número de amostra representa uma manipuladora

*Fecundado

Figura 1. Ovo de *Ascaris lumbricoides* (não fecundado)



Figura 2. Ovo de *Ascaris lumbricoides* (fecundado)



Nas amostras de água pesquisadas não foram encontrados presença de parasitas, estando assim de acordo com a portaria 518 de 25 de março de 2004 que recomenda a pesquisa de cistos patogênicos com o objetivo de atingir um padrão de ausência dos mesmos. No entanto foi observado cisto de *Entamoeba coli* na salada de alface da creche D e ovo de *Ascaris lumbricoides* (não fecundado) na salada de repolho com cenoura da creche I (Figura 1), ovos não fecundados podem ocorrer em indivíduos que albergam apenas fêmeas do helminto, e assim esses indivíduos transmitem esses ovos a outras pessoas por meio dos alimentos devido a higiene inadequada das mãos ou do alimento. E no swab de mãos das manipuladoras foi encontrado ovo de *Ascaris lumbricoides* (fecundado) na amostra 6 como mostra a Figura 2. Esses resultados apresentam uma necessidade de melhorias na higienização das saladas e das mãos das manipuladoras, pois a ascaridiose é uma doença grave, que quando afeta o indivíduo

torna-o debilitado, afetando-o física e intelectualmente (NEVES; FILIPPIS, 2010). As infecções por helmintos intestinais causam diarreia, dor abdominal, obstrução intestinal, anemia, desnutrição, irritação da pele e área anal e implicações no desempenho cognitivo e físico (SHERKHONOV et al., 2013).

Da mesma forma, Bianchin et al. (2012), analisaram água tratada para abastecimento público de Videira/SC, e não encontraram nenhum tipo de parasitas nas amostras coletadas.

Junior, Gontijo e Silva (2012), avaliando amostras de alface de 10 restaurantes, também detectaram a presença de enteroparasitoses em amostras de 2 restaurantes (20%), sendo encontrados a ameba *Endolimax nana* e o ciliado *Balantidium coli*.

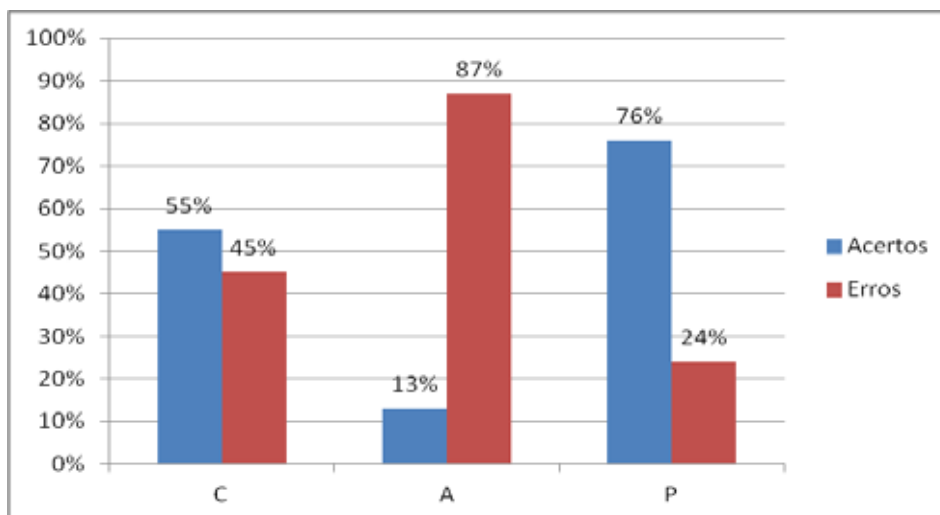
Em outro estudo, 285 pessoas foram submetidas à coleta de swab de mão, onde foram encontrados ovos de parasitas em 37 (13%) amostras. Ao contrário de Andargie et al. (2008) que analisaram a área das unhas dos manipuladores de alimentos da cantina de uma universidade de Gonda na Etiópia, e não encontraram parasitas intestinais.

Estes estudos indicam que a via de infecção por mãos desempenha um papel importante na transmissão de parasitas (HOA et al., 2010), devendo portanto ser tomado os devidos cuidados de higiene por parte dos manipuladores, que são os principais responsáveis por essas contaminações, causando assim sérias doenças as pessoas.

5.12 Questionário sobre conhecimentos, atitudes e práticas das manipuladoras

Foi realizado um questionário com 40 perguntas às manipuladoras da cozinha piloto para avaliação complementar do conhecimento sobre DTAs e segurança alimentar, atitudes em relação à contaminação cruzada e sanitização e práticas de higiene pessoal. As respostas foram avaliadas em acertos e erros e os resultados estão apresentados na Figura 3.

Figura 3. Resultados obtidos após a aplicação do questionário para a avaliação das manipuladoras em relação aos conhecimentos sobre DTAs e segurança alimentar (C), atitudes frente à contaminação cruzada e sanitização (A) e práticas de higiene pessoal (P).



Os resultados indicaram que as manipuladoras possuíam ótimas práticas (76%) de higiene pessoal (P), um bom conhecimento (55%) sobre DTAs e segurança alimentar (C), e possuem uma atitude (13%) ruim em relação à contaminação cruzada e sanitização (A). Soares et al. (2012) observaram em pesquisas realizadas em escolas de Camaçari na Bahia, que o conhecimento (65%) era insuficiente mesmo estando acima de 50% devido aos treinamentos realizados pelos manipuladores, na avaliação da atitude os acertos foram de 80% recebendo as maiores pontuações, e na avaliação de práticas 70% de respostas corretas foi a pontuação atingida. Em estudos realizados por Osaili et al. (2013) sobre o conhecimento dos manipuladores de um restaurante foi observado que, estes tinham pouco conhecimento sobre DTAs e segurança alimentar, mas tinha um bom conhecimento sobre a higiene.

5.13 Avaliação das Boas Práticas de Fabricação: Check List

O Check List foi dividido em cinco categorias: Avaliação da edificação e das instalações, Sanitização, Equipamentos em geral, Recursos Humanos, Produção e Transporte do alimento. Os gráficos das Figuras 4 e 5 apresentaram como SIM, quando a cozinha está de acordo com o item e NÃO, quando a cozinha está em desacordo.

Figura 4. Resultados obtidos após a aplicação do Check List inicial

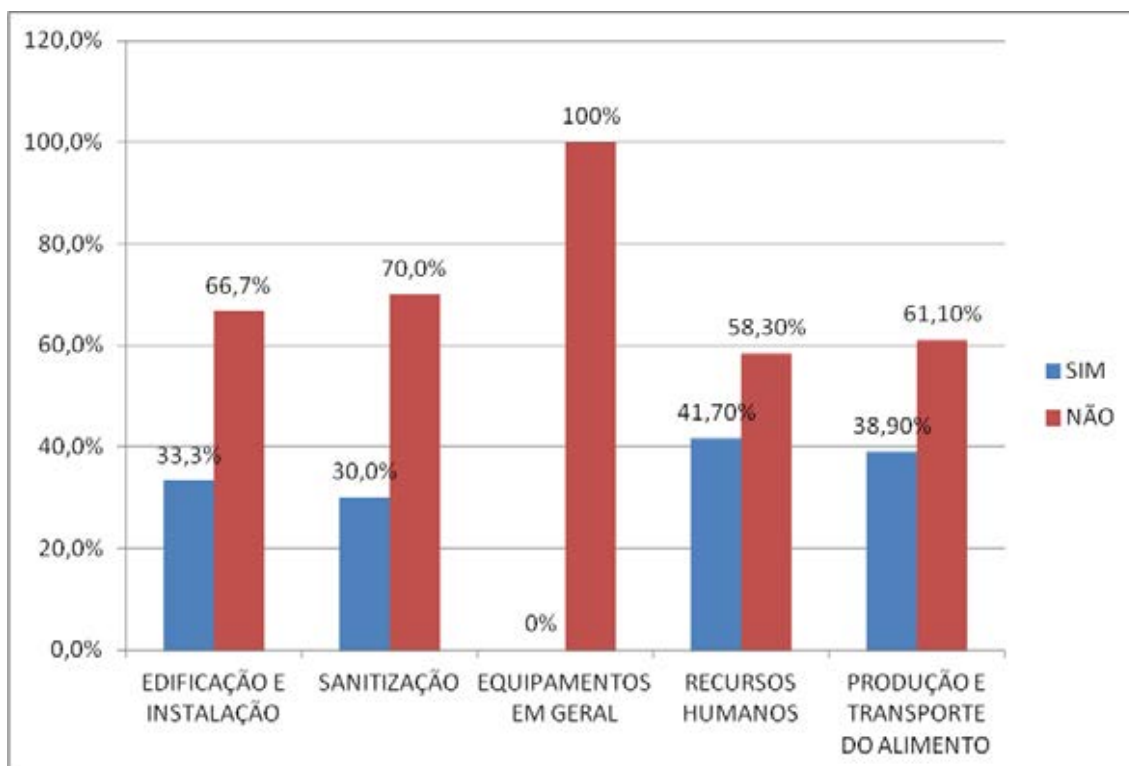
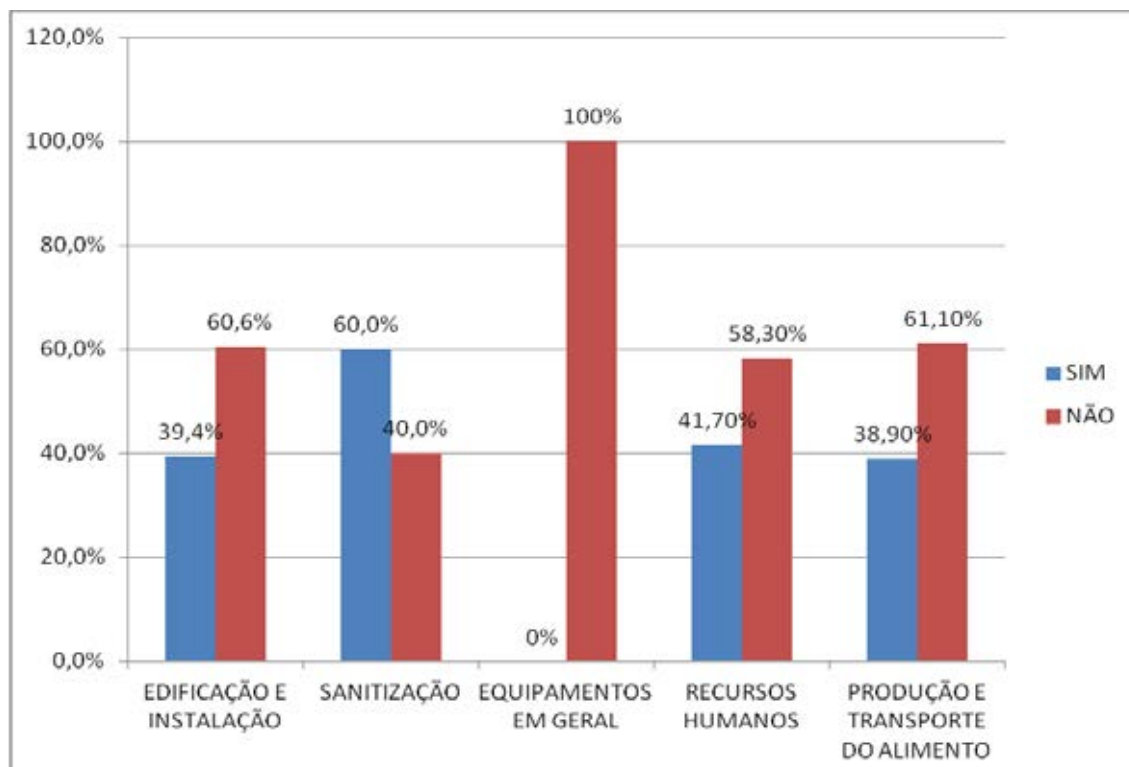


