

Aos meus pais pela  
minha educação,  
formação e pelo incentivo

Aos meus irmãos pelo  
companheirismo e apoio  
constantes

**"Não somos amados por sermos bons. Somos bons porque somos amados."**

**Desmond Tutu**

**"Esquecer os ancestrais é como ser um riacho sem nascente, uma árvore sem raiz."**

**Provérbio chinês**

**À Kátia Aparecida Giroto,  
fonte de inspiração e de auxílio  
em todos os momentos**

**Aos amigos, fonte incessante de  
incentivo**

**“Foi o tempo que dedicaste à tua rosa que fez tua rosa tão importante.”**

**Saint Exupéry**

**“Só existe uma coisa melhor do que fazer novos amigos. Conservar os velhos.”**

**Elmer G. Letterman**

## Agradecimentos

Ao professor Pedro Manuel Leal Germano pela orientação e apoio

À professora Maria Helena Matté pelas sugestões e acompanhamento constantes

À professora Simone de Carvalho Balian pelas preciosas observações

Aos tios Délcio e Denise por todo o apoio dispensado

Às tias e tio Mary, Sueli e Ozanir pelo carinho freqüente

Ao médico veterinário Jorge Luiz Meneghello pelo apoio no momento necessário

À pesquisadora Agnes Hanashiro pelas informações e apoio

À todas as funcionárias do departamento de Saúde Pública pela paciência e compreensão

Às funcionárias do departamento de pós-graduação pela dedicação e presteza

Às “meninas” do laboratório de Saúde Pública pela valiosa colaboração

Ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) pela bolsa de estudo

À todos aqueles que de alguma maneira contribuíram para que este estudo fosse realizado

**"A grandeza não consiste em receber honras, mas em merecê-las"**

Aristóteles

**LEVANTAMENTO DAS TEMPERATURAS DE**  
**DISTRIBUIÇÃO DE ALIMENTOS, DURANTE O**  
**PERÍODO DE SERVIÇO DE BUFÊ, EM**  
**RESTAURANTES SELF-SERVICE DO MUNICÍPIO DE**  
**SÃO PAULO E PESQUISA DE AGENTES**  
**PATOGÊNICOS E INDICADORES DE HIGIENE.**

ALEXANDRE PANOV MOMESSO

Dissertação de mestrado apresentada  
ao Departamento de Prática de Saúde  
Pública da Faculdade de Saúde  
Pública da Universidade de São  
Paulo para obtenção do grau de  
Mestre.

Área de concentração:

Serviços de Saúde

ORIENTADOR: PROF. DR. PEDRO MANUEL LEAL GERMANO

São Paulo

2002

# ÍNDICE

<b>1 INTRODUÇÃO</b>	
1.1 Aspectos Gerais.....	1
1.2 Causas de contaminação dos alimentos.....	6
1.3 Tipos de contaminação.....	13
1.3.1 Perigos físicos.....	13
1.3.2 Perigos químicos.....	14
1.3.3 Perigos biológicos.....	15
1.4 Microbiologia alimentar.....	16
1.4.1 Vírus.....	17
1.4.2 Protozoários.....	18
1.4.3 Fungos.....	18
1.4.4 Bactérias.....	19
1.4.4.1 <i>Salmonella</i> spp.....	21
1.4.4.2 Clostrídios.....	27
1.4.4.2.1 <i>Clostridium perfringens</i> .....	27
1.4.4.2.2 <i>Clostridium botulinum</i> .....	28
1.4.4.3 <i>Staphylococcus aureus</i> .....	29
1.4.4.4 Coliformes.....	31
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	<b>34</b>
2.1 Objetivo geral.....	34
2.2 Objetivos específicos.....	34
<b>3 MATERIAL E METODOS</b> .....	<b>35</b>
3.1 Colheita de amostras.....	35
3.2 Unidade amostral.....	35
3.3 Instrumentos de medição e registros.....	35
3.4 Preparo das amostras.....	36
3.4.1 Homogeneização.....	36
3.5 Análise das amostras.....	37
3.5.1 Coliformes.....	37

3.5.1.1 Identificação de <i>E. Coli</i> .....	37
3.5.2 <i>Salmonella</i> spp.....	37
3.5.3 <i>Staphylococcus aureus</i> .....	38
3.5.4 Clostrídios sulfito redutores.....	38
3.6 Parâmetros de referência.....	38
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>39</b>
<b>5 CONCLUSÕES.....</b>	<b>59</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>60</b>

#### ANEXOS

Anexo 1 - Pesquisa de coliformes fecais e *Escherichia coli*

Anexo 2 - Pesquisa de *Salmonella* spp

Anexo 3 - Pesquisa de *Staphylococcus* spp

Anexo 4 - Pesquisa de *Clostridium perfringens*

Anexo 5 - Critérios de distribuição de acordo com a portaria CVS 06 de 1999 (SÃO PAULO 1999)

## LISTA DE TABELAS E GRÁFICOS

<b>Gráfico 4.1</b> - Características dos balcões pesquisados quanto à proteção física.....	39
<b>Gráfico 4.2</b> - Classificação do total de amostras quanto às condições higiênico-sanitárias.....	41
<b>Gráfico 4.3</b> - Classificação das amostras em condições insatisfatórias quanto à quantidade de parâmetros microbiológicos fora do padrão legal .....	42
<b>Tabela 4.1</b> - Variação da ocorrência de coliformes fecais nas 80 amostras analisadas de acordo com os padrões legais vigentes.....	43
<b>Gráfico 4.4</b> - Classificação dos pratos quentes analisados de acordo com o padrão microbiológico vigente – Resolução RDC 12 de 2001.....	44
<b>Gráfico 4.5</b> - Classificação dos pratos frios analisados de acordo com o padrão microbiológico vigente – RDC 12 de 2001.....	45
<b>Tabela 4.2</b> - Variação das temperaturas encontradas em balcões quentes de estabelecimentos com serviço de Bufê.....	46
<b>Tabela 4.3</b> - Variação das temperaturas encontradas em balcões frios de estabelecimentos com serviço de Bufê.....	47
<b>Tabela 4.4</b> - Adequação das amostras de alimentos colhidos em balcões quentes de estabelecimentos com serviço de Bufê, quanto à sua microbiota, pesquisados de acordo com padrões legais vigentes, em relação à temperatura de distribuição.....	49
<b>Tabela 4.5</b> - Adequação das amostras de alimentos colhidos em balcões frios de estabelecimentos com serviço de Bufê, quanto à sua microbiota, pesquisados de acordo com padrões legais vigentes em relação a temperatura de distribuição.....	51
<b>Tabela 4.6</b> - Variação da temperatura de distribuição de alimentos colhidos em balcões quentes de estabelecimentos com serviço de Bufê em relação ao horário de colheita .....	52
<b>Tabela 4.7</b> - Variação da temperatura de distribuição de alimentos colhidos em balcões frios de estabelecimentos com serviço de Bufê em relação ao horário de colheita .....	52
<b>Tabela 4.8</b> - Classificação de alimentos colhidos em balcões de estabelecimentos com serviço de Bufê, de acordo com o padrão microbiológico vigente, em relação ao horário de colheita.....	54

<b>Tabela 4.9 – Classificação dos alimentos colhidos em balcões de estabelecimentos com serviço de Bufê, em relação ao padrão microbiológico vigente, de acordo com o tipo de alimento.....</b>	<b>56</b>
---	-----------

## RESUMO

**Introdução.** Através da observação de registros dos órgãos responsáveis por nossas vigilâncias sanitária e epidemiológica, da observação pessoal e de casos relatados nos principais periódicos, não só do Estado de São Paulo, mas do país todo, é percebido um crescente número de casos de intoxicações, infecções e toxinfecções alimentares originadas em estabelecimentos que utilizam o sistema de bufê, com balcões quentes e frios, o chamado *self-service*. A preocupação aumenta quando não observamos nenhum tipo de controle ou fiscalização neste tipo de estabelecimento, sendo que casos de surtos de intoxicações alimentares causados por situações semelhantes, na maioria das vezes, não são notificados levando a uma absoluta falta de parâmetros para avaliar a gravidade do problema e conseqüentemente para planejar ações que evitem estas ocorrências.

**Objetivos.** Este trabalho visou qualificar e quantificar os riscos inerentes ao processo de distribuição dos alimentos servidos em estabelecimentos comerciais do tipo *self-service* por quilo da cidade de São Paulo, identificando os fatores que possam ter contribuído para uma contaminação dos mesmos, quantificar os microrganismos de interesse presentes nas amostras colhidas, analisando a possível interferência do fator temperatura de distribuição sobre os mesmos. Para realização do presente trabalho foram coletadas 80 amostras de alimentos de 20 estabelecimentos que forneciam este tipo de serviço, sendo efetuadas e registradas medições das temperaturas dos alimentos durante a distribuição e análises microbiológicas de cada amostra. Os resultados foram analisados cruzando-os com os dados das temperaturas obtidos na colheita, a fim de verificar a interferência da falta de um controle deste parâmetro na qualidade microbiológica destes

microbiológica destes alimentos. **Resultados.** Em relação a temperatura dos pratos colhidos, do total de pratos quentes (40), apenas 8 (20%), encontravam-se com temperatura igual ou superior à 60° C, 18 (45%) com temperaturas entre 50 e 59,9° C, 11 (27,5%) encontravam-se com temperaturas entre 40 e 49,9° C e 3 (7,5%) com temperaturas menores de 40° C, variando de 30 a 35° C. A variação total do balcão quente foi de 30° C a 72° C. Em relação aos pratos frios, das 40 amostras colhidas, 20 (50%) encontravam-se expostos com temperaturas de 20° C ou mais no momento da colheita e apenas 3 (7,5%) com temperaturas abaixo dos 10° C, temperatura considerada ideal. Das 80 amostras analisadas, 53 (66,2%) mostraram-se em desacordo com os padrões microbiológicos vigentes, sendo que destas, 52 (65%) com índices de coliformes fecais acima do permitido, variando de 1,15 a  $>1,2 \times 10^7$  vezes acima dos limites legais. Todos os estabelecimentos tiveram pelo menos uma amostra em desacordo com os padrões legais.

**Descritores:** Doenças transmitidas por alimentos, boas práticas de fabricação de alimentos, controle de tempo e temperatura, microbiologia dos alimentos.