Figura 5. Resultados obtidos após a aplicação do Check List final.



De acordo com os resultados apresentados nas Figuras 4 e 5, a categoria que apresentou um maior desacordo foi a de Equipamentos em Geral com 100% de não conformidade em relação às Boas Práticas de Fabricação recomendadas pela ANVISA. Esta categoria não obteve melhoras quando foi aplicado o check list final, ou seja, não houve aquisição de novos equipamentos e nem de um termômetro para controle da temperatura dos alimentos, onde os equipamentos possuíam superfícies amassadas, com emendas e rachaduras. Furlaneto-Maia, Oliveira e Oliveira (2010), ao avaliarem itens pelo check list de pontos de vendas de sanduíches em Londrina/PR, observaram que a maioria dos itens de equipamentos em geral estavam inadequados, apenas os utensílios apresentavam-se em bom estado de conservação. Pesquisas realizadas em escolas de Porto Alegre/RS por Oliveira et al. (2014) relataram que quanto aos equipamentos, avaliaram que 47% das escolas foram classificadas como em desacordo, sendo que um dos principais problemas identificados foi a ausência de termômetro para controlar a temperatura dos alimentos, resultados semelhantes a este estudo. Estudos realizados por Lockis et al. (2011) em escolas públicas no Paraná indicaram 21% de não conformidade nos equipamentos. Já Werle et al. (2012) observou uma média de conformidade de 89%, indicando que as escolas de São José do Rio Preto/SP mantêm seus equipamentos em bom estado de conservação.

Já a categoria que apresentou maior acordo em relação às Boas Práticas de Fabricação foi a de Recursos Humanos representando 41,70%, porém não houve melhoras nesta categoria no check list final, o que pode ser explicado pela dificuldade das manipuladoras aderirem às instruções a serem seguidas na hora da manipulação, como, por exemplo lavar as mãos após realizar outras atividades, como atender ao telefone, coçar o cabelo ou pele, antes de entrar em contato direto com os alimentos, sendo que as mesmas não recebem capacitação adequada e contínua relacionado à higiene pessoal e à manipulação dos alimentos. Um check list, realizado por Werle et al. (2012) em escolas de São José do Rio Preto/SP, indicou 65% de conformidade em relação aos Recursos Humanos, que ao contrário deste estudo e que suas inconformidades foram relacionadas ao uso de esmalte e adornos pelas manipuladoras. Pesquisas realizadas por Lockis et al. (2011) em escolas públicas no Paraná indicaram 72% de conformidade em recursos humanos, sendo que as principais não conformidades foram em relação à higiene das mãos antes e durante a manipulação dos alimentos.

Para produção e transporte dos alimentos, tanto o check list inicial quanto o final apresentaram 61,10% de não conformidades, como, por exemplo, vale destacar: que os alimentos não são servidos logo após o preparo, as comidas são armazenadas em marmitas (que ficam no chão até serem entregues nas escolas), e que as mesmas não possuíam mais a tampa com pressão para manter a temperatura, e não tinham um controle de temperatura adequada até que as refeições fossem servidas aos alunos. Estudos realizados por Werle et al., (2012) em escolas de São José do Rio Preto/SP, encontraram uma média de conformidade de 66% em relação a produção dos alimentos, sendo um dos pontos críticos observados a falta de controle de temperatura, tanto dos equipamentos como dos alimentos, o que pode ocasionar o desenvolvimento de micro-organismos.

No item de sanitização, foi observado uma melhora de 30% no check list final em relação ao inicial, isto pode ter ocorrido devido a uma maior frequência de higienização das instalações e seus produtos de higiene e limpeza regularizados. No entanto, nos locais avaliados não existem áreas adequadas para estocagem do lixo, que é feito em lixeira sem tampa, em desacordo com o que pede a ANVISA onde a lixeira deve possuir tampa para que permaneça fechada e evite a presença de vetores. Estudos realizados por Oliveira et al., (2014) em escolas de Porto Alegre/RS, relatou que 86% das escolas apresentavam pisos da área de processamento inadequadamente limpos, estando em desacordo com a higiene ambiental. Nas pesquisas realizadas por Werle et al., (2012) nas escolas de São José do Rio Preto/SP, foram detectadas uma média de 79% de conformidade nos aspectos gerais voltados a sanitização.

O item de edificação e instalação também obtiveram melhoras, de 33,3% no check list inicial para 39,4% no check list final, onde a torneira do banheiro foi substituída por uma de acionamento automático e nas luminárias, foram colocadas proteção adequada. Porém esta categoria ainda permanece com 60,6% de não conformidade, principalmente devido ao prédio da cozinha ser muito antigo, com pisos quebrados e rachados, as telas de proteção das janelas rasgadas e não possui lavatórios e ventilação adequados na cozinha. Oliveira et al., (2014) aplicaram um check list em escolas de Porto Alegre/RS que foram classificadas com 84% de não conformidades, onde os principais problemas estavam relacionados com a ausência de proteção nas janelas e banheiros para os manipuladores. Pesquisas realizadas por Lockis et al.,

(2011) em escolas públicas no Paraná indicaram 66% de desacordo nas instalações. Já o estudo de Werle et al., (2012) apontou 66% de conformidade, o que indicou que as escolas de São José do Rio Preto/SP possuem uma posição satisfatória quanto à conservação das cozinhas.

Portanto, de maneira geral, a maioria das categorias apresentaram não conformidades acima de 50%, estando assim em desacordo com as Boas Práticas de Fabricação recomendadas pela ANVISA.

5.14 Teste de susceptibilidade aos antimicrobianos

As 5 cepas encontradas de *Escherichia coli* e as 10 cepas de *Staphylococcus aureus* foram testadas quanto a susceptibilidade aos antimicrobianos. Os resultados encontram-se nas Tabelas 19 e 20.

Tabela 19. Resultados adquiridos após o teste de susceptibilidade aos antimicrobianos das cepas de *Escherichia coli*

Antibióticos	Amostras				
	Alface Cozinha	Alface Creche I 12/03	Repolho e cenoura Creche I 26/03	Swab colher Creche I	Água Escola A
Ampicilina	S	S	R	S	S
Cloranfenicol	S	S	S	S	S
Norfloxacina	S	S	S	S	S
Amicacina	S	S	S	S	S
Ác. Clavulânico + Amoxicilina	S	S	S	S	S
Nitrofurantoína	S	S	S	S	S
Piperacilina+ Tazobactam	S	S	S	S	S
Cefepime	S	S	S	S	S
Tetraciclina	S	S	S	S	S
Tobramicina	S	S	S	S	S
Trimetropim	S	S	S	S	S
Cefoxitina	S	S	S	S	S
Ceftriaxona	S	S	S	S	S
Levofloxacina	S	S	S	S	S
Imipenem	S	S	S	S	S

Legenda: S (Sensível) e R (Resistente)

Nesta pesquisa, das 5 cepas de *Escherichia coli* testadas, 4 amostras: alface da cozinha e da cheche I, swab da colher da creche I e água da escola A (80%) foram sensíveis a todos antimicrobianos e 1 (20%) foi resistente a 1 antimicrobiano (ampicilina) como mostra a Figura 6. Ao contrário de resultados encontrados por Furlaneto-Maia, Oliveira e Oliveira (2010) onde não houve isolados de *E. coli* resistentes à ampicilina em amostras de sanduíches.

Um estudo realizado por Anita et al. (2014) em isolados de *E. coli* recuperados de água potável mostraram várias resistências contra todos os antibióticos testados. A resistência foi mais elevada contra a tetraciclina (80%) e estreptomomicina (60%). A sensibilidade foi maior com cloranfenicol, ciprofloxacina, gentamicina e norfloxacina.

Pavithra e Ghosh (2013) ao pesquisarem a sensibilidade aos antimicrobianos de cepas de *E. coli* encontradas em facas utilizadas em mercados de peixes e carnes, verificaram a resistência a ciprofloxacina, lomefloxacina, norfloxacina, ofloxacina, ác. nalidíxico, nitrofurantoina, tetraciclina, cloranfenicol e ampicilina.

Edward e Chikwem (2012) detectaram amostras de *E. coli* isoladas de saladas resistentes à amoxicilina e augmentin. Todos os isolados de *E. coli* foram sensíveis a ofloxacina (100%). A porcentagem de sensibilidade no caso da gentamicina foi de 96,7%, ác. nalidíxico 90%, nitrofurantoina 80%, cotrimoxazol 50% e tetraciclina 6,7%.

Figura 6. *Escherichia coli* resistente ao antibiótico Ampicilina



Tabela 20. Resultados adquiridos após o teste de susceptibilidade aos antimicrobianos das cepas de *Staphylococcus aureus*.

Antibióticos	Amostras													
	Swab Bancada	Swab 6	Arroz Cozinha 05/11	Arroz Escola C	Arroz Escola O	Arroz Escola V	Arroz Escola A	Arroz Cozinha 12/11	Arroz Creche I	Swab 14				
Nitrofurantóina	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S				
Cloranfenicol	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S				
Ciprofloxacina	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S				
Linezolida	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S				
Sulfa+Trimetoprim	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S				
Oxacilina	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S				
Clindamicina	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S				
Tetraciclina	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S				
Rifampicina	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S				
Norfloxacina	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S				
Azitromicina	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S				
Gentamicina	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S				
Penicilina	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R				
Trimetoprim	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S				

Legenda: S (Sensível) e R (Resistente)

Neste estudo, todas as 10 cepas (100%) de *Staphylococcus aureus* analisadas foram resistentes a 1 antibiótico, a Penicilina, como mostra a Figura 7. O restante dos antibióticos testados foram eficazes para 100% das cepas testadas.

Ferreira et al. (2014) obtiveram resultados semelhantes a este estudo, onde foram encontrados 93% de cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes à Penicilina em mãos de manipuladores de alimentos em hospitais públicos de Salvador/BA.

André et al. (2008) também encontraram cepas de *S. aureus* em mãos de manipuladores de alimentos, que apresentaram resistência à penicilina em 75,9%, tetraciclina 17,2%, oxacilina 10,3% e eritromicina 6,9%.

Em estudo da caracterização de *S. aureus* em alimentos infantis como cereal de arroz e leite em pó, Wang et al. (2012) encontraram 54 cepas resistentes a eritromicina (75,9%), ciprofloxacina (51,9%) e trimetoprim/sulfametoxazol (27,8%), gentamicina (22,2%), tetraciclina (18,5%) e cefoxitina (3,7%). Iguais a este estudo, todos *S. aureus* isolados foram sensíveis a oxacilina e cloranfenicol.

Guimarães et al. (2012), ao investigarem o perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos de cepas de *Staphylococcus* coagulase positiva em amostras de queijo de coalho, mostraram que Nitrofurantoína, Tetraciclina, Cloranfenicol e Sulfametoxazol-Trimetropim foram eficazes, semelhantes aos resultados obtidos neste estudo; no entanto, verificou-se resistência a Gentamicina, Oxacilina (13,3%) e a Eritromicina (26,7%).

Nesta pesquisa, as cepas analisadas apresentam-se sensíveis a maioria dos antibióticos testados. No entanto, o grande desenvolvimento de resistência relatado em vários estudos estabelece uma grande preocupação em relação à saúde pública, reduzindo a quantidade de antibióticos eficazes nos tratamentos, destacando a importância do uso adequado dos antimicrobianos, evitando a veiculação de espécimes multirresistentes.

Figura 7. *Staphylococcus aureus* resistente ao antibiótico Penicilina



6. CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos nas análises, pode-se concluir que a maioria das amostras analisadas encontra-se dentro dos padrões estabelecidos pela legislação brasileira, no entanto, são necessárias melhorias nas condições de preparo dos alimentos, devido à presença de coliformes nos alimentos, a detecção das bactérias *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* e de parasitas que indicam condições higiênicas precárias.

Nas análises das amostras de água também é necessária uma maior atenção em relação à limpeza da caixa d'água, principalmente a da cozinha piloto que foi a amostra que se apresentou positiva para coliformes totais, e da Escola A (amostra 4) com presença de *Escherichia coli*.

Os swabs de mãos e superfícies indicaram a necessidade de maiores orientações às manipuladoras quanto às boas práticas de manipulação e higiene das superfícies que estão em contato com os alimentos, pois antes da coleta das amostras as mãos e superfícies foram higienizadas, e mesmo assim foram observadas altas contagens de *Staphylococcus* coagulase positiva nas amostras 5 e 12 e o parasita *Ascaris lumbricoides* na amostra 6 do swab de mãos, já o swab de superfícies apresentou a presença de colônias de *Staphylococcus* coagulase positiva na bancada, altas contagens de bactérias aeróbias mesófilas e *Escherichia coli* (colher da Creche I).

Uma cepa de *Escherichia coli* foi resistente à Ampicilina e todas as cepas de *Staphylococcus aureus* foram resistentes à Penicilina.

O check list inicial apresentou não conformidades acima de 50% em todas as categorias. Já no check list final houve conformidades acima de 50% em apenas uma categoria, a de Sanitização, apresentando algumas melhoras.

Em relação ao questionário aplicado, pode-se concluir que o resultado da avaliação do conhecimento das manipuladoras sobre DTAs e segurança alimentar e sobre a atitude em relação à contaminação cruzada e sanitização reforça ainda mais a necessidade da informação e educação dessas manipuladoras para melhorar os conhecimentos, atitudes e práticas de segurança alimentar. Devendo assim ser adotadas melhorias nesta questão para garantir alimentos seguros e de qualidade às crianças.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABUSHELAIBI, A. A.; SOFOS, J. N.; SAMELIS, J.; KENDALL, P. Survival and growth of *Salmonella* in reconstituted infant cereal hydrated with water, milk or apple juice and stored at 4° C, 15° C and 25° C. **Food Microbiology**, v. 20, n. 1, p. 17-25, 2003.

ALMEIDA, V. F. S.; OLIVEIRA, S. R.; JÁCOME, P. R. L. A.; JÁCOME-JUNIOR, A. T. Avaliação dos indicadores higiênico-sanitários e das características físico-químicas em águas utilizadas em escolas públicas de nível fundamental. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 68, n. 3, p. 334 – 340, 2009.

ANDARGIE, G.; KASSU, A.; MOGES, F.; TIRUNEH, M.; HURUY, K. Prevalence of bacteria and intestinal parasites among food-handlers in Gondar Town, Northwest Ethiopia. **Journal of Health, Population and Nutrition**, v. 26, n. 4, p. 451 – 455, 2008.

ANDRÉ, M. C. D. P. B.; CAMPOS, M. R. H.; BORGES, L. J.; KIPNIS, A.; PIMENTA, F. C.; SERAFINI, A. B. Comparison of *Staphylococcus aureus* isolates from food handlers, raw bovine milk and Minas Frescal cheese by antibiogram and pulsed-field gel electrophoresis following SmaI digestion. **Food Control**, v. 19, n. 2, p. 200 – 207, 2008.

ANDREWS, W. H.; HAMMACK, T. S. *Salmonella*. In: Food and Drug Administration, **Bacteriological Analytical Manual Online**. Chapter 5, 2007.

ANGELILLO, I. F.; VIGGIANI, N. M.; RIZZO, L.; BIANCO, A. Food handlers and foodborne disease: knowledge attitudes and reported behavior in Italy. **Journal of Food Protection**, v. 63, n. 3, p. 381 - 385, 2000.

ANITA; KUMAR, A.; VERMA, A. K.; GUPTA, M. K.; RAHAL, A. Multidrug resistant pathogenic *Escherichia coli* status in water sources and Yamuna river in and

around Mathura, India. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v. 17, n. 4, p. 540 – 544, 2014.

ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária). Resolução RDC Número 12 de 02 de janeiro de 2001. Regulamento Técnico Sobre os Padrões Microbiológicos para Alimentos. **D. O. U. Diário Oficial da União**; Poder executivo, de 04 de janeiro de 2001.

ARAGON-ALEGRO, L. C.; PALCICH, G.; LOPES, G. V.; RIBEIRO, V. B.; LANDGRAF, M.; DESTRO, M. T. Enterotoxigenic and Genetic Profiles of *Bacillus cereus* Strains of Food Origin in Brazil. **Journal of Food Protection**, v. 71, n. 10, p. 2115 – 2118, 2008.

BAE, Y.; BAEK, S.; LEE, S. Resistance of pathogenic bacteria on the surface of stainless steel depending on attachment form and efficacy of chemical sanitizers. **International Journal of Food Microbiology**, v. 153, p. 465 – 473, 2012.