## ABSTRACT

**Introduction.** The investigation of registers from the agencies responsible for the sanitary and epidemiological inspection, our own investigation and cases reported in the main journals, not only in São Paulo State but all over the country, show an increasing number of foodborn diseases cases, originated in establishments that utilize buffet systems, with hot and cold counters, the so called self-service. There is even an increasing worry when it's not seen any kind of control or inspection in those establishments, at the same time that foodborn disease outbreaks caused by similar situations, most of the time are not notified, which leads to an absolute lack of parameters for evaluating the severity of the problem and consequently for planning actions that would avoid those incidents. **Aims.** This work has aimed to qualify and quantify the risks inherent in the process of distribution of food served in the self-service commercial establishments, where food is paid per weight, in the city of São Paulo, identifying the factors that may have contributed to the contamination of it, and also to quantify the microorganisms of interest present in the collected samples, analyzing the probable interference of the distribution temperature factor in them. For accomplishing the present work, it was collected 80 samples of food from 20 establishments that supplied that kind of service, with the food temperature measurements carried out and registered during the distribution and the microbiological analyses of each sample. The results were analyzed comparing them with the data of the temperatures obtained during the collection, in order to verify the interference of the lack of control of that parameter in the microbiological quality of those foods. **Results.** With relation to the temperature

of the dishes collected, from a total of hot dishes (40), only 8 (20%) were in temperature equal to or higher than 60° C (140° F), 18 (45%) in temperatures between 50 and 59,9° C (122 and 139,8° F), 11 (27,5%) in temperatures between 40 and 49,9° C (104 and 121,8° F) and 3 (7,5%) in temperatures lower than 40° C (104° F), ranging from 30 to 35° C (86 to 95° F). The total temperature variation of the hot counter ranged from 30° C (86° F) to 72° C (161,6° F). In relation to the cold dishes, from the 40 samples collected, 20 (50%) were in temperatures of 20° C (68° F) or more at the moment of collection and only 3 (7,5%) in temperatures bellow 10° C (50° F), a temperature which is considered the ideal one. From the 80 samples analyzed, 53 (66,2%) were in disagreement with the established microbiological patterns at the same time that from those , 52 (65%) showed fecal coliform indices above the permitted one, ranging from 1,15 to  $>1,2 \times 10^7$  times above the legal limits. All the establishments had at least one sample in disagreement with the legal patterns.

**Descriptors:** Foodborne diseases, good manufacturing practices, time and temperature control, food microbiology.

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 Aspectos Gerais

Os distúrbios de natureza alimentar provavelmente são tão antigos quanto o próprio homem, porém na medida da sua evolução, estes viram-se obrigados a desenvolver, mesmo que por simples instinto, maneiras de evitar esses desagradáveis e perigosos inconvenientes. Desde as fogueiras dos homens das cavernas, passando pela criação do primeiro refrigerador por John Gorrie em 1850, até as pesquisas de Finsen, em 1903, com o objetivo de provar o efeito das radiações ultravioletas provenientes do sol sobre determinados microrganismos patogênicos, o homem vem criando e desenvolvendo métodos para garantir a sua segurança alimentar e melhorar a conservação dos alimentos por ele consumidos. Há cerca de 2000 anos a.c, Moisés, no livro Levítico, elaborou leis para proteger seu povo contra doenças infecciosas, instituindo como obrigação a lavagem das mãos após o sacrifício dos animais e antes das refeições, além de proibir o consumo da carne proveniente de alguns animais como ratos e suínos, não permitindo sequer que os cadáveres destes animais fossem tocados (HOBBS e ROBERTS 1999). No ano 1000 a.c os Romanos já utilizavam a neve para conservar carnes e frutos do mar (FRANCO e LANDGRAF 1996).

Apesar dos transtornos originados por sua dieta desde os primórdios de sua existência, demorou para que o homem associasse os alimentos a qualquer tipo de problema de saúde. Embora Leeuwenhoeck tenha observado os microrganismos em 1675, somente em 1863, Pasteur estabeleceu a relação entre bactérias e deterioração dos alimentos (FRIEDMAN e FRIEDLAND 2000). Anos mais tarde, também no século 19, foram efetuadas demonstrações de que diversas doenças são transmitidas por alimentos (ICMSF/IAMS 1997). Em 1820 o poeta alemão Justinus Kerner descreveu um certo “envenenamento” por salsichas (provavelmente era botulismo) e, em 1870, Francesco Selmi já divulgava sua teoria para explicar certas doenças causadas por alimentos (JAY 2000). Porém foi Gaertner, em 1888, o primeiro a isolar bactérias causadoras de intoxicações alimentares, durante um surto de gastroenterite que atingiu 59 pessoas na Alemanha (HOBBS e ROBERTS 1999).

Foi o próprio Leeuwenhoeck, em carta apresentada à Sociedade Real Inglesa, em 1863, o primeiro a relatar a ação direta da temperatura sobre os microrganismos após constatar a presença dos “animaizinhos”, como o próprio descreve, em raspas de placas dos seus dentes incisivos, e não mais constató-los após a inclusão no seu cardápio matinal de café bem quente. A prova para confirmação desta teoria veio após a raspagem dos dentes molares (que entravam em menor contato com o café quente) e a constatação da presença de inúmeras bactérias neste local (FRIEDMAN e FRIEDLAND 2000).

A partir da década de 60, métodos como o APPCC – Análises de Perigos e Pontos Críticos de Controle, combinando princípios de microbiologia de alimentos, métodos de controle de qualidade e análise de riscos para garantir a segurança dos alimentos, foram adotados com sucesso em diversos países e exigidos por lei no Brasil, segundo (PANETTA 1997), pelas portarias 1428/93 do Ministério da Saúde (BRASIL 1993) e 46/98 do Ministério da Agricultura e Abastecimento (BRASIL 1998). Outra série de leis que regem a qualidade sanitária dos produtos alimentícios, colocam o binômio tempo/temperatura como requisito fundamental para uma adequada conservação dos alimentos (BOULOS e BUNHOS 1999).

Apesar da evolução nestes processos de conservação e na conseqüente prevenção das doenças transmitidas por alimentos, (basta lembrar que nos E.U.A doenças outrora extremamente comuns como a febre tifóide, estão praticamente esquecidas), segundo relatou TAUXE, em 1997, ainda são enfrentados muitos problemas relacionados às toxinfecções alimentares no mundo todo. Doenças entéricas, em particular aquelas originadas por água e alimentos, vêm aumentando ou no mínimo não diminuindo em todo o mundo (TODD 2001).

Até doenças consideradas como exóticas ou cujos mecanismos de transmissão ainda são insuficientemente conhecidos, como o Kuru (ligada ao canibalismo humano) e a Encefalopatia Espongiforme Bovina (considerada como possível transmissora de uma variante da síndrome de Creutzfeldt-Jacob em humanos), estão

supostamente relacionadas com a falta de um controle ou tratamento térmico eficaz. No caso do Kuru, uma das possíveis explicações para o fato de mulheres adquirirem a doença em proporções muito mais elevadas, quando comparadas aos homens das mesmas tribos que praticavam o canibalismo, é o fato de que as mulheres comiam um número muito maior de cadáveres crus (RHODES 1998), já no caso da EEB, acredita-se que a alteração dos procedimentos de fabricação das rações utilizadas para alimentar o gado, diminuindo a temperatura do processo para menos de 75° C, possa ter contribuído para a infecção do gado bovino pelo agente (GERMANO e GERMANO 2000).

Estima-se que um bilhão e meio de casos de diarreias em crianças menores de 5 anos ocorrem por ano em âmbito mundial, levando a 3 milhões de mortes, sendo 70% ocasionadas por consumo de alimentos contaminados, incluindo água utilizada para beber (ALMEIDA 2000; WHO 2000). De acordo com dados do CDC (Center for Disease Control and Prevention), citados por MEAD e colaboradores, em 1999, estima-se que somente nos E.U.A ocorram por ano aproximadamente 76 milhões de casos de toxinfecção alimentar, causando 325.000 hospitalizações e 5.000 mortes. No Reino Unido foram registrados, entre 1984 e 1993, mais de 255.000 casos de toxinfecção alimentar comprovados por laboratório (ELEY 1996). No País de Gales entre 1986 e 1998, 19.194 casos foram relatados (PALMER e colaboradores 2000). No Egito, somente entre Agosto de 1997 e Julho de 1998, 149 surtos e 452 casos foram registrados (TODD 2001). No Brasil, levantamentos feitos pelo DATA SUS, mostram mais de 30.000 internações causadas por toxinfecções alimentares por ano, ocasionando 8.000 óbitos (EDUARDO 2000).

O grande número de casos de toxinfecções alimentares ocorridos e notificados aos órgãos responsáveis pela Vigilância Sanitária e divulgados nos principais veículos de comunicação do país, e principalmente os que não são notificados (infelizmente a maioria), impossibilitando assim de se avaliar a exata dimensão do problema, são motivos de grande preocupação de todos profissionais ligados à área de saúde. No ano de 2001, 365 estabelecimentos foram vistoriados na

Cidade de São Paulo, sendo 165 (45,2%) intimados, 49 (13,42%) autuados e 11 (3,01%) fechados, com um total de 63 multas aplicadas (SEMAB 2002).

Na grande parte dos surtos de doenças alimentares de origem microbiana, somente o inquérito epidemiológico é utilizado para identificação do alimento causador, em raras ocasiões a identificação do patógeno em questão através do material clínico e das amostras é possível, sendo que os fatores fundamentais para esta ocorrência são: não disponibilidade do alimento suspeito para que a análise laboratorial seja efetuada, limitação das análises laboratoriais devido ao custo, ineficiência das metodologias laboratoriais para alguns casos e impossibilidade de caracterizar o alimento suspeito (FRANCO e LANDGRAF 1996).

Dos 38 surtos notificados ao CVE (Centro de Vigilância Epidemiológica do Estado de São Paulo) ocorridos na cidade de São Paulo no ano de 1999, em 22 (57,89%) não foi possível detectar o alimento em questão (CVE 2001a). Somente a cidade de Miami nos E.U.A, durante o ano de 1995, recebeu através de seu departamento de saúde, 187 relatos de surtos de intoxicação alimentar associados unicamente a restaurantes, sendo 60 (32,1%) destes, confirmados laboratorialmente (CRUZ e colaboradores 2001).

Em trabalho realizado por CALIL, em 1997, buscando avaliar os laboratórios especializados em alimentos como instrumento na Vigilância Sanitária e controle de qualidade, dos 17 laboratórios analisados, por serem os únicos a enquadrarem-se nos requisitos estabelecidos, em 80% foram detectadas falhas no procedimento de colheita das amostras e 55% apresentaram uma capacidade ociosa acima do esperado, levando inclusive à conclusão que o laboratório, nestas circunstâncias, torna-se um instrumento dispendioso e pouco ágil.

A alta incidência de ocorrências ligadas aos alimentos tem como origem uma série de procedimentos incorretos, relacionados aos hábitos de funcionários e à utilização de matérias-primas de má qualidade, entre outros. Porém, a maioria dos

casos diz respeito à falta de um controle mais efetivo da temperatura de conservação destes alimentos. Isto ocorre principalmente naqueles estabelecimentos que fornecem aos seus clientes produtos em balcões, através do sistema *self-service*, sem controle ou com um controle inadequado da temperatura. Este tipo de procedimento tem sido observado, tanto em estabelecimentos comerciais abertos ao público, como em bares, lanchonetes, restaurantes, e também nos serviços de buffets utilizados em cerimônias comemorativas tais como festas de casamentos e aniversários, entre outras, representando desta maneira, um possível risco para a saúde daqueles que se utilizam destes serviços, já que além de não possuir controle térmico algum, os alimentos servidos geralmente ficam expostos por longo período de tempo, muitas vezes à temperatura ambiente, passando noite inteira ou o dia inteiro disponíveis para consumo, havendo somente reposições. Em trabalho onde foram analisados surtos de enfermidades transmitidas por alimentos na região Noroeste de São Paulo, dos 23 surtos relatados, aproximadamente 21% (5) foram originados em festas e 20 dos surtos (86,95%) tiveram origem fora de casa (PERESI e colaboradores 1998).

O contato direto dos alimentos com um grande número de pessoas, propicia a ocorrência de contaminações ocasionadas pelos próprios usuários do sistema, uma vez que nestes locais ou nestas situações, geralmente, não existem condições para um procedimento adequado de higiene pessoal, incluindo pias para lavagem das mãos, ou quando existem não são ou são insuficientemente utilizadas, sendo que esta ação é extremamente importante para todos aqueles que entram em contato com os alimentos, devido a grande quantidade de microrganismos encontrados na pele (SILVA JR 2001).

O rápido desenvolvimento das cidades, a implantação da alimentação no trabalho e nas escolas e as novas diretrizes sociais que colocaram a mulher no mercado de trabalho, proporcionaram um rápido crescimento nos serviços de alimentação fora do lar, não só no Brasil como no mundo todo. Só no Brasil as refeições fora de casa, em 1996, responderam por aproximadamente 35% do total produzido (PROENÇA 1997), sem levar em conta o potencial não explorado do

segmento, já que estima-se que no país exista um mercado potencial de 22 milhões de refeições por dia (ROMÃO 1996) que atenderia aproximadamente 28% da população ativa (ANDRADE e MACÊDO 1996). Justifica-se assim, a grande preocupação com a qualidade dos alimentos servidos nestes locais.

Levando em conta os casos registrados e não registrados, 50% dos surtos de doenças transmitidas por alimentos ocorrem em serviços comunitários de alimentação, como os restaurantes industriais (ANDRADE e MACÊDO 1996). A preocupação aumenta ainda mais ao se levar em conta o baixo nível de informação da população em geral e dos próprios elaboradores de alimentos em relação ao problema, sem contar o uso indiscriminado de antibióticos que tem gerado bactérias resistentes a várias drogas usualmente utilizadas. Constata-se, também a dificuldade dos órgãos responsáveis em fiscalizar os estabelecimentos registrados que produzem e comercializam alimentos, sem levar em conta aqueles que atuam de maneira clandestina (em relação à carne bovina, por exemplo, acredita-se que o abate clandestino coloca no mercado varejista, cerca de 30% do total vendido do produto), levando a graves conseqüências em saúde pública (GERMANO 1991).

Portanto, faz-se necessária a realização de campanhas de educação para todos aqueles que trabalham na área de alimentos, a fim de fornecer conhecimentos sobre os riscos inerentes à fabricação inadequada de alimentos e sobre os adequados métodos de conservação dos mesmos, para que se possa garantir sua segurança e assim diminuir a incidência deste grave problema de saúde pública.

## **1.2 Causas das Contaminações dos Alimentos**

Segundo estudos realizados na Inglaterra na década de 80, foi identificado como o fator que mais contribui para surtos de enfermidades transmitidas por alimentos, o preparo com muita antecedência, envolvido em 61% dos casos, seguido da manutenção à temperatura ambiente, da refrigeração inadequada e do reaquecimento e cocção inadequados (ICMSF/IAMS 1997).

A bactéria *Yersinia enterocolitica*, rara nos Estados Unidos porém comum no norte da Europa, é reconhecidamente encontrada com maior frequência em carne de porco mal passada (TAUXE 1997). Ainda nos E.U.A, entre 1973 e 1987, a manutenção de alimentos a temperaturas inadequadas esteve envolvida em 98% dos surtos de intoxicação estafilocócica, sendo que especificamente nos produtos de confeitaria, como bolos e doces, este fator foi considerado como responsável por 73% dos surtos relatados (PASSOS e KAUYE 1996).

No ano de 1987, o FDA proibiu a venda interestadual de leite cru, e entre os anos de 1973 e 1992, 87% do leite cru associado a surtos ocorreram nos estados que permitiam o comércio interestadual deste produto, segundo relatou Headrick, em 1998, citado por CDC (2000; p.913). Uma extensa investigação epidemiológica efetuada na Escócia, sobre um grande surto de *E.coli* O157:H7 ocorrido em 1996, apontou como provável fonte carne cozida fria, provavelmente resfriada sem critérios para tal (COWDEN e colaboradores 2001). Estudos envolvendo a sobrevivência e desenvolvimento da *E.coli* O157:H7 em vegetais, demonstraram um decréscimo de até 2 unidades logarítmicas nas taxas iniciais daqueles vegetais mantidos a 4<sup>o</sup> C por 14 dias, ~~em contraste com aqueles que foram mantidos a 15<sup>o</sup> C por 7 dias, nos quais não houve alteração no nível da população bacteriana ou houve um crescimento de até 3 unidades logarítmicas em alguns dos alimentos investigados~~ (RICHERT e colaboradores 2000). Estes dados reforçam a importância do controle da temperatura na conservação e distribuição dos alimentos e demonstram o risco inerente (muitas vezes desprezados) ~~a este tipo de alimento. É evidente que existem~~ fatores que expõem mais ou menos os alimentos às contaminações, como a qualidade das matérias-primas utilizadas, a adequada manipulação dos alimentos e cuidados especiais na distribuição dos mesmos, porém por trás da maioria dos casos de contaminação existe uma falha humana. De acordo com dados levantados pela Secretaria Municipal de Abastecimento (SEMAB), sobre as principais causas de surtos de doenças de origem alimentar na cidade de São Paulo em 1991, 70% destes foram causados por conservação inadequada dos alimentos (SILVA JR 2001).

O próprio manipulador pode vir a tornar-se um grande fator de risco, levando em conta que o homem abriga em média 100 bilhões de microrganismos na parte externa do corpo e 15 trilhões na parte interna, sendo que nas fezes, em uma defecação normal, são eliminados por volta de 100 trilhões de microrganismos (BIDDLE 1995). Aumenta assim a importância dos bons hábitos de higiene de todos aqueles que manipulam ou possam entrar em contato com os alimentos a serem consumidos, assim como de todos os preceitos de Boas Práticas de Fabricação, em especial a adequada lavagem das mãos, já que testes laboratoriais têm comprovado que esta tem se mostrado eficiente para remoção de microrganismos contaminantes (PAULSON 2000). WILSON e REANEY, em 1999, encontraram índices iguais ou maiores a  $10^4$  UFC de coliformes ou *E.coli* nos aventais de açougueiros analisados, sendo que menos de 30% apenas estavam isentos de *E.coli*. Além disso o manipulador pode ser ou vir a ser um portador assintomático, disseminando o agente em questão sem desenvolver a doença ou após a cura da mesma. Para exemplificar, no caso dos portadores de *Salmonella enterica* sorovar Tiphys, a biles do portador pode conter até  $10^9$  unidades da bactéria, que são descarregadas nas fezes em quantidades variáveis (ICMSF/IAMS 1997).

Simples especiarias e temperos podem contaminar preparações inteiras durante a elaboração dos pratos ou principalmente quando usadas após o término da mesma, já que nestes casos o alimento em questão não sofrerá processo térmico algum, estando desta forma mais vulneráveis à ação de microrganismos. Estudos demonstram a alta contaminação das especiarias por fungos e bactérias, sendo detectados *Bacillus subtilis* e *Bacillus mesentericus* em 94% de amostras, além de serem detectadas cepas de *Bacillus cereus* e *Bacillus thuringiensis* a partir de especiarias envolvidas em surtos de gastroenterite de origem alimentar (GERMANO e GERMANO 2001). Análises microbiológicas realizadas em indústrias de especiarias e condimentos do interior do Estado de São Paulo, demonstraram que apenas 15,4% das amostras se encontravam em condições higiênico-sanitárias satisfatórias, de acordo com a legislação alimentar vigente (GERMANO e

GERMANO 2001), deixando claro ser esta uma matéria-prima merecedora de muita atenção.

A imunidade do comensal, isto é daquele que consome o alimento, é outro atributo de risco, sendo relatado um grande número de casos fatais entre crianças (3 milhões por ano em todo o mundo, segundo a Organização Mundial da Saúde) (WHO 2000), sendo os idosos outro grupo considerado como de risco quando o assunto é toxinfecção alimentar. Nos E.U.A, aproximadamente 2/3 dos casos de morte por *Salmonella* spp ocorrem na população com idade superior aos 65 anos (FRENZEN e colaboradores 2001).

Existem certos tipos de alimentos que por sua natureza ou pelo próprio processo a que são submetidos durante a fase de produção, possuem maiores chances de trazer consigo uma carga microbiológica, patogênica ou não de acordo com o caso. Os microrganismos, assim como todos os outros seres vivos, necessitam de pelo menos 6 bioelementos para sobreviver, desenvolverem-se e reproduzirem-se. São eles: o carbono, o hidrogênio, o nitrogênio, o oxigênio, o fósforo e o enxofre (GERMANO e GERMANO 2001). A maior ou menor disponibilidade destes elementos é um importante fator para estimar o potencial de determinado tipo de alimento carregar consigo bactérias e outros microrganismos.

Alimentos de origem animal como carnes, ovos e leite, podem ser considerados de alto risco quando não passam por um tratamento adequado para eliminar a sua carga microbiana inicial, sendo os alimentos mais comumente implicados na diarreia de origem alimentar (GRISI 1999), uma vez que o organismo dos animais, assim como o do homem, apresenta uma flora microbiana própria.

Carnes cruas, de bovinos e de aves, apresentam-se com frequência contaminadas por *Clostridium* spp, *Staphylococcus* spp e enterobactérias. Peixes e moluscos não raramente apresentam-se contaminados com *Vibrio parahemolyticus* e produtos lácteos são frequentemente contaminados por *Staphylococcus aureus*,

coliformes fecais (incluindo sorogrupos de *E.coli*) e *Listeria monocitogenes*, entre outros (GERMANO e GERMANO 2001). Acredita-se que a carne geralmente seja contaminada através dos excrementos dos animais na hora do abate (PINTO 2000).

Em trabalho realizado para determinar a ocorrência de *Staphylococcus aureus* em amostras de queijo tipo frescal, das 80 amostras colhidas, 40 (50%), revelaram valores médios em torno de  $10^5$  unidades formadoras de colônia por grama, portanto acima do limite máximo estabelecido pelo Ministério da Saúde e muito próximos dos valores necessários para produção de toxinas por parte das cepas enterotoxigênicas ( $10^5$  a  $10^9$  UFC/g) (ALMEIDA FILHO e NADER FILHO 2000). Registros de surtos ocorridos no Egito entre 1997 e 1998, tiveram como os alimentos mais freqüentemente envolvidos leite e derivados (TODD 2001).