BALZARETTI, C. M.; MARZANO, M. A. Prevention of travel-related foodborne diseases: Microbiological risk assessment of food handlers and ready-to-eat foods in northern Italy airport restaurants. **Food Control**, v. 29, n. 1, p. 202 – 207, 2013.

BARRETO, J. G. Detecção da incidência de enteroparasitoses nas crianças carentes da cidade de Guaçuí – ES. **RBAC**, v. 38, n. 4, p. 221, 2006.

BATES, J. R. *Clostridium perfringens*. In: HOCKING, A. D. et al. **Foodborne Microorganisms of Public Health Significance**. Australian Institute of Food Science and Technology, NSW Branch, Food Microbiology Group. Printed by Trenear Printing Service Pty Limited, 1997, p. 407 – 428.

BAUER, A. W.; KIRBY, V. M.; SHERRIS, J. C.; TURCK, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 45, n. 4, p. 493-496, 1966.

BENNETT, R. W.; BELAY, N. *Bacillus cereus*. In: DOWNES, F. P.; ITO, K. **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. 4° ed. Washington: American Public Health Association, 2001, p. 311 – 316.

BEUCHAT, L. R.; COUSIN, M. A. Yeasts and molds. In: DOWNES, F. P.; ITO, K. **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**, 4° ed., Washington: American Public Health Association, 2001. p. 209 - 215.

BIANCHIN, E.; BALSAN, G. A.; OLIVEIRA, P. G.; NUNES, E. O. Verificação da eficiência de remoção de contaminantes microbiológicos nas principais operações unitárias de um sistema de tratamento de água destinada ao consumo humano. **Perspectiva**, v. 36, n.135, p. 75 - 83, 2012.

BISCEGLI, T. S.; ROMERA, J.; CANDIDO, A. B.; SANTOS, J. M.; CANDIDO, E. C. A.; BINOTTO, A. L. Estado nutricional e prevalência de enteroparasitoses em crianças matriculadas em creche. **Revista Paulista de Pediatria**, v. 27, n. 3, p. 289 - 295, 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução ANVISA RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Aprova o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial [a República Federativa do Brasil]**, Brasília, DF, 10 jan. de 2001.

BRASIL, Resolução ANVISA RDC nº 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, 6 nov. 2002, Seção 1, p. 4-21.

BRASIL, Resolução ANVISA. RDC nº 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 set. 2004.

BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Vigilância e controle da qualidade da água para consumo humano**/ Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. – Brasília : Ministério da Saúde, 2006.

BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Unidade de Doenças de Veiculação Hídrica e Alimentar – UHA. Coordenação Geral de Doenças Transmissíveis – CGDT. Vigilância Epidemiológica das Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar – VEDTHA, Brasília: MS, 2011a.

BRASIL, Portaria ANVISA nº 2.914, de 12 de dezembro de 2011. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. **Diário Oficial [da República Federativa do Brasil]**, Brasília, DF, 14 dez. 2011b.

BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Coordenação Geral de Doenças Transmissíveis. Vigilância Epidemiológica das Doenças Transmitidas por Alimentos. Brasília: MS, 2013.

BRENNER, D. J.; FARMER III, J. J. Family I. *Enterobacteriaceae*. In: BRENNER, D. J., KRIEG, N. R.; STALEY, J. T. **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology**, 2º ed., v. 2. New York: Springer Science+Business Media Inc., 2005. p. 587 - 607.

CAMPOS, A. K. C.; CARDONHA, A. M. S.; PINHEIRO, L. B. G.; FERREIRA, N. R.; AZEVEDO, P. R. M.; STAMFORD, T. L. M. Assessment of personal hygiene and practices of food handlers in municipal public schools of Natal, Brazil. **Food Control**, v. 20, n. 9, p. 807 - 810, 2009.

CARRASCO, L.; MENA, K. D.; MOTA, L. C.; ORTIZ, M.; BEHRAVESH, C. B.; GIBBS, S. G.; BRISTOL, J. R.; MAYBERRY, L.; CARDENAS, V. M. Occurrence of faecal contamination in households along the US–Mexico border. **Letters in Applied Microbiology**, v. 46, n. 6, p. 682 – 687, 2008.

CATO, E. P.; GEORGE, W. L.; FINEGOLD, S. M. Genus *Clostridium*. In: SNEATH, P. H. A., MAIR, N. S., SHARPE, M. E.; HOLT, J. G. **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology**, v. 2 . Williams & Wilkins, Baltimore, 1986. p. 1141 – 1200.

CHAVES, J. Q.; PIRES, E. S.; VIVONI, A. M. Genetic diversity, antimicrobial resistance and toxigenic profiles of *Bacillus cereus* isolated from food in Brazil over three decades. **International Journal of Food Microbiology**, v. 147, n. 1, p. 12 – 16, 2011.

CHOWDHURY, S. Heterotrophic bacteria in drinking water distribution system: a review. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 184, n. 10, p. 6087 - 6137, 2012.

CLESCERI, L. S.; GREENBERG, A. E.; EATON, A. D. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**, 20^o ed. Washington: American Public Health Association (A.P.H.A.), American Water Works Association (A.W.W.A.), Water Environment Federation (W.E.F.), 1998. Chapter 9, Section 9215.

CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Second Informational Supplement. Waine, PA: **Clinical and Laboratory Standards Institute**, 2012.

CODEX ALIMENTARIUS, Agência Nacional de Vigilância Sanitária; Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Higiene dos Alimentos – Textos Básicos**. – Brasília: Organização Pan-Americana da Saúde, 2006, 64 p.: il.

COELHO, A. I. M.; MILAGRES, R. C. R. M.; MARTINS, J. F. L.; AZEREDO, R. M. C.; SANTANA, A. M. C. Contaminação microbiológica de ambientes e de superfícies em restaurantes comerciais. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 15 (Supl. 1), p. 1597 - 1606, 2010.

COMMEAU, N.; JALOUSTRE, S. Impact of temperature sampling strategy on the risk of Clostridium growth: Application to rapid cooling of food in institutional food service facilities. **Food Control**, v. 30, n. 2, p. 642 – 648, 2013.

COSBY, C. M.; COSTELLO, C. A.; MORRIS, W. C.; HAUGHTON, B.; DEVEREAUX, M. J.; HARTE, F.; DAVIDSON, P. M. Microbiological Analysis of Food Contact Surfaces in Child Care Centers. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 74, n. 22, p. 6918 – 6922, 2008.

CRAUN, G. F.; BRUNKARD, J. M.; YODER, J. S.; ROBERTS, V. A.; CARPENTER, J.; WADE, T.; CALDERON, R. L.; ROBERTS, J. M.; BEACH, M. J.; ROY, S. L. Causes of Outbreaks Associated with Drinking Water in the United States from 1971 to 2006. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 23, n. 3, p. 507 – 528, 2010.

DAELMAN, J.; JACXSENS, L.; DEVLIEGHERE, F.; UYTTENDAELE, M. Microbial safety and quality of various types of cooked chilled foods. **Food Control**, v. 30, n. 2, p. 510 – 517, 2013.

DAILEY, N. J. M.; LEE, N.; FLEISCHAUER, A. T.; MOORE, Z. S.; ALFANO-SOBSEY, E.; BREEDLOVE, F.; PIERCE, A.; LEDFORD, S.; GREENE, S.; GÓMEZ, G. A.; TALKINGTON, D. F.; SOTIR, M. J.; HALL, A. J.; SWEAT, D. *Clostridium perfringens* Infections Initially Attributed to Norovirus, North Carolina, 2010. **Clinical Infectious Diseases**, v. 55, n. 4, p. 568 – 70, 2012.

DOWNES, F. P.; ITO, K. **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**, 4^o ed. Washington: American Public Health Association (APHA), 2001.

DUARTE, D. A. M.; RIBEIRO, A. R.; VASCONCELOS, A. M. M.; SANTOS, S. B.; SILVA, J. V. D.; ANDRADE, P. L. A.; FALCÃO, L. S. P. C. A. Occurrence of *Salmonella* spp. in broiler chicken carcasses and their susceptibility to antimicrobial agents. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 40, n. 3, p. 569 - 573, 2009.

EATON, A. D.; CLESCERI, L. S.; RICE, E. W.; GREENBERG, A. E. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**, 21^o ed. Washington: American Public Health Association (APHA), American Water Works Association (AWWA) & Water Environment Federation (WEF), 2005.

EDWARD, K. C.; CHIKWEM, C. The antibiotic sensitivity pattern of *Escherichia coli* isolated from street vended vegetable salad in Umuahia, Nigeria. **Journal of Pure and Applied Microbiology**, v. 6, n. 2, p. 659 – 664, 2012.

ELLERMEIER, C. D.; SLAUCH, J. M. The Genus *Salmonella*. In: DWORKIN et al. **The Prokaryotes: An evolving electronic resource for the microbiological community**, 3^o ed. New York: Springer-Verlag, 2005.

ERGÖNÜL, B. Consumer awareness and perception to food safety: A consumer Analysis. **Food Control**, v. 32, p. 461 - 471, 2013.

EUZÉBY, J. P. **Dictionnaire de Bactériologie Vétérinaire**, 2003.

FAUSTINO, J. S.; PASSOS, E. C.; MELLO, A. R. P.; ARAÚJO, A. L. M.; SOUZA, C. V.; JORGE, L. I. F.; ZAMARIOLI, L. A. Análises microbiológicas de alimentos processados na Baixada Santista, envolvidos em doenças transmitidas por alimentos, no período de 2000 – 2006. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, n. 1, p. 26 - 30, 2007.