Em estudo feito por HOFFMAN e colaboradores, em 1998, para avaliar a qualidade microbiológica de carnes *in natura* e presuntos, 57,1% das amostras colhidas se mostraram contaminadas, inclusive por bactérias patogênicas. Em trabalho efetuado em Santa Maria-RS e citado por RITTER e colaboradores (2001, p.54), Grunspan e colaboradores, em 1996, analisaram amostras de carne moída coletada em açougues da cidade, encontrando 100% das amostras positivas para *Staphylococcus aureus* e 70% das amostras apresentando índices de coliformes maiores que o permitido pela legislação. WILSON e HEANEY, em 1999, encontraram em 109 amostras de carne crua e hambúrgueres analisados, um total de 29 (26%) contendo *E.coli*, o mesmo ocorrendo em 2,25% das amostras de produtos a base de carne já prontos para o consumo.

Cann (1977), citado em ICMSF/IAMS (1997, p.209), constatou uma contagem microbiana de até  $3,7 \times 10^5$  UFC/g em caranguejos fervidos por 30 minutos. Cabe ressaltar que o caranguejo, assim como os outros crustáceos, possui uma alta propensão a se contaminar, já que geralmente é apanhado próximo à costa, em águas passíveis de contaminação por emissão de esgotos.

Segundo dados de intoxicações alimentares do Centro de Vigilância Epidemiológica do Estado de São Paulo (CVE), no ano de 2001, dos 40 casos registrados em que o alimento possivelmente incriminado foi identificado, 7 (17,5%) têm o ovo ou pratos que o têm como base, como possível causador (CVE 2001c), mostrando o potencial de contaminação deste tipo de alimento. Ovos podem estar contaminados não somente com bactérias do gênero *Salmonella* spp, mas por outros gêneros também. Em trabalho realizado no Estado de São Paulo para verificar a presença de coliformes fecais e totais em ovos comerciais CARDOSO e colaboradores (2000b), demonstraram a presença de *E.coli* em 100% das amostras pesquisadas (60); Bézerra (1995), citado por CARDOSO (2000b, p.21), demonstrou que ovos vendidos em supermercados e feiras livres provenientes de galinhas caipiras e outras aves com suspeitas clínicas, apresentavam contaminação por *Pseudomonas* spp, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris* e *Escherichia coli*.

Embora os alimentos de origem animal sejam as maiores fontes de bactérias como *Salmonella* spp e *E.coli*, a transmissão por vegetais frescos vem aumentando devido ao contato direto com os animais (CDC 2001). Alguns vegetais, por manterem um contato direto com o solo, podem conter esporos bacterianos e provocar sérios problemas à saúde humana, em especial aqueles vendidos na forma de conservas, cujo o processo de industrialização não foi adequado. Isto se deve ao fato do solo possuir uma enorme carga de microrganismos, sendo que cada grama pode possuir até 30 milhões de unidades (RIEDEL 1992). WILSON e HEANEY, em 1999, encontraram índices de *E.coli* duas vezes maior em produtos vegetais (com ou sem maionese) prontos para consumo, quando comparados aos dos produtos cárneos pesquisados. Nos E.U.A surtos recentes de *E.coli* e *Salmonella* spp tiveram brotos de alface e rabanete identificados como causadores, levando inclusive o governo a lançar um apelo para que a população não consumisse estes alimentos sem um adequado processo de cocção (FDA 1999). Porém, alimentos industrializados também são suscetíveis à contaminações. Calcula-se que 5% dos surtos de intoxicações alimentares são provenientes de alimentos industrializados (ANDRADE e MACÊDO 1996). Estudos efetuados na África do Sul encontraram

alta contagem de enterobactérias, *Staphylococcus* spp e bactérias aeróbicas ( $10^5$  a  $10^8$  UFC/ml) em alimentos à base de cereais fermentados e portanto, em teoria, menos suscetíveis à contaminações devido ao baixo pH (TODD 2001).

A água também pode ser um importante veículo de contaminação quando não se encontra em condições adequadas de potabilidade, fato este comprovado pelos estudos de John Snow a respeito da transmissão da cólera através da água em 1854 (HOBBS e ROBERTS 1999). A água utilizada na irrigação dos vegetais, pode fazer com que estes ao serem utilizados, como matéria-prima para elaboração de outros pratos ou na montagem de saladas, se tornem uma importante fonte de contaminação, sendo que a presença de material de origem fecal em águas de hortas que abastecem a região metropolitana de São Paulo é um fato comprovado, demonstrando o baixo nível de qualidade higiênico-sanitária destas águas (GERMANO e colaboradores 1998). Em estudo efetuado na África do Sul, 56% das amostras de água de reuso utilizada para irrigação, mostraram-se contaminadas por *Salmonella* spp (TODD 2001). A água pode contaminar os alimentos diretamente, quando utilizada para o preparo destes, ou indiretamente quando utilizada para a higienização de equipamentos e utensílios, embora os casos ligados a este veículo tenham diminuído sensivelmente após a instituição do processo de cloração utilizado pioneiramente na Inglaterra por Alexander Houston, em 1905, durante uma epidemia de tifo (HOBBS e ROBERT 1999).

Os insetos também podem ser uma importante fonte de contaminação dos alimentos, incluindo aqueles já prontos para o consumo. Pesquisa feita na Nigéria na década de 80, demonstrou a presença de patógenos em diversas partes do corpo das moscas (SCHULLER 2000). Segundo Keittle (1990) citado por SCHULLER (2000, p.32), as moscas sinantrópicas podem albergar cerca de 1.000 patógenos diferentes, como *Salmonella* spp, *Shigella* spp, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, os vírus da hepatite infecciosa, do cólera e da poliomielite, podendo transmitir cerca de 65 destes, além de transportar cistos de protozoários tais como os de *Entamoeba histolytica*.

Contaminações podem ocorrer ainda devido a uma falha na higienização dos equipamentos e utensílios, sendo estimado que este fator esteja envolvido em 25% das doenças de origem alimentar (ANDRADE e MACÊDO 1996). É importante lembrar que na grande maioria dos casos ocorre uma intersecção destas fontes, aumentando ainda mais os riscos de contaminação.

### **1.3 Tipos de Contaminação**

Os alimentos consumidos pela população, principalmente aqueles que são altamente manipulados, são passíveis de sofrerem alterações e de terem incorporados aos seus componentes próprios, alguns indesejáveis, que podem trazer danos às pessoas que os consomem, sendo importante salientar que qualquer elemento não próprio do alimento pode ser um perigo à saúde de quem o consome. De acordo com a natureza destes componentes indesejáveis, os perigos ou as contaminações, podem ser divididas em 3 categorias:

#### **1.3.1 Perigos Físicos**

São aqueles representados por objetos ou matérias estranhas capazes de injuriar fisicamente o homem, além de levar ao consumidor uma impressão desagradável (CNI/SEBRAE/SENAI 1999). Objetos contidos em alimentos, independentemente de seu tamanho podem levar a sérios danos à saúde, como por exemplo pedaços de papel e plástico provenientes de embalagens, principalmente naqueles alimentos destinados às crianças. Casos de objetos maiores, porém mais facilmente identificáveis, são constantemente relatados, sendo que os principais contaminantes físicos encontrados são: vidros, metais, pedras, lascas de madeiras, plásticos, fragmentos de ossos, espinhas e pragas (como fragmentos de insetos e pêlos de roedores) (CNI/SEBRAE/SENAI 1999).

A falta de manutenção de equipamentos, o manuseio incorreto de material para embalagens, o estouro de lâmpadas na área produtiva, a utilização de matérias primas e material de embalagem de má qualidade, utilização de equipamentos e utensílios de material inadequado (como os de madeira) e falha na desossa de carnes

e pescados, propiciando a permanência de fragmentos de osso e espinhas, são os principais perigos físicos dos alimentos (CNI/SEBRAE/SENAI 1999).

### 1.3.2 Perigos Químicos

São aqueles onde os contaminantes de natureza química, seus resíduos ou produtos de degradação são encontrados em níveis inaceitáveis nos alimentos. Esta contaminação pode ocorrer em qualquer fase da produção dos alimentos e pode gerar grandes danos a quem os consome. As contaminações químicas podem ter efeito agudo, como no caso dos alimentos alérgenos (que possuem a capacidade de estimular uma reação alérgica), ou efeitos crônicos, cumulativos, no caso de substâncias como o mercúrio (CNI/SEBRAE/SENAI 1999).

Os produtos químicos são cada vez mais constantes na cadeia produtiva, como exemplos pode-se citar os aditivos utilizados para preservação dos alimentos industrializados, os praguicidas nas produções agrícolas, os produtos terapêuticos como vacinas e antibióticos utilizados no tratamento dos animais de produção, os materiais de limpeza e desinfecção, a química das embalagens, a química das tintas das máquinas, entre outros (RIEDEL 1992), sendo que algumas contaminações químicas, por seu caráter cumulativo, infelizmente não são identificadas e os problemas decorrentes não são associados a elas. Em trabalho realizado pela FAO (Food and Agriculture Organization), sobre o uso de pesticidas em países em desenvolvimento, entre os anos de 1978 a 1995, citado por GEBARA, em 1998, das 3.598 amostras de frutas e hortaliças analisadas, cerca de 11% (395) continham algum tipo de resíduo, sendo que destes mais da metade (52%) eram de resíduos não permitidos e 4,55% (18) tinham níveis de resíduos acima do limite máximo permitido.

Há algumas substâncias tóxicas que são próprias do alimento, portanto sua presença não se deve a nenhuma interferência humana, podendo porém, representar riscos quando estes são confundidos ou simplesmente utilizados como matérias-primas para elaboração de alguns pratos. Este é o caso de algumas raízes como a

mandioca brava, que pode ser confundida com a mandioca mansa, como citado por RIEDEL, em 1992, e de alguns cogumelos.

As substâncias químicas mais comumente associadas à casos de contaminação via alimentar são: os produtos de limpeza, pesticidas, alérgenos, metais tóxicos, nitratos, nitritos e nitrosaminas, bifenilos policlorados, plastificantes e migrações a partir da embalagem, resíduos de produtos veterinários, além de aditivos químicos e drogas para aquacultura (CNI/SEBRAE/SENAI 1999).

### **1.3.3 Perigos Biológicos**

As contaminações de origem biológica são aquelas mais comumente descritas e registradas em todo o mundo. Nos países industrializados, a contaminação alimentar tem sido considerada como a causa mais freqüente de diarreia em indivíduos maiores de 5 anos e a segunda causa em crianças (GRISI 1999).

Nos E.U.A somente três patógenos (*Salmonella* spp, *Listeria* spp, e *Toxoplasma gondii*) são responsáveis por 1.500 mortes por ano, mais do que 75% do total causado por outros patógenos conhecidos (MEAD 1999). A proporção de contaminantes nos alimentos varia de acordo com as necessidades de cada microorganismo e com fatores ligados a composição natural dos próprios alimentos, como: presença de nutrientes, atividade de água, temperatura adequada, presença de oxigênio e grau de salinidade e de açúcar, e de acordo com. São várias as fontes de contaminação dos alimentos como o solo, a água, os animais e o próprio homem, entre outras (SILVA JR 2001).

As doenças causadas por alimentos contaminados, de acordo com o agente em questão e o modo de atuação podem sofrer diferentes nomenclaturas:

***Intoxicação alimentar ou toxinose alimentar:*** quando o quadro clínico decorre de toxina previamente formada no alimento.

**Infecção alimentar:** quando o quadro clínico ocorre decorrente à multiplicação ou esporulação de microrganismos no intestino, produzindo agressão ao epitélio com ou sem toxinas (SILVA JR 2001).

Atualmente o termo toxinfecção alimentar têm sido utilizado pela maioria dos autores para referir-se às doenças de origem alimentar ou em quadros onde o microrganismo em questão pode concomitantemente atuar por meio de colonização e formação de toxinas. Cabe ressaltar que a diferenciação de um quadro para outro é muito difícil de ser feita apenas através do diagnóstico clínico, sendo necessário para tal investigações mais aprofundadas dos elementos envolvidos e análises laboratoriais (GERMANO e GERMANO 2001).

#### **1.4 Microbiologia Alimentar**

Vários são os tipos de organismos que podem colonizar os alimentos. Alguns são perceptíveis a olho nu na fase adulta, os chamados parasitas ou enteroparasitas como a *Taenia* spp e os nematóides (anisakídeos, estrogilídeos, etc.), estes últimos encontrados mais comumente em pescados, segundo o descrito por OKUMURA e colaboradores, em 1999. Porém, os ovos destes mesmos parasitas não são perceptíveis sem o auxílio de microscópio, o que faz com que sejam uma importante fonte de contaminação, uma vez que são encontrados freqüentemente em uma série de alimentos. Em estudo realizado por Oliveira e Germano (1991), citado por GERMANO e GERMANO (2001, p.131), envolvendo hortaliças comercializadas na Região Metropolitana de São Paulo, a porcentagem de amostras contaminadas variou de 40 a 78% de acordo com o tipo de hortaliça estudada.

No entanto, a grande maioria dos organismos encontrados nos alimentos não é visualizada sem o auxílio de microscópio. Estes são os chamados microrganismos. Exatamente por não serem visíveis a olho nu, e por muitos deles (incluindo os patogênicos) não provocarem alterações perceptíveis aos alimentos, são motivo de grande preocupação.

Os microrganismos de interesse estão divididos em:

**Vírus**

**Protozoários**

**Fungos**

**Bactérias**

#### **1.4.1 Vírus**

São os seres vivos mais elementares que se conhece. São parasitas celulares obrigatórios, só se multiplicando quando na célula de um hospedeiro suscetível (ADAMS e MOSS 1995). Apesar de não se multiplicarem e de não produzirem toxinas, são responsáveis por diversas epidemias de origem alimentar, devendo este fato principalmente à capacidade de permanecerem viáveis em alimentos mantidos à temperaturas variadas (FERRARI e TORRES 1998). Dados do CDC, nos Estados Unidos, baseados em informações acumuladas entre os anos de 1973 e 1987, mostraram que aproximadamente 9% dos casos de doenças transmitidas por alimentos neste período, foram causados por vírus, sendo a segunda causa mais comum de contaminação (FERRARI e TORRES 1998).

A hepatite infecciosa por vírus do tipo A, é uma das doenças virais associadas à contaminação de alimentos, sendo que neste caso os alimentos são geralmente contaminados pós-cocção, imediatamente antes do consumo (DOYLE e colaboradores 1997). Os principais alimentos envolvidos em contaminações por vírus são os moluscos, seguidos pelas frutas e verduras, carnes, pão e alimentos gelados, sendo que em 1988, na China, um único surto provocado pelo consumo de moluscos reuniu 290.000 casos (FERRARI e TORRES 1998). Dados dos organismos identificados em surtos no estado de Nova York - E.U.A, mostram o vírus da hepatite A e Norwalk como os agentes mais encontrados respondendo respectivamente por 24,57% e 25,93% do total encontrado (PAULSON 2000).

Outros agentes virais como o Rotavírus, também são associados a intoxicações alimentares, sendo os mariscos, os vegetais crus e as saladas contendo

carne os principais alimentos envolvidos nestes casos (SILVA JR 2001). Acredita-se que o Rotavírus seja responsável por 50% dos casos de enterites em crianças (HOBBS e ROBERTS 1999), respondendo por aproximadamente 870.000 casos anuais de diarreia nos países em desenvolvimento (FERRARI e TORRES 1998).

### 1.4.2 Protozoários

Os protozoários não possuem a capacidade de se multiplicar nos alimentos, mas suas formas císticas podem manter a infecciosidade por longos períodos de tempo, sendo que um único cisto é capaz de desencadear a manifestação clínica da infecção (GERMANO e GERMANO 2001). Apesar de não participarem de maneira ativa do processo de alteração dos alimentos podem ser veiculados através destes.

As fontes principais de contaminação, que podem levar os protozoários aos alimentos, são as fezes de indivíduos doentes ou portadores e a água. Alguns dos principais protozoários encontrados nos alimentos são: a *Entamoeba histolytica* causadora da amebíase, a *Giardia lamblia* causadora de giardíase, a *Cyclospora cayetanensis* causadora de ciclosporose e o *Cryptosporidium parvum* causador da criptosporidiose (GERMANO e GERMANO 2001), sendo os alimentos mais freqüentemente envolvidos nos casos de contaminação alimentar, as verduras, frutas e legumes contaminados diretamente por água não tratada utilizada para lavagem dos mesmos, ou indiretamente através de equipamentos, utensílios e bancadas contaminados pela água ou vegetais previamente contaminados (SILVA JR 2001).

### 1.4.3 Fungos

Os fungos podem ser divididos em duas categorias, os chamados bolores ou mofo e as leveduras ou fermentos. Os bolores ou mofo são organismos formados por filamentos denominados hifas, sendo que estes podem conferir ao fungo um aspecto semelhante ao algodão. Os bolores mais freqüentemente encontrados nos alimentos são *Penicillium* spp, *Aspergillus* spp, *Fuzarium* spp, *Alternaria* spp, *Rhizopus* spp, *Candida* spp, *Rhodoturula* spp e a *Torulopsis* spp (atualmente considerada como pertencente ao gênero *Cândida* (FRANCO e LANDGRAF 1996). Já as leveduras podem ser esféricas, cilíndricas, ovóides ou triangulares, podendo ser

citadas como as de interesse em alimentos, principalmente, a *Candida* spp, o *Criptococcus* spp, o *Sachoramices* spp, entre outros (FRANCO e LANDGRAF 1996).

Alguns tipos de bolores possuem a capacidade de produzir toxinas, as chamadas micotoxinas, que nada mais são do que subprodutos metabólicos produzidos pelos bolores e que podem ser tóxicos ao homem e animais domésticos (ADAMS E MOSS 1997).

Atualmente cerca de 300 micotoxinas já foram isoladas e entre as encontradas com maior frequência estão os chamados alcalóides de Ergot, as aflatoxinas, a esterigmatocistina, a ocratoxina, a zearalenona, a patulina e a esporodesmina, entre outras (SCUSSEL 1998). Micotoxinas já foram descritas em vários tipos de alimentos, porém sua ocorrência é descrita com maior frequência em cereais e oleaginosas, como arroz, milho, trigo, cevada, amendoim e algodão (HOBBS e ROBERTS 1999).

As micotoxinas são capazes de provocar uma série de distúrbios através dos alimentos, podendo ser responsáveis por doenças gastrointestinais agudas, assim como condições crônicas, incluindo câncer (ELEY 1996).

#### **1.4.4 Bactérias**

São organismos microscópicos que podem ser encontrados praticamente em qualquer lugar. Nem todas são danosas, sendo algumas essenciais para o homem. Muitas delas, apesar de não serem prejudiciais à saúde humana, podem provocar processos de decomposição nos alimentos. Porém, em se tratando de saúde pública, a preocupação é com aquelas que possuem potencial de afetar a saúde humana, e em alguns casos levar à morte. Mesmo em pequenas quantidades algumas bactérias podem provocar grandes danos. Para se ter uma idéia deste potencial destruidor, apenas 500 células da *Listeria monocitogenes* são suficientes para gerar natimortos (FORSYTHE 2002).

Estima-se que do total de surtos de doenças transmitidas por alimentos, 46,3% sejam causados por bactérias (WHO 2000), podendo este fato ser explicado em grande parte pela velocidade com que estas se multiplicam. A uma temperatura de 37° C (temperatura semelhante à do corpo humano), em 8 horas uma bactéria pode gerar 16.000.000 de descendentes (HAZELWOOD e Mc LEAN 1994). As bactérias possuem características diferenciadas em relação à temperatura ideal para o seu crescimento e desenvolvimento, sendo por este motivo agrupadas de acordo com tais características:

*Termófilas*: com faixa de temperatura boa para o desenvolvimento entre 42 e 85° C, sendo o ótimo aproximadamente 60° C;

*Termotróficas*: desenvolvem-se entre 15 a 50° C, sendo o ótimo 45° C;

*Mesófilas*: cuja faixa de temperatura para o crescimento e desenvolvimento se situa entre 10 e 45° C, sendo o ótimo (ideal) entre 30 e 35° C;

*Psicrotróficas*: se desenvolvem em temperaturas entre -5° C e 40° C, sendo o ótimo para o crescimento e desenvolvimento entre 20 e 30° C;

*Psicrófilas*: se desenvolvem em temperatura de refrigeração, desde -15° C a 20° C, sendo o ótimo entre 10 e 15° C (SILVA JR 2001).

Dentre as bactérias de maior relevância envolvidas em surtos de intoxicação alimentar no Brasil, cujos limites de tolerância estão estabelecidos pela legislação, encontram-se a *Salmonella* spp, o *Clostridium* spp, o *Staphylococcus aureus* e as bactérias do gênero coliformes (BRASIL 2001a). Em estudo efetuado pelo Centro de Vigilância Epidemiológica de São Paulo, envolvendo os surtos notificados nos anos de 1996 e 1997, foram encontrados os seguintes resultados: nos 41 surtos nos quais a fonte provável de infecção foi alimento, foram isolados os seguintes agentes etiológicos: *Salmonella* spp em 15 surtos (36,5%), *Salmonella* Enteritidis em 11 (26,8%), *E.coli* patogênica em 1 (2,4%) e 3 (7,3%) causados por associação de agentes etiológicos, *Salmonella* spp e *Enterobacter*, *Salmonella* Enteritidis e *Campylobacter* spp, *E.coli*, *Salmonella* spp, *Klebsiella* spp e *Providencia* spp. O resultado de isolamento de fezes foi negativo em 5 dos surtos (12,1%), 2 deles

(4,8%) não se confirmaram como tal e em 4 (9,7%) não foi possível identificar o agente etiológico (LERNER e KATSUIA 1999).