FAWELL, J.; NIEUWENHUIJSEN, M. J. Contaminants in drinking water. Environmental pollution and health. **British Medical Bulletin**, v. 68, n. 1, p. 199 - 208, 2003.

FDA (Food and Drug Administration). **Bacteriological Analytical Manual Online**, Chapter 14., 2001.

FDA/CFSAN. **Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins Handbook “Bad Bug Book”**. Food and Drug Administration, Center for Food Safety & Applied Nutrition, 2005.

FENG, P. C. S.; HARTMAN, P. A. Fluorogenic assay for immediate confirmation of *Escherichia coli*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 43, n. 6, p. 1320 – 1329, 1982.

FERREIRA, J. S.; COSTA, W. L. R.; CERQUEIRA, E. S.; CARVALHO, J. S.; OLIVEIRA, L. C.; ALMEIDA, R. C. C. Food handler-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in public hospitals in Salvador, Brazil. **Food Control**, v. 37, n. 1, p. 395 - 400, 2014.

FNDE - Fundo Nacional de Desenvolvimento da Educação. **Caderno de Legislação PNAE – 2011**. 214 p.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Editora Atheneu, 2008. 182 p.

FREITAS, M. F. L.; LUZ, I. S.; JÚNIOR, J. W. P.; DUARTE, D. A. M.; VASCONCELOS, A. M. M.; RIBEIRO, A. R.; MOTA, R. A.; BALBINO, T. C. L.; STAMFORD, T. L. M. Detecção de genes toxigênicos em amostras de *Staphylococcus* spp. isoladas de queijos de coalho. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, n. 2, p. 375 – 379, 2009.

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da segurança alimentar**. Porto Alegre: Artmed, 2005. 424 p.

FURLANETO-MAIA, L.; OLIVEIRA, M. T.; OLIVEIRA, A. F. Condições higiênic-sanitárias, qualidade microbiológica e teste de susceptibilidade antimicrobiana de cepas isoladas de sanduíches comercializados por ambulantes. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 69, n. 4, p. 489 - 496, 2010.

GAVA, A. J. **Princípios de tecnologia de alimentos**. São Paulo: Nobel, 2004.

GOLDSTEIN, R. E. R.; MICALLEF, S. A.; GIBBS, S. G.; GEORGE, A.; CLAYE, E.; SAPKOTA, A.; JOSEPH, S.; SAPKOTA, A. R. Detection of vancomycin-resistant enterococci (VRE) at four U.S. wastewater treatment plants that provide effluent for reuse. **Science of the Total Environment**, v. 466 – 467, p. 404 – 411, 2014.

GOODBURN, C.; WALLACE, C. A. The microbiological efficacy of decontamination methodologies for fresh produce: A review. **Food Control**, v. 32, n. 2, p. 418 - 427, 2013.

GUIMARÃES, A. G.; CARDOSO, R. C. V.; AZEVÊDO, P. F.; MENESES, R. B. Perfil de susceptibilidade antimicrobiana de bactérias isoladas de queijos coalho. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 71, n. 2, p. 259 - 265, 2012.

GUVEN, K.; MUTLU, M. B.; GULBANDILAR, A.; CAKIR, P. Occurrence and characterization of *Staphylococcus aureus* isolated from meat and dairy products consumed in turkey. **Journal of Food Safety**, v. 30, n. 1, p. 196 – 212, 2010.

HANSON, L. A.; ZAHN, E. A.; WILD, S. R.; DÖPFER, D.; SCOTT, J; STEIN, C. Estimating global mortality from potentially foodborne diseases: an analysis using vital registration data. **Population Health Metrics**, v. 10, n. 5, p. 1 – 7, 2012.

HEDAYATI, M. T.; MAYAHI, S.; MOVAHEDI, M.; SHOKOHI, T. Study on fungal flora of tap water as a potential reservoir of fungi in hospitals in Sari city, Iran. **Journal de Mycologie Médicale**, v. 21, n. 1, p. 10 – 14, 2011.

HEINRICHS, G.; HÜBNER, I.; SCHMIDT, C. K.; HOOG, G. S.; HAASE, G. Analysis of Black Fungal Biofilms Occurring at Domestic Water Taps (II): Potential Routes of Entry. **Mycopathologia**, v. 175, n. 5 – 6, p. 399 – 412, 2013.

HOA, N. T. V.; NODA, S.; UGA, S.; THUAN, L. K.; AOKI, Y.; FUJIMAKI, Y. Parasite egg contamination of hands in a suburban area of Hanoi, Vietnam. **Tropical Medicine and Health**, v. 38, n. 2, p. 75 – 79, 2010.

HUNT, M. E.; RICE, E. W. Microbiological examination. In: EATON et al. **Standard Methods for the Examination of Water e Wastewater**, 21° ed. Washington: American Public Health Association (APHA), American Water Works Association (AWWA) & Water Environment Federation (WEF), 2005. Part 9000, p. 9.1 – 9.169.

ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods). **Microorganisms in Foods 5. Microbiological Specifications of Food Pathogens**. Blackie Academic & Professional, London, 1996.

JALOUSTRE, S.; GUILLIER, L.; MORELLI, E.; NOËL, V.; DELIGNETTE-MULLER, M. L. Modeling of *Clostridium perfringens* vegetative cell inactivation in beef-in-sauce products: A meta-analysis using mixed linear models. **International Journal of Food Microbiology**, v. 154, n. 1-2, p. 44 - 51, 2012.

JUNIOR, J. P.; GONTIJO, E. E. L.; SILVA, M. G. Perfil parasitológico e microbiológico de alfaces comercializadas em restaurantes self-service de Gurupi – TO. **Revista Científica do ITPAC**, v. 5, n. 1, p. 1 – 8, 2012.

KANZLER, D.; BUZINA, W.; PAULITSCH, A.; HAAS, D.; PLATZER, S.; MARTH, E.; MASCHER, F. Occurrence and hygienic relevance of fungi in drinking water. **Mycoses**, v. 51, n. 2, p. 165 – 169, 2007.

KEERATIPIBUL, S.; TECHARUWICHIT, P.; CHATURONGKASUMRIT, Y. Contamination sources of coliforms in two different types of frozen ready-to-eat shrimps. **Food Control**, v. 20, n. 3, p. 289 – 293, 2009.

KORNACKI, J. L.; JOHNSON, J. L. *Enterobacteriaceae*, coliforms, and *Escherichia coli* as quality and safety indicators. In: DOWNES, F. P.; ITO, K. **Compendium of**

Methods for the Microbiological Examination of Foods, 4° ed. Washington: American Public Health Association, 2001, p. 69 - 82.

KOTZEKIDOU, P. Microbiological examination of ready-to-eat foods and ready-to-bake frozen pastries from university canteens. **Food Microbiology**, v. 34, n. 2, p. 337 – 343, 2013a.

KOTZEKIDOU, P. Survey of *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp. and *Escherichia coli* O157:H7 in raw ingredients and ready-to-eat products by commercial real-time PCR kits. **Food Microbiology**, v. 35, n. 2, p. 86 – 91, 2013b.

LANCETTE, G. A.; BENNETT, R. W. *Staphylococcus aureus* and staphylococcal enterotoxins. In: DOWNES, F. P.; ITO, K. **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**, 4° ed. Washington: American Public Health Association, 2001, p. 387 - 403.

LEE, S. W.; LEE, D. K.; AN, H. M.; CHA, M. K.; KIM, K. J.; HA, N. J. Enteropathogenic Bacteria Contamination of Unchlorinated Drinking Water in Korea, 2010. **Environmental Health and Toxicology**, v. 26, e. 2011016, p. 1 - 5, 2011.

LOCKIS, V. R.; CRUZ, A. G.; WALTER, E. H. M.; FARIA, J. A. F.; GRANATO, D.; SANT'ANA, A. S. Prerequisite Programs at Schools: Diagnosis and Economic Evaluation. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 8, n. 2, p. 213 – 220, 2011.

MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; DUNLAP, P. V.; CLARK, D. P. **Microbiologia de Brock**. 12° ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. 1160 p.

MANGUIAT, L. S.; FANG, T. J. Microbiological quality of chicken- and pork-based street-vended foods from Taichung, Taiwan, and Laguna, Philippines. **Food Microbiology**, v. 36, n. 1, p. 57 - 62, 2013.

MARZANO, M. A.; BALZARETTI, C. M. Cook-serve method in mass catering establishments: Is it still appropriate to ensure a high level of microbiological quality and safety? **Food Control**, v. 22, n. 12, p. 1844 - 1850, 2011.

MEDEIROS, C. O; CAVALLI, S. B.; SALAY, E.; PROENÇA, R. P. C. Assessment of the methodological strategies adopted by food safety training programmes for food service workers: A systematic review. **Food Control**, v. 22, n. 8, p. 1136 - 1144, 2011.

MELLATA, M. Human and Avian Extraintestinal Pathogenic *Escherichia coli*: Infections, Zoonotic Risks, and Antibiotic Resistance Trends. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 10, n. 11, p. 916 – 932, 2013.

MIDURA, T. F.; BRYANT, R. G. Sampling plans, sample collection, shipment, and preparation for analysis. In: DOWNES, F. P.; ITO, K. **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**, 4^o ed. Washington: American Public Health Association (APHA), 2001. p. 13 – 23.

MIYAMOTO, K.; LI, J.; MCCLANE, B. A. Enterotoxigenic *Clostridium perfringens*: Detection and Identification. **Microbes and Environments**, v. 27, n. 4, p. 343 - 349, 2012.

MODIS, Y. Exploiting structural biology in the fight against parasitic diseases. **Trends in Parasitology**, v. 28, n. 4, p. 124 – 130, 2012.