Para exemplificar o perigo potencial das bactérias, entre os anos de 1995 e 1996, uma epidemia de *Shigella dysenteriae* tipo 1, resultou em aproximadamente 24 milhões de casos na África do Sul e 5,4 milhões de casos em Kwa Zulu-Natal, em cada um dos anos, resultando em 54.000 mortes (TODD 2001). Cabe ressaltar que em um mesmo surto podem estar envolvidos mais de um alimento ou diferentes gêneros de bactérias em um mesmo alimento (DIAS e colaboradores 1999).

#### 1.4.4.1 *Salmonella* spp

É uma bactéria com morfologia de bacilo Gram-negativo pertencente a família *Enterobacteriaceae*, sendo a maioria móvel (com exceção dos sorogrupos Pullorum e Galinarum) (FRANCO e LANDGRAF 1996). Inicialmente, entre os anos de 1909 e 1923, muitas das bactérias hoje conhecidas como responsáveis por um grande número de casos de intoxicação alimentar, foram agrupadas sob o nome genérico *Salmonella* em homenagem ao Dr. E. Salmon (HOBBS e ROBERTS 1999).

Estima-se que 70% de todos os casos registrados de intoxicações alimentares são causados por este patógeno (HAZELWOOD e Mc LEAN 1994), sendo que o sistema imunológico do homem é capaz de controlar apenas um pequeno número de microrganismos ingeridos (HOBBS e ROBERTS 1999).

Algumas mudanças têm ocorrido na classificação taxonômica do gênero *Salmonella*. Embora a maioria dos microbiologistas tratem os diversos sorovares de *Salmonella* como se fossem espécies distintas, a família *Salmonellae* têm sido dividida em 2 espécies: *S. enterica* e *S. bongori*, com os mais de 2000 sorovares, divididos em 5 sub-espécies, a maioria classificadas como sub-espécies da *S. enterica* (JAY 2000), sendo que de acordo com o Centre for Reference and Research on *Salmonella*, do Instituto Pasteur de Paris, as espécies *enterica* e *bongori* possuem 2.356 e 19 sorovares respectivamente (DOYLE e colaboradores 1997).

Embora este sistema tradicional (considerando os sorogrupos como espécies) seja taxonomicamente incorreto é uma maneira econômica e eficiente de divulgar informações clínicas e epidemiológicas importantes (ADAMS e MOSS 1995).

A dose infectante, quantidade necessária para a ocorrência de doença, pode variar em função do sorotipo e da afinidade destes pelas diferentes espécies animais, por exemplo: menos de 10 células da *S. Typhi*, exclusivamente humana, são suficientes para desencadear a doença no homem, enquanto são necessárias  $10^{11}$  células da *S. Pullorum* para obter-se o mesmo efeito, segundo Varnan e Evans (1991), citados por JAKABI e colaboradores (1999, p.48).

Muitas dos surtos ocasionados por *Salmonella* spp são originados por ovos contaminados por *Salmonella* sorotipo Enteritidis (um dos mais comuns), que não passaram por um adequado processamento térmico, levando inclusive o governo norte americano a instituir uma norma para que ovos embalados prontos para a venda fossem transportados e conservados à temperatura de 45 F ( $7^{\circ}$  C) ou menos (FRENZEN e colaboradores 2001). A *Salmonella* spp é a causadora mais comum de toxinfecção alimentar no Reino Unido, segundo o relatado por JAKABI e colaboradores, em 1999, respondendo por aproximadamente 90% dos casos. Nos EUA o número de casos vem aumentando todos os anos. Levantamentos realizados sobre os surtos notificados entre 1988 e 1992, demonstraram que 69% do total de notificações de toxinfecções alimentares foram ocasionadas por *Salmonella* spp. Ainda nos E.U.A, só no ano de 2000, o sistema de informação do laboratório de Saúde Pública relatou um total de 32.021 cepas de *Salmonella* spp isoladas, sendo os sorotipos Typhimurium e Enteritidis, respectivamente, os mais encontrados, representando juntos 42% dos casos (CDC 2002); porém estima-se que anualmente, 1,4 milhões de casos de salmonelose ocorram nos E.U.A, levando a crer que aproximadamente 97% dos casos não são notificados (FRENZEN e colaboradores 2001). Estudos efetuados na Suécia demonstraram que entre os anos de 1992 e 1997, *Salmonella* spp foi o segundo patógeno mais envolvido em incidentes de origem alimentar, sendo que em 60% destes casos os alimentos foram consumidos em

estabelecimentos comerciais (LINQVIST e colaboradores 2000). No País de Gales 15% dos casos de toxinfecção alimentar registrados entre os anos de 1986 e 1998 foram causados por *Salmonella* spp, 70% por *Salmonella* Typhimurium (PALMER e colaboradores 2000).

Estima-se que aproximadamente 50.000 britânicos excretem ou já excretaram *Salmonella* spp em algum momento de sua vida (ELEY 1996). Na Espanha estima-se que 85% dos surtos, cuja origem é conhecida, sejam causados por *Salmonella* spp, (CIORDIA 2002), 78% destes ocasionados por *Salmonella* Enteritidis, sendo que os ovos e produtos que os exigem para sua preparação, estão envolvidos em 90 % dos casos (ELEY 1996).

Na região da América Latina e Caribe, entre os anos de 1995 e 1997, 37% dos surtos de doenças transmitidas por alimentos tiveram como agente causal a *Salmonella* spp (WHO 2000). No Brasil, significativo aumento de *Salmonella* Enteritidis foi detectado a partir de 1993, tornando-se desde 1994 o sorotipo mais freqüentemente isolado de casos de infecções humanas e também de materiais de origem não humana, principalmente de alimentos destinados ao consumo humano (CVE 2001b), sendo uma das causas mais prováveis do aumento dos casos ocasionados por este sorotipo, a capacidade deste de manter-se em ovidutos de matrizes, o que leva a contaminação interna das gemas de ovos (JAKABI e colaboradores 1999). O mecanismo de transmissão através do consumo de ovos intactos, que portanto só poderiam ter sido infectados antes da postura, só recentemente tornou-se mais claro, permitindo uma melhor compreensão do problema.

Entre os anos de 1994 e 1995 a Secretaria da Saúde do Estado de São Paulo publicou, em lista parcial, o registro de 27 surtos de salmonelose, apontando 2.364 pessoas adoecidas e 2 mortes (RODRIGUES e SALAY 2000). No ano de 1999, dos 65 surtos com origem confirmada ocorridos no Estado de São Paulo, 13 tiveram *Salmonella* spp envolvida (CVE 2001b). Em recente trabalho de PERESI e

colaboradores, em 1998, todas as amostras de alimentos provenientes de surtos colhidas (38) mostraram-se positivas para *Salmonella* spp, assim como 41,7% dos ovos analisados. Em 22 dos 23 surtos relatados e analisados no mesmo estudo, a *Salmonella* spp foi veiculada por alimentos contendo ovos, sendo 87% destes associados ao consumo de alimentos à base de ovos crus.

Calcula-se que 80% de todas as aves sejam infectadas por *Salmonella* spp (HAZELWOOD e Mc LEAN 1994). Em estudos citados por TODD (2001, p.115), Alshawabkeh e Yamani, em 1996, através de testes sorológicos em frangos criados em fazendas na Jordânia, encontraram 70% destes contaminados por *Salmonella* spp. Em outro estudo, efetuado no Kuwait por Abu-Ruwaida e Sawaya, em 1994, citado por TODD (2001, p.115), todas as aves examinadas eram portadoras de *Salmonella* spp e em Lusaka, na África, 22,8% dos ovos examinados por Hang'ombe e Sharma, em 1999, citados por TODD (2001, p. 116) continham *Salmonella* spp. Em trabalho realizado no Reino Unido, em 1987, 60 % dos frangos vendidos em supermercados estavam contaminados por *Salmonella* spp (ELEY 1996). Em outro trabalho, efetuado no Chile, de 1.524 amostras de frango e vísceras colhidas, 9,44% apresentaram-se contaminadas por *Salmonella* spp, sendo 75% destas por *Salmonella* Enteritidis (ALEXANDRE e colaboradores 2000).

Embora as bactérias do gênero *Salmonella* possam ser transmitidas por vários alimentos de origem animal como carne, frango, leite e outros, Pelczar Jr e colaboradores (1996) citados por CARDOSO e colaboradores (2000a, p.3) colocam a carne moída, a lingüiça e as carnes de aves como os alimentos mais comumente envolvidos em surtos, embora recentemente o ovo têm sido implicado na maioria dos casos e surtos identificados (82% dos surtos causados por *Salmonella* Enteritidis têm como veículo o ovo) (MELO 1999).

Os ovos geralmente são contaminados após a postura, sendo que apenas 1 para cada 7.000 se contaminam via transovariana, proporção epidemiologicamente alta levando em conta o número de ovos consumidos (HOBBS 1999). De acordo

com Schoeni e colaboradores (1995) citados por (ALEXANDRE 2000) o armazenamento do ovo à temperatura ambiente permite a penetração de *Salmonella* Enteritidis em apenas 3 dias, sendo que esta penetração depende de outros fatores como o tempo decorrido da ovoposição de acordo com Braun e Felhaber (1995) citados por (ALEXANDRE 2000). Acredita-se que altas temperaturas durante a estocagem permitam rupturas na membrana vitelina entre o albúmen e a gema facilitando a penetração bacteriana (TODD 2001). Outros alimentos já incriminados em casos de salmonelose são o coco, fermento, proteínas derivadas de caroço de algodão, peixe defumado, leite em pó e chocolate (CVE 2001b), além de alguns vegetais como tomates, melancias e melões que foram associados com surtos ocorridos nos E.U.A de acordo com dados do CDC (1979) apresentados por Gaylor e colaboradores (1955), Unrein e colaboradores (1990) e Ries e colaboradores (1990) citados por RICHERT( 2000, p.24) .

Chama atenção a presença da bactéria em pratos prontos para o consumo, que já passaram por processos de cocção, demonstrando possíveis falhas neste processo, sendo que nestes casos a manutenção em temperaturas inadequadas no momento da distribuição pode agravar ainda mais o problema. Em trabalho realizado para elucidação de surtos de enfermidades transmitidas por alimentos na cidade de São Paulo no período de Outubro de 1994 a junho de 1997, as amostras examinadas continham, em sua maioria, alimentos como: maioneses, bolos, mousses, alimentos à base de carne, coxinha de frango sem fritar, coxa de frango frita, almôndega crua, água, ovo liofilizado, ovo inteiro, arroz cozido, salada de lentilha, leite reconstituído (de mamadeira) e batata cozida, sendo que em alguns casos como o da maionese e do ovo liofilizado, foi detectada a presença de *Salmonella* spp em diluições de até  $10^{-7}$  (JAKABI 1999).

Estudos pesquisando a presença de *Salmonella* spp em alimentos e bebidas prontas para o consumo, conduzidos em Singapura por DORIS e colaboradores, em 1999, encontraram resultados positivos para ambos os produtos em 1,4 % das 2.617 amostras pesquisadas. A contaminação cruzada, ocasionada por uma manipulação ou

armazenamento inadequados, é um dos fatores de maior risco associado a estes casos, já que bactérias de um mesmo sorotipo foram detectadas em amostras diferentes, relacionadas com o mesmo surto.