MORTON, R. D. Aerobic plate count. In: DOWNES, F. P.; ITO, K. **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**, 4^o ed. Washington: American Public Health Association, 2001. Chapter 7, p. 63 - 67.

MUKHOPADHYAY, C.; VISHWANATH, S.; ESHWARA, V. K.; SHANKARANAYANA, S. A.; SAGIR, A. Microbial quality of well water from rural and urban households in Karnataka, India: A cross-sectional study. **Journal of Infection and Public Health**, v. 5, n. 3, p. 257 - 262, 2012.

NAESS, H.; NYLAND, M.; HAUSKEN, T.; FOLLESTAD, I.; NYLAND, H. I. Chronic fatigue syndrome after *Giardia* enteritis: clinical characteristics, disability and long-term sickness absence. **BMC Gastroenterology**, v. 12, n. 13, p. 1 - 7, 2012.

NEVES, D. P.; FILIPPIS, T. **Parasitologia Básica**. 2º ed. São Paulo: Atheneu, 2010. 196 p.

NOLLA, A. C.; CANTOS, G. A. Prevalência de enteroparasitoses em manipuladores de alimentos, Florianópolis, SC. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 38, n. 6, p. 524 - 525, 2005.

NUNES, M. M.; MOTA, A. L. A. A.; CALDAS, E. D. Investigation of food and water microbiological conditions and foodborne disease outbreaks in the Federal District, Brazil. **Food Control**, v. 34, n. 1, p. 235 – 240, 2013.

OLAIMAT, A. N.; HOLLEY, R. A. Factors influencing the microbial safety of fresh produce: A review. **Food Microbiology**, v. 32, n. 1, p. 1 - 19, 2012.

OLIVEIRA, A. B. A.; CAPALONGA, R.; SILVEIRA, J. T.; TONDO, E. C.; CARDOSO, M. R. I. Avaliação da presença de microrganismos indicadores higiênico-sanitários em alimentos servidos em escolas públicas de Porto Alegre – Brasil. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 18, n. 4, p. 955 – 962, 2013.

OLIVEIRA, A. B. A.; CUNHA, D. T.; STEDEFELDT, E.; CAPALONGA, R.; TONDO, E. C.; CARDOSO, M. R. I. Hygiene and good practices in school meal services: organic matter on surfaces, microorganisms and health risks. **Food Control**, v. 40, n. 1, p. 120 – 126, 2014.

ONU – Organização das Nações Unidas. **Declaração Universal dos Direitos Humanos**. Disponível em: <<http://www.un.org/en/documents/udhr/index.shtml#a25>>. Acesso em: 04 jul. 2013.

OSAILI, T. M.; JAMOUS, D. O. A.; OBEIDAT, B. A.; BAWADI, H. A.; TAYYEM, R. F.; SUBIH, H. S. Food safety knowledge among food workers in restaurants in Jordan. **Food Control**, v. 31, n. 1, p. 145 – 150, 2013.

PASSOS, E. C.; ALMEIDA, C. S.; ROSA, J. P.; ROZMAN, L. M.; MELLO, A. R. P.; SOUZA, C. V.; PASCHOAL, R. C.; TAVARES, M. Surto de toxinfecção alimentar em funcionários de uma empreiteira da construção civil no município de Cubatão, São Paulo/Brasil. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 67, n. 3, p. 238, 2008.

PAVITHRA, M.; GHOSH, A. R. Multidrug-resistant *stx1* harboring *Escherichia coli* from meat shop and fast food. **Journal of Food Safety**, v. 33, n. 4, p. 453 – 460, 2013.

PEREIRA, V. J.; BASÍLIO, M. C.; FERNANDES, D.; DOMINGUES, M.; PAIVA, J. M.; BENOLIEL, M. J.; CRESPO, M. T.; SAN ROMÃO, M. V. Occurrence of filamentous fungi and yeasts in three different drinking water sources. **Water Research**, v. 43, n. 15, p. 3813 – 3819, 2009.

PÉREZ-RODRÍGUEZ, F.; POSADA-IZQUIERDO, G. D.; VALERO, A.; GARCÍA-GIMENO, R. M.; ZURERA, G. Modelling survival kinetics of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* O157:H7 on stainless steel surfaces soiled with different substrates under static conditions of temperature and relative humidity. **Food Microbiology**, v. 33, n. 2, p. 197 - 204, 2013.

PITT, J. I.; HOCKING, A. D. **Fungi and Food Spoilage**, 2º ed. London: Springer, 2009.

POPOFF, M. Y.; LE MINOR, L. E. Genus XXXIII *Salmonella*. In: BRENNER, D. J., KRIEG, N. R.; STALEY, J. T. **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology**, 2º ed., v. 2. New York: Springer Science+Business Media Inc., 2005, p. 764 – 799.

POWELL, D. A.; ERDOZAIN, S.; DODD, C.; COSTA, R.; MORLEY, K.; CHAPMAN, B. J. Audits and inspections are never enough: A critique to enhance food safety. **Food Control**, v. 30, n. 2, p. 686 – 691, 2013.

PUERTA-GOMEZ, A. F.; KIM, J.; MOREIRA, R. G.; KLUTKE, G. A.; CASTELL-PEREZ, M. E. Quantitative assessment of the effectiveness of intervention steps to reduce the risk of contamination of ready-to-eat baby spinach with *Salmonella*. **Food Control**, v. 31, n. 2, p. 410 - 418, 2013.

RAMOS; M. L. M.; SCATENA, M. F.; RAMOS, M. I. L. Qualidade higiênico-sanitária de uma unidade de alimentação e nutrição institucional de Campo Grande, MS. **Higiene Alimentar**, v. 22, n. 161, p. 25 - 31, 2008.

RITCHIE, L. S. An ether sedimentation technique for routine stool examination. **Bulletin of the United States Army Medical Department**, v. 8, n. 4, p. 326 - 1948.

ROSE, D. D. Intervenções para reduzir a insegurança alimentar: uma síntese dos atuais conceitos e abordagens para a América Latina. **Revista de Nutrição**, v. 21, p. 159 - 173, 2008. Suplemento.

RYU, J. H.; KO, J.; PARK, H.; YANG, S.; KIM, H. Microbial Examination of Nonheated Foods Served in Feeding Programs of Elementary Schools, Iksan City, Jeonbuk Province, Korea. **Journal of Food Protection**, v. 74, n. 9, p. 1564 – 1568, 2011.

SANTANA, N. G.; ALMEIDA, R. C. C.; FERREIRA, J. S.; ALMEIDA, P. F. Microbiological quality and safety of meals served to children and adoption of good manufacturing practices in public school catering in Brazil. **Food Control**, v. 20, n. 3, p. 255 – 261, 2009.

SCHROEDER, C. M.; WHITE, D. G.; MENG, J. Retail meat and poultry as a reservoir of antimicrobial-resistant *Escherichia coli*. **Food Microbiology**, v. 21, n. 3, p. 249 – 255, 2004.

SENGUN, I. Y.; KARAPINAR, M. Effectiveness of household natural sanitizers in the elimination of *Salmonella typhimurium* on rocket (*Eruca sativa* Miller) and spring onion (*Allium cepa* L.). **International Journal of Food Microbiology**, v. 98, n. 3, p. 319 – 323, 2005.

SHERKHONOV, T.; YAP, P.; MAMMADOV, S.; SAYFUDDIN, K.; MARTINEZ, P.; AMOSS, W. P.; WIENTZEN, R. L.; STEINMANN, P. National intestinal helminth survey among schoolchildren in Tajikistan: Prevalences, risk factors and perceptions. **Acta Tropica**, v. 126, n. 2, p. 93 – 98, 2013.

SILVA JUNIOR, E. A. **Manual de controle higiênico-sanitário em serviços de alimentação**. 6º ed. São Paulo: Varela, 2008. 625 p.

SIQUEIRA, V. M.; OLIVEIRA, H. M. B.; SANTOS, C.; PATERSON, R. R. M.; GUSMÃO, N. B.; LIMA, N. Biofilms from a Brazilian water distribution system include filamentous fungi. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 59, n. 3, p. 183 – 188, 2013.

SOARES, L. S.; ALMEIDA, R. C. C.; CERQUEIRA, E. S.; CARVALHO, J. S.; NUNES, I. L. Knowledge, attitudes and practices in food safety and the presence of coagulase-positive staphylococci on hands of food handlers in the schools of Camaçari, Brazil. **Food Control**, v. 27, n. 1, p. 206 - 213, 2012.

SOSPEDRA, I.; RUBERT, J.; SORIANO, J. M.; MAÑES, J. Survey of microbial quality of plant-based foods served in restaurants. **Food Control**, v. 30, n. 2, p. 418 – 422, 2013.

SOUSA, C. P. The Impact of Food Manufacturing Practices on Food borne Diseases. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 51, n. 4, p. 815 - 823, 2008.

SVEUM, W. H.; MOBERG, L. J.; RUDE, R. A.; FRANK, J. F. Microbiological monitoring of the food processing environment. In: VANDERZANT, C.; SPLITTSTOESSER, D. F. **Compendium for the microbiological examination of foods**. 3° ed. Washington: AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION - APHA, 1992. p. 51 - 74.

SWANSON, K. M. J.; PETRAN, R. L.; HANLIN, J. H. Culture Methods for enumeration of microorganisms. In: DOWNES, F. P; ITO, K. **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**, 4° ed. Washington: American Public Health Association (APHA), 2001. p. 53 - 67.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 8° ed. São Paulo: Artmed, 2008. 894 p.