Em trabalho realizado nos E.U.A com amostras de carne e frango vendidas em supermercados, 20% destas mostraram-se contaminadas por *Salmonella* spp, com um total de 13 sorotipos diferentes, sendo que 84% destas eram resistentes à pelo menos um antibiótico e 53% eram resistentes à pelo menos três (WHITE e colaboradores 2001).

Um outro problema relacionado à *Salmonella* spp, é que os exames laboratoriais podem não detectar esta bactéria em pacientes que foram medicados com antibióticos ou esperaram longo período de tempo para se submeter aos exames (FRENZEN e colaboradores 2001), aumentando ainda mais o problema de subnotificação dos casos.

Estimativas econômicas americanas apontam gastos anuais de até 2,3 bilhões de dólares com a doença (FRENZEN e colaboradores 2001). Foi levando em conta esta alta incidência de casos de intoxicações alimentares envolvendo o gênero *Salmonella* spp, o grande potencial de causar danos à saúde do homem e a quase total incapacidade de controlá-las, principalmente em ovos e carnes de frango, que o governo editou a resolução RDC nº 13 (Brasil 2001b), que nada mais é do que um regulamento técnico que estabelece a obrigatoriedade para os produtores de incluir na rotulagem destes produtos, instruções que auxiliem o consumidor no controle dos riscos associados ao consumo de alimentos nos quais o microrganismo *Salmonella* spp possa estar presente. Estas recomendações instruem os consumidores a utilizar o frio, mantendo estes alimentos resfriados ou congelados para preservá-los antes do seu uso, e principalmente a utilizar o calor para garantir a segurança dos mesmos, consumindo-os somente cozidos, assados e ou fritos.

### 1.4.4.2 Clostrídios

Os clostrídios são bactérias Gram-positivas, esporuladas, muito comumente encontradas no solo e no trato gastrointestinal dos animais (FRANCO e LANDGRAF 1996). As duas espécies de maior importância para saúde pública, principalmente em relação às doenças de origem alimentar, são o *Clostridium perfringens* e o *Clostridium botulinum*.

A capacidade de formar esporos permite a eles resistir à faixas extremas de temperatura, sendo que nenhum tratamento que implique no congelamento é capaz de garantir redução do número de esporos (ICMSF 1996).

#### 1.4.4.2.1 *Clostridium perfringens*

Reconhecido como agente de intoxicação alimentar no ano de 1943, o *Clostridium perfringens* (anteriormente conhecido como *Clostridium welchi*) (GERMANO e GERMANO 2001), exatamente pelo fato de sobreviver a altas temperaturas, é muito frequentemente associado à casos de toxinfecções ocorridos em instituições, onde os alimentos são preparados com muita antecedência, para posteriormente serem servidos. Baseado na sua habilidade de produzir determinados tipos de toxinas 5 tipos de *Clostridium perfringens* são reconhecidos (A, B, C, D e E), sendo que a toxina do *Clostridium perfringens* pode produzir 2 tipos de intoxicação: a síndrome de intoxicação alimentar e a enterite necrótica (JAY 2000). A infecção se dá pela ingestão de células vegetativas, que ao atingir o intestino delgado, passando pela barreira gástrica, desenvolvem-se, esporulam e liberam a enterotoxina, sendo a ingestão de toxina pré-formada nos alimentos muito rara (GERMANO e GERMANO 2001). Pratos que possuem como base carne e frango cozidos, mantidos sem aquecimento ou em refrigeração inadequadas antes de serem servidos, são os principais veículos deste microrganismo. As células vegetativas podem reproduzir-se inclusive em alimentos mantidos a temperaturas acima de 50° C, alcançando altos números em curto espaço de tempo, segundo Labbé (1991), citado por GUTIERRES e colaboradores (1999, p.276).

Em trabalho realizado na Faculdade de Saúde Pública da Universidade de

São Paulo, em 1998, a fim de verificar a toxigenicidade de cepas de *Clostridium perfringens* isoladas de material de origem bovina, das 89 cepas isoladas, 51 (57,3%) revelaram-se toxigênicas, isto é possuíam a capacidade de produzir toxinas, sendo portanto altamente patogênicas (BALDASSI 1998), demonstrando uma vez mais a importância dos cuidados a serem tomados durante a manipulação, cocção e posteriormente na distribuição dos alimentos, em especial com a temperatura. Das 81 amostras analisadas por GUTIERREZ e colaboradores, em 1999, em trabalho visando detectar a presença de *C.perfringens* em preparações à base de carne em serviços de alimentação na Costa Rica, 46% foram positivas para *C.perfringens*, sendo que 32% destas mostraram-se enterotoxigênicas, cabendo ressaltar que a média de temperatura das amostras positivas foi de 61,8° C e das amostras negativas 74,6° C, identificando temperaturas mais baixas como um elemento de risco.

O *C.perfringens* e suas toxinas estão freqüentemente implicados em casos de toxinfecções alimentares, sendo relacionados ainda em casos de septicemia pós-parto e pós-abortamento, artrite séptica, meningite e cistite entre outros (BALDASSI 1998). Só nos E.U.A estima-se que aproximadamente 250.000 casos de origem alimentar causados por *C.perfringens* ocorram todos os anos (MEAD e colaboradores 1999). Cabe salientar que as bactérias do gênero *Clostridium* são anaeróbicas e portanto desenvolvem-se em ambientes com pouco ou nenhum oxigênio, como é o caso dos alimentos em processo de cocção, e pelo fato dos esporos sobreviverem a temperaturas maiores de 100° C (algumas cepas podem sobreviver a horas de fervura), segundo HOBBS e ROBERTS (1999), a sua presença em alimentos cozidos torna-se viável, cabendo neste caso aos métodos de conservação pós-cocção evitar que estes esporos germinem possibilitando a produção de toxinas.

#### **1.4.4.2.2 *Clostridium botulinum***

Assim como outras bactérias do gênero, o *Clostridium botulinum* possui a capacidade de produzir esporos resistentes à altas temperaturas, desenvolvendo-se em meios com baixa concentração de oxigênio. Descrito pela primeira vez na

Bélgica em 1896 por E. Van Ermengem (HOBBS e ROBERTS 1999), os esporos de *Clostridium botulinum* são residentes do solo, por isso mesmo sendo encontrado freqüentemente em frutas, verduras e legumes, possuindo também a capacidade de produzir toxinas causadoras do botulismo em homens e animais, necessitando para isso de um pH próximo da neutralidade (CVE 2000). São descritos 7 tipos de *Clostridium botulinum* (de A a G) distinguindo-se entre si pela característica antigênica das toxinas por eles formadas. Os tipos A, B, E, F e G são responsáveis pelos casos humanos de botulismo, o tipo C pelos casos em bovinos e outros animais e o tipo D está associado com envenenamento de pastagens (JAY 2000). As toxinas botulínicas são altamente potentes, podendo levar a morte mesmo em quantidades mínimas (de 0,1 a 1,0 mg) (GERMANO e GERMANO 2001).

No Estado de São Paulo, entre os anos de 1997 e 1999, foram registrados 3 casos de botulismo de origem alimentar, causados pela ingestão de palmitos indevidamente conservados (EDUARDO 1999), motivando a Secretaria de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde à adoção da Portaria Nº 304, de 8 de abril de 1999 (BRASIL 1999), obrigando os produtores de palmito a orientarem os consumidores a não consumir o produto sem antes submetê-lo a um tratamento térmico, fervendo-o por no mínimo 15 minutos.

#### 1.4.4.3 *Staphylococcus aureus*

O gênero *Staphylococcus* pertence a família *Micrococcaceae*, que inclui dois outros gêneros: o *Micrococcus* e o *Planococcus* (DOYLE 1997), abrangendo 31 espécies diferentes, sendo que destas, 18 são consideradas como de interesse em alimentos e somente 6 são coagulase positiva, a saber: *S.aureus subsp. anaerobius aureus*, *S.intermedius*, *S.hycus*, *S.delphini* e *S.schleferi subsp. coagulans* (JAY 2000), sendo que a maioria das espécies são encontradas apenas em pequenos mamíferos (WILKINSON 1997). O *Staphylococcus aureus*, por possuir a capacidade de produção de várias toxinas (A, B, C1, C2, C3, D, E, G, H e I) (JAY 2000), e por estar mais freqüentemente associado às doenças estafilocócicas constitui-se no representante de maior interesse para a área de alimentos (FRANCO e LANDGRAF

1996). A partir de 1914, o *Staphylococcus spp* vem sendo associado com intoxicações alimentares (HOBBS e ROBERTS 1999). As bactérias da espécie *Staphylococcus aureus* são facilmente encontradas no trato respiratório superior dos humanos, na pele e no períneo, sendo que a disseminação pode ocorrer pelos manipuladores através do contato direto, da tosse e espirro e por fragmentos da pele (DOYLE e colaboradores 1997). Estima-se que de 20 a 60% da população humana possa ser portadora desta bactéria (GERMANO e GERMANO 2001). Por este motivo o simples ato de provar o alimento com os dedos ou utilizar o mesmo talher para provar e mexer os alimentos sem antes higienizá-los adequadamente pode significar risco de contaminação. Vale lembrar que uma simples lavagem das mãos não elimina o microrganismo em questão, pela elevada quantidade possivelmente aí existente. Em pesquisas conduzidas no Brasil por Furlanetto, em 1982, citado por ROITMAN e colaboradores (1988, p.45), foi constatada ocorrência de *S.aureus* em 35,5% e 100% dos manipuladores em hospitais e indústrias respectivamente. Além disso os *Staphylococcus spp* multiplicam-se em meios com alta concentração de sal e baixa atividade de água ( $A_w$  0,85) (SILVA JR 2001) e são altamente resistentes, já que possuem moléculas protetoras em sua superfície que o protegem inclusive dos mecanismos de defesa do organismo infectado (BARG e HARRIS 1997). Segundo Noleto e Bergdoll (1992) citado por DIAS e colaboradores (1999, p.10), são necessárias  $10^5$  UFC (Unidades formadoras de colônias) por grama de alimento para produzir a toxina, sendo que a toxina produzida pode manter-se ativa mesmo após 15 minutos à  $120^\circ$  C, segundo Wendpap e Rosa, citado por DIAS e colaboradores (1999, p.10)

Calcula-se que 30% dos casos de doenças transmitidas por alimento sejam causados por *Staphylococcus spp*, e em 90% dos casos as cepas isoladas dos pacientes e do alimento incriminado produzem enterotoxina do tipo A (BARG e HARRIS 1997). Segundo estudos de Bean e Griffin (1990) citado por PASSOS e KUAYE (1996, p.72), do total de surtos de doenças transmitidas por alimentos entre os anos de 1973 e 1987, 13% foram causados por *Staphylococcus aureus*.