VIEIRA, C. R. N.; SILVA, R. R.; MARTINO, H. S. D.; CHAVASCO, J. K. Qualidade microbiológica da merenda escolar servida nas escolas estaduais de Poços de Caldas, MG. **Higiene Alimentar**, v. 19, n. 128, p. 90 - 94, 2005.

WANG, X.; MENG, J.; ZHANG, J.; ZHOU, T.; ZHANG, Y.; YANG, B.; XI, M.; XIA, X. Characterization of *Staphylococcus aureus* isolated from powdered infant formula milk and infant rice cereal in China. **International Journal of Food Microbiology**, v. 153, n. 1 – 2, p. 142 – 147, 2012.

WERLE, C. H.; PEREIRA, A. P. M.; GONÇALVES, T. M. V.; HOFFMANN, F. L. Estudo das condições de preparo da merenda escolar em creches. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 71, n. 4, p. 741 – 746, 2012.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Health topics: Salmonella**. Disponível em: <<http://www.who.int/topics/salmonella/en/index.html>>. Acesso em: 01 fev. 2013.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Health topics: *Escherichia coli* infections.** Disponível em: <http://www.who.int/topics/escherichia_coli_infections/en/index.html>. Acesso em: 02 fev. 2013.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Global Alert and Response (GAR): 2000 - Staphylococcal food intoxication in Japan.** Disponível em: <http://www.who.int/csr/don/2000_07_10/en/index.html>. Acesso em: 03 fev. 2013.

ZAIDI, M. B.; CAMPOS, F. D.; GARCÍA, T. E.; GUTIERREZ, F.; LEÓN, M.; CHIM, R.; CALVA, J. J. Burden and Transmission of Zoonotic Foodborne Disease in a Rural Community in Mexico. **Clinical Infectious Diseases**, v. 55, n. 1, p. 51 – 60, 2012.

ZANATTA, G. F.; KANASHIRO, A. M. I.; CASTRO, A. G. M.; CARDOSO, A. L. S. P.; TESSARI, E. N. C.; PULICI, S. C. P. Susceptibilidade de amostras de *Escherichia coli* de origem aviária a antimicrobianos. **Arquivos do Instituto de Biologia**, v. 71, n. 3, p. 283 - 286, 2004.

APÊNDICE

1- QUESTIONÁRIO - HIGIENE E CONHECIMENTO DAS MANIPULADORAS DE ALIMENTOS

DATA:

- 1) QUAIS CUIDADOS SE DEVEM TER COM ALIMENTOS ENLATADOS? POR QUÊ?
- 2) SE VOCÊ DESCONGELA UM ALIMENTO ELE PODERÁ SER CONGELADO NOVAMENTE?
SIM NÃO
- 3) DE QUE MANEIRA VOCÊ DESCONGELA OS ALIMENTOS? VOCÊ ACHA ESSE MÉTODO CORRETO? POR QUÊ?
- 4) COMO VOCÊ SABE QUANDO A COMIDA ESTÁ ESTRAGADA OU CONTAMINADA?
- 5) O QUE TE FAZ DESCARTAR UM ALIMENTO?
- 6) QUAIS OS PRINCIPAIS SINTOMAS DE UMA INFECÇÃO ALIMENTAR? TUDO BEM SE VOCÊ TRABALHA SE ESTIVER COM ESSES SINTOMAS?
- 7) VOCÊ ACHA QUE UMA DOENÇA TRANSMITIDA POR UM ALIMENTO PODE LEVAR A MORTE?
SIM NÃO
- 8) VOCÊ SABE QUAL É A PRINCIPAL VIA DE CONTAMINAÇÃO DE UM ALIMENTO?
- 9) VOCÊ SABE QUAL A TEMPERATURA ÓTIMA PARA O CRESCIMENTO DE MICRO-ORGANISMO EM UM ALIMENTO?
- 10) QUAL A TEMPERATURA MÍNIMA DE SEGURANÇA PARA MANTER OS ALIMENTOS QUENTES?
- 11) VOCÊ ACHA QUE A PREPARAÇÃO DE ALIMENTOS COM ANTECEDÊNCIA É MAIS SUSCEPTÍVEL DE CONTRIBUIR PARA A INTOXICAÇÃO ALIMENTAR?

SIM NÃO

12) VOCÊ LAVA OS UTENSÍLIOS ANTES QUE OS MESMOS ENTREM EM CONTATO COM O ALIMENTO? DE QUE FORMA?

SIM NÃO ÀS VEZES

13) VOCÊ ACHA QUE ESTÁ CORRETO O MODO DE COMO A HIGIENE DA COZINHA É FEITA? SE NÃO, COMO VOCÊ ACHA QUE DEVERIA SER FEITA?

SIM NÃO ÀS VEZES

14) OS PRODUTOS DE LIMPEZA SÃO GUARDADOS EM LOCAL SEPARADO DOS ALIMENTOS? SE NÃO, VOCÊ ACHA NECESSÁRIO QUE ISSO SEJA FEITO? SE SIM, PORQUE ACHA IMPORTANTE ESSE CUIDADO?

SIM NÃO ÀS VEZES

15) APÓS LAVAR A LOUÇA, É ASPERGIDA UMA SOLUÇÃO CLORADA NOS UTENSÍLIOS?

SIM NÃO ÀS VEZES

16) PARA VOCÊ, QUAL É O JEITO CORRETO DE LAVAR AS VERDURAS? E VOCÊ UTILIZA ESSE JEITO? CASO NÃO, POR QUÊ?

17) VOCÊ SEPARA OS ALIMENTOS CRUS DOS COZIDOS? PORQUE DEVEMOS TER ESSE CUIDADO? OU CONSIDERA DESNECESSÁRIO?

SIM NÃO ÀS VEZES

18) VOCÊ UTILIZA A MESMA TÁBUA PARA PICAR TODOS OS TIPOS DE ALIMENTOS?

SIM NÃO ÀS VEZES

19) VOCÊ USA OS CABELOS PRESOS E COM TOUCAS?

SIM NÃO ÀS VEZES

20) VOCÊ USA AVENTAIS SEMPRE LIMPOS?

SIM NÃO ÀS VEZES

21) VOCÊ TROCA OS AVENTAIS DIARIAMENTE?

SIM NÃO ÀS VEZES

- 22) VOCÊ MANIPULA ALIMENTOS QUANDO ESTÁ DOENTE (EX: RESFRIADO)?
SIM NÃO ÀS VEZES
- 23) VOCÊ MANIPULA ALIMENTOS COM ALGUM TIPO DE LESÃO NAS MÃOS OU UNHAS?
SIM NÃO ÀS VEZES
- 24) VOCÊ MANTÉM AS UNHAS CURTAS E LIMPAS?
SIM NÃO ÀS VEZES
- 25) VOCÊ USA ESMALTE NA UNHA DIARIAMENTE?
SIM NÃO ÀS VEZES
- 26) VOCÊ USA ADORNOS DURANTE A MANIPULAÇÃO DOS ALIMENTOS? (BRINCOS, PULSEIRAS, ANÉIS, ALIANÇA, PIERCING, ETC)
SIM NÃO ÀS VEZES
- 27) VOCÊ CONVERSA, CANTA, TOSSE OU ESPIRRA SOBRE OS ALIMENTOS?
SIM NÃO ÀS VEZES
- 28) VOCÊ FUMA NO SEU LOCAL TRABALHO? APÓS LAVA AS MÃOS?
SIM NÃO ÀS VEZES
- 29) VOCÊ COSTUMA ESPERIMENTAR A COMIDA PARA VER SE ESTÁ BOA? E APÓS, DESPREZA A COLHER?
SIM NÃO ÀS VEZES
- 30) COMO VOCÊ COSTUMA PROVAR OS ALIMENTOS?
- 31) VOCÊ MASCA GOMA OU COME DURANTE O SERVIÇO?
SIM NÃO ÀS VEZES
- 32) VOCÊ COSTUMA PASSAR OS DEDOS OU MÃOS NO NARIZ, BOCA, ORELHA, CABEÇA OU QUALQUER PARTE DO CORPO? SE SIM OU ÀS VEZES ONDE?
SIM NÃO ÀS VEZES
- 33) SE VOCÊ COSTUMA PASSAR OS DEDOS OU MÃOS EM QUALQUER PARTE DO CORPO, EM SEGUIDA VOCÊ USA LAVAR AS MÃOS?
SIM NÃO ÀS VEZES

- 34) PARA VOCÊ COMO É O MODO CORRETO DE LAVAR AS MÃOS?
- 35) VOCÊ LAVA AS MÃOS COM ÁGUA E SABÃO OU APENAS ÁGUA?
- 36) VOCÊ COSTUMA LAVAR AS MÃOS AO SAIR DO BANHEIRO OU VESTIÁRIO?
SIM NÃO ÀS VEZES
- 37) VOCÊ LAVA AS MÃOS APÓS TOCAR ALIMENTOS PODRES E ESTRAGADOS?
SIM NÃO ÀS VEZES
- 38) VOCÊ LAVA AS MÃOS APÓS CARREGAR O LIXO?
SIM NÃO ÀS VEZES
- 39) VOCÊ LAVA AS MÃOS ANTES DE ENTRAR EM CONTATO COM OS UTENSÍLIOS?
SIM NÃO ÀS VEZES
- 40) VOCÊ COSTUMA LIMPAR AS MÃOS NO AVENTAL?
SIM NÃO ÀS VEZES

APÊNDICE

2 – LISTA DE VERIFICAÇÃO DAS BOAS PRÁTICAS DE FABRICAÇÃO DA COZINHA PILOTO PRODUTORA DA MERENDA ESCOLAR CHECK-LIST

DATA:

1. AVALIAÇÃO DA EDIFICAÇÃO E DAS INSTALAÇÕES	SIM	NÃO
1.1 Área externa da cozinha livre de sucatas, lixo, terra, poeira, água parada, vetores ou outros animais?		
1.2 Vias de acesso interno com superfície dura ou pavimentada, adequada ao trânsito sobre rodas, escoamento adequado e limpas?		
1.3 Acesso direto à cozinha, não comum a outros usos (habitação)?		
1.4 Área interna da cozinha livre de objetos estranhos ao ambiente e em desuso?		
1.5 Os pisos são de material liso, resistente, drenados com declive, impermeável, sem trincas, rachaduras e buracos?		
1.6 Drenos e ralos sanfonados e grelhas adequadas ao escoamento e protegidas contra a entrada de baratas, roedores, etc?		
1.7 O teto possui acabamento liso, em cor clara, impermeável, de fácil limpeza e, quando for o caso desinfecção?		
1.8 O teto está conservado (livre de trincas, rachaduras, umidade, bolor e descascamento)?		
1.9 As paredes e divisórias possuem acabamento liso, impermeável, de fácil higienização, altura adequada e fácil higienização?		
1.10 As paredes e divisórias possuem adequado estado de conservação (livres de falhas, rachaduras, umidade e descascamento)		
1.11 As portas possuem superfície lisa, de fácil higienização, ajustadas ao batente, livres de falhas, rachaduras e descascamentos?		
1.12 As portas externas possuem fechamento automático (mola) e com barreira para impedir entrada de insetos e outros animais?		
1.13 As janelas possuem superfície lisa, de fácil higienização, sem falhas de revestimento?		
1.14 As janelas possuem proteção contra insetos e roedores, e estão em adequado estado de conservação?		
1.15 Os sanitários são mantidos limpos?		
1.16 Há sanitários independentes para cada sexo, identificado e de uso exclusivo dos manipuladores?		
1.17 Sanitários em proporção adequada ao número de empregados?		
1.18 Sanitários servidos de água corrente, com torneira de acionamento automático e conectados à rede de esgoto?		
1.19 Sanitários com ausência de comunicação direta com		

área de trabalho e de refeições?		
1.20 Sanitários com portas de fechamento automático?		
1.21 Sanitários com pisos e paredes em adequado estado de conservação?		
1.22 Sanitários com iluminação e ventilação adequada?		
1.23 Sanitários com papel higiênico, sabonete líquido inodoro ou anti-séptico e toalhas de papel não reciclada?		
1.24 Sanitários possuem lixeiras com tampa, acionamento não manual e coleta frequente do lixo?		
1.25 Sanitários possuem informações do procedimento de lavagem das mãos?		
1.26 Vestiários com área compatível e armários individuais?		
1.27 Banheiro possui duchas ou chuveiros?		
1.28 Há lavatórios na área de manipulação com acionamento automático, com sabonete líquido, escova para as mãos e toalhas de papel?		
1.29 Iluminação natural ou artificial adequada, sem ofuscamento, reflexos fortes, sombras e contrastes excessivos?		
1.30 As luminárias possuem proteção adequada contra quebras e estão em adequado estado de conservação?		
1.31 As instalações elétricas são embutidas ou quando exteriores revestidas por tubulações presas a parede?		
1.32 A ventilação e circulação do ar são capazes de garantir o conforto térmico?		
1.33 O sistema de exaustão possuem filtros adequados?		
2. AVALIAÇÃO DA SANITIZAÇÃO	SIM	NÃO
2.1 A higienização das instalações são frequentes e adequadas?		
2.2 Os produtos de higienização são regularizados pelo Ministério da Saúde?		
2.3 A diluição dos produtos de higienização, tempo de contato e modo de uso obedecem às instruções recomendadas pelo fabricante?		
2.4 Os produtos de higienização são identificados e guardados em local adequado?		
2.5 Há disponibilidade adequada de esponjas e escovas para a realização da higienização e em bom estado de conservação?		
2.6 Há presença de vetores e pragas ou evidências de sua presença na cozinha?		
2.7 Há adoção de medidas preventivas para impedir a atração, o abrigo, o acesso e proliferação de vetores e pragas?		
2.8 Há comprovante de execução de serviço de controle de vetores de pragas?		
2.9 Os recipientes para coleta de resíduos no interior da cozinha é de fácil higienização e transporte, com uso de sacos plásticos e com acionamento não manual?		
2.10 A retirada dos resíduos é frequente e existe uma área adequada para estocagem?		
3. AVALIAÇÃO DOS EQUIPAMENTOS EM GERAL	SIM	NÃO
3.1 Os equipamentos possuem superfícies de contato com o alimento liso, íntegro, impermeável, resistente à corrosão, de fácil higienização e de material não contaminante?		
3.2 Os equipamentos estão em adequado estado de conservação e funcionamento?		

3.3 Os equipamentos de conservação de alimentos (refrigeradores, congeladores, câmaras frigoríficas e outros), bem como os destinados ao processamento térmico, com medidor de temperatura localizado em local apropriado e em adequado funcionamento?		
3.4 Há existência de planilhas de registro da temperatura, conservadas durante período adequado?		
3.5 Há móveis suficientes, de material resistente, liso, impermeável, em adequado estado de conservação e limpeza e sem rachaduras?		
3.6 Os utensílios são de materiais resistentes à corrosão, de fácil higienização, em adequado estado de conservação e limpeza?		
3.7 Os utensílios são armazenados em local apropriado, de forma organizada e protegidos contra a contaminação?		
4. AVALIAÇÃO DE RECURSOS HUMANOS	SIM	NÃO
4.1 Os uniformes de trabalho são de cor clara, adequado à atividade, aventais fechados e sapatos fechados?		
4.2 Os uniformes estão limpos e em adequado estado de conservação?		
4.3 Os uniformes só são usados nas dependências internas do estabelecimento?		
4.4 As manipuladoras possuem unhas limpas, curtas, sem esmalte, sem adornos e com cabelos protegidos?		
4.5 As manipuladoras lavam cuidadosamente as mãos antes da manipulação de alimentos, principalmente após qualquer interrupção e depois do uso de sanitários?		
4.6 As manipuladoras não espirram sobre os alimentos, não cospem, não tosem, não fumam, não manipulam dinheiro ou não praticam outros atos que possam contaminar o alimento?		
4.7 Há cartazes de orientação às manipuladoras sobre a correta lavagem das mãos e demais hábitos de higiene, afixado em locais apropriados?		
4.8 As manipuladoras possuem ausência de afecções cutâneas, feridas, supurações, infecções respiratórias, gastrointestinais e oculares?		
4.9 Há a existência de exame anual e admissional das manipuladoras?		
4.10 Há uso de proteção de cabelo pelos visitantes para a área de produção de alimentos?		
4.11 Há existência de programa de capacitação adequado e contínuo relacionado à higiene pessoal e à manipulação dos alimentos?		
4.12 Há existência de supervisão da higiene pessoal e manipulação dos alimentos por um supervisor comprovadamente capacitado?		
5. AVALIAÇÃO DE PRODUÇÃO E TRANSPORTE DO ALIMENTO	SIM	NÃO
5.1 As operações de recepção da matéria-prima, ingredientes e embalagens são realizadas em local protegido e isolado da área de processamento?		
5.2 As matérias-primas, ingredientes e embalagens são inspecionados na recepção?		
5.3 Há existência de planilhas de controle na recepção (temperatura, características sensoriais e condições de transporte)?		

5.4 Os critérios estabelecidos para a seleção das matérias-primas são baseados na segurança do alimento?		
5.5 As matérias-primas são armazenadas em local adequado e organizado; sobre estrados distantes do piso, ou sobre paletes, bem conservados e limpos, afastados da parede e distantes do teto, de forma que permita apropriada higienização, iluminação e circulação de ar?		
5.6 O uso das matérias-primas, ingredientes e embalagens respeita a ordem de entrada dos mesmos, sendo observado o prazo de validade?		
5.7 A rede de frio é adequada ao volume e aos diferentes tipos de matérias-primas e ingredientes?		
5.8 A rotulagem do produto final possui identificação visível e de acordo com a legislação?		
5.9 O produto final é acondicionado em embalagens adequadas e íntegras?		
5.10 Os alimentos são armazenados separados por tipo ou grupo, sobre estrados distantes do piso, bem conservados e limpos, afastados da parede e do teto de forma a permitir apropriada higienização, iluminação e circulação de ar?		
5.11 Há ausência de material estranho, estragado ou tóxico no produto final?		
5.12 O produto final é armazenado em local limpo e conservado?		
5.13 Os alimentos perecíveis são mantidos na temperatura de congelamento -18°C, refrigeração (entre 2 e 10°C), ou aquecimento acima de 65°C, de acordo com o produto? Possui controle adequado e existência de planilhas de registro de temperatura?		
5.14 Há existência de controle de qualidade do produto final?		
5.15 Há existência de laudo laboratorial atestando o controle de qualidade do produto final, assinado pelo técnico da empresa responsável pela análise?		
5.16 O transporte do produto final é realizado em veículo limpo, com cobertura para proteção de carga e ausente de vetores e pragas?		
5.17 O veículo transporta outras cargas que comprometem a segurança do produto?		
5.18 Há presença de equipamento para controle de temperatura?		

Autorizo a reprodução xerográfica para fins de pesquisa.

São José do Rio Preto, ____/____/____

Assinatura