As bactérias da espécie *Staphylococcus aureus* não toleram competição com bactérias de outros gêneros, incluindo espécies encontradas comumente na flora normal dos alimentos (JAY 2000), por este motivo, com exceção do leite proveniente de vacas com mastite, intoxicações raramente são determinadas por alimentos crus (ICMSF 1996), sendo neste caso as falhas no processo de distribuição o principal elemento de risco. Em trabalho realizado por Jermini e colaboradores, em 1997, citado por TODD (2001, p.117) em mercados na cidade de Lusaka, na Zâmbia, foram encontradas contagens de  $10^5$  UFC/ml de *Staphylococcus aureus* em leite pasteurizado. Em trabalho efetuado em Accra, capital de Gâna, com alimentos como sopas e salgados, vendidos na rua, de um total de 511 alimentos analisados, 163 (31,9%) estavam contaminados com *S.aureus* (MENSAH e colaboradores 2002). Os alimentos mais comumente envolvidos em surtos ocasionados por *S.aureus* são aqueles resfriados pós-cozido, alimentos processados à base de carne e ovos, laticínios e alimentos prontos para o consumo (ELEY 1996). Estima-se que 185.000 casos de toxinfecção alimentar causadas por *Staphylococcus aureus* ocorram por ano, somente nos E.U.A (MEAD 1999).

#### 1.4.4.4 Coliformes

Os coliformes podem ser encontrados em qualquer tipo de alimento, porém são mais facilmente identificados em frutas e verduras cruas, carnes, aves, pescados e maioneses (SILVA JR 2001). O grupo coliforme é o indicador de poluição fecal mais empregado como controle microbiológico de qualidade sanitária (ROITMAN e colaboradores 1987).

Para fins didáticos os coliformes foram divididos em 2 grupos:

##### a) Coliformes fecais

O nome foi dado a este grupo de bactérias pelo fato destas serem encontradas com facilidade no cólon (porção do intestino grosso) de homens e animais, representando 80% da flora intestinal aeróbia (GERMANO e GERMANO 2001),

sendo que cada grama de fezes humanas pode conter  $300 \times 10^6$  UFC/g de coliformes fecais (SILVA JR 2001).

A *E.coli* é o mais importante indicador de contaminação fecal, segundo Vanderzant e Splittsoesses (1996) citado por CARDOSO e colaboradores (2000b p.3), embora possa ser introduzido nos alimentos à partir de fontes não fecais (SILVA e JUNQUEIRA 1995). Segundo Pardi e colaboradores (1995) citado por CARDOSO e colaboradores (2000a, p.3) o índice de coliformes fecais é empregado como indicador de contaminação fecal, ou seja, de condições higiênico-sanitárias deficientes, levando-se em conta que a população deste grupo é constituída por uma alta população de *E.coli*, podendo ainda indicar a presença de outros patógenos internos (SIQUEIRA 1995).

Nos países em desenvolvimento a *E.coli* é responsável por 25% dos casos de diarreia (WHO 2000). Nos países ditos desenvolvidos muitos surtos já foram descritos, como o relatado na Escócia, em 1996, onde um único surto de *E.coli* O157:H7 originou 496 casos e 19 mortes (WHO 2000).

As *Escherichias coli enterovirulentas* EEC que causam gastroenterites em humanos são divididas em 4 classes:

*Escherichia coli enteropatogênica* – EPEC – Causa lesão em alguns aspectos semelhantes à *E.coli* O157:H7;

*Escherichia coli enterotoxigênica* – ETEC – Comum em crianças de países menos desenvolvidos e uma das principais causas da diarreia dos viajantes;

*Escherichia coli enteroinvasiva* – EIEC – Patologia semelhante à *Shigella* spp;

*Escherichia coli enterohemorrágica* – EHEC (*E.coli* O157:H7) – Produz uma larga quantidade de toxina potente que causa dano severo à mucosa do intestino (ICMSF 1996). Esta toxina é denominada Verotoxina 1 (VT 1), ou toxina Shiga-like, pois é similar à toxina produzida pela *Shigella dysenteriae* tipo 1 (Doyle e colaboradores 1997).

Segundo estudos feitos nos Estados Unidos, do total de casos de doenças transmitidas por *Escherichia coli*, 67% foram ocasionadas por alimentos contaminados, sendo que destes, 21% em restaurantes (SOBEL 2000). A *E.coli* O157:H7 destaca-se atualmente como um dos principais microrganismos de interesse em alimentos. Sua designação surgiu inicialmente em 1982, após esta ter sido implicada como agente etiológico da colite hemorrágica, causada por hambúrgueres contaminados, segundo Nascimento e Stamford (2000), citados por CARDOSO e colaboradores (2000b, p. 20).

Levantamentos da Organização Mundial da Saúde demonstraram que, somente nos E.U.A, entre 7.700 e 20.500 casos de toxinfecção por *E.coli* O157:H7 são registrados por ano, gerando um custo aproximado de 217 a 579 milhões de dólares (WHO 2000). Em estudo efetuado no Kenya de 1991 a 1993, 13,8% das amostras fecais provenientes de casos de diarreia em crianças continham *E.coli* (ETEC, EPEC ou EHEC) (TODD 2001). Uma característica importante que facilita a veiculação deste patógeno como agente de toxinfecções alimentares é a sua capacidade de resistir por longo período de tempo em temperaturas de refrigeração, sendo que algumas cepas de *E.coli* possuem a capacidade de se multiplicar a 4° C (GERMANO e GERMANO 2001).

#### **b) Coliformes totais**

Inclui as outras bactérias do grupo coliforme. Neste grupo predominam as bactérias pertencentes aos gêneros *Klesbiella*, *Citrobacter* e *Enterobacter*, sendo que destas apenas a *E.coli* tem como habitat primário o trato intestinal do homem e dos animais (FRANCO e LANDGRAF 1996), e por este motivo é classificada como coliforme fecal. A partir de 2001 com a promulgação da Resolução RDC nº 12 (BRASIL 2001a) para fins de análise, passaram a ser considerados apenas os coliformes fecais.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Efetuar medições das temperaturas de balcões utilizados para a distribuição de alimentos no sistema de bufê e avaliar microbiologicamente tais alimentos, quantificando os microrganismos de interesse aí presentes, buscando uma correlação entre estes 2 parâmetros (temperatura de distribuição X microbiota dos alimentos).

### **2.2 Objetivos específicos**

1. Estudar a correlação entre a temperatura de distribuição e a qualidade microbiológica dos alimentos.
2. Avaliar a influência do controle da temperatura de distribuição em relação à microbiologia dos alimentos.
3. Verificar a interferência de parâmetros como tempo de espera, característica dos balcões e presença de lavatórios, na qualidade microbiológica dos alimentos.
4. Avaliar a qualidade microbiológica dos alimentos servidos em restaurantes do tipo self-service, da cidade de São Paulo.

## **3 MATERIAL E MÉTODOS**

### **3.1 Colheita de Amostras**

Foram colhidas 80 amostras (como amostragem de conveniência e não estatística), de 20 estabelecimentos diferentes, divididas em 4 amostras por estabelecimento, sendo 2 pratos quentes e 2 pratos frios. No caso dos pratos quentes foi dada preferência aos pratos à base de carne e para os frios preferencialmente foram colhidos pratos como maioneses e outros cuja base principal de preparação fosse o ovo, devido ao potencial de contaminação destes alimentos. As colheitas foram efetuadas durante o período de funcionamento dos estabelecimentos, em horários variados, utilizando os mesmos talheres disponibilizados para distribuição, com a finalidade de medir as conseqüências ocasionadas pelo fato do alimento permanecer exposto sem o devido controle de temperatura e sem a devida proteção por longo período. As amostras, após a colheita, foram mantidas em recipientes térmicos a 4° C, com a temperatura controlada por termômetro, até que fossem levadas ao laboratório (o que ocorreu num prazo máximo de 24 horas).

### **3.2 Unidade Amostral**

As unidades amostrais contiveram no mínimo 2 vezes a unidade analítica (cerca de 100 g), prevenindo-se contra eventuais perdas, sendo que posteriormente informações como temperatura dos alimentos, tipo de balcão e local para higienização das mãos, foram também registradas em ficha anexa, para melhor interpretação dos dados obtidos.

### **3.3 Instrumentos de Medição e Registros**

Os registros das temperatura foram efetuados utilizando termômetro modelo DT 625 da empresa DELLT, com faixa de temperatura de -50 a 150° C, e os parâmetros de temperatura utilizados para análise foram aqueles determinados pela Portaria CVS 6 de 10 de março de 1999 - Regulamento técnico sobre os parâmetros e critérios para o controle higiênico-sanitário em estabelecimentos de alimentos

(SÃO PAULO 1999) e os parâmetros microbiológicos utilizados para análise aqueles descritos na Resolução RDC nº-12 de 2001 (BRASIL 2001a). Para fins de calibração o fornecedor recomenda que este procedimento seja efetuado semestralmente. Para o presente trabalho, em virtude do termômetro ter sido adquirido para esta finalidade já calibrado e utilizado por um período inferior ao período sugerido pelo fornecedor para calibração o equipamento não passou por este procedimento durante o estudo. Nestes casos aferições utilizando-se água em ebulição podem ser feitas entre as calibrações, para se garantir uma maior confiabilidade do equipamento.

### **3.4 Preparo das Amostras**

As amostras foram analisadas no laboratório de Saúde Pública do Departamento de Prática de Saúde Pública da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo.

Por serem aqueles descritos com maior freqüência nos surtos de toxinfecção alimentar, foram pesquisados os seguintes microrganismos, selecionados de acordo com as características do alimento em questão: coliformes fecais, *Salmonella* spp, *Staphylococcus aureus* e *Clostridium perfringens*

Os métodos utilizados foram aqueles preconizados pela APHA (American Public Health Association), descritos no Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos (SILVA e colaboradores 1997), modificados de acordo com o transcrito a seguir:

#### **3.4.1 Homogeneização**

Esta etapa de homogeneização é precedida por uma diluição inicial de 1:10 ( $10^{-1}$ ), colocando 25g de amostra em 225 ml do diluente adequado. O diluente utilizado para pesquisa de *Staphylococcus aureus*, Clostrídios sulfito redutores e coliformes fecais foi a água peptonada a 0,1 % e para *Salmonella* spp caldo lactosado.

### **3.5 Análise das amostras**

#### **3.5.1 Coliformes (Anexo 1)**

A partir do frasco inicial, que representa a diluição  $10^{-1}$ , foi realizada uma diluição seriada até  $10^{-5}$ , a partir da qual foram inoculados uma série de 3 tubos de caldo Lauril Sulfato Triptose (LST) por diluição, adicionando 1 ml da diluição em cada tubo contendo caldo LST. Incuba-se os tubos de LST a  $35^{\circ}\text{C}$  por 24 horas e observa-se o crescimento com produção de gás. Nos casos positivos, passa-se para a próxima fase, caso contrário reincuba-se até completar 48 horas quando é repetida a leitura, passando para as próximas etapas caso haja formação de gás. A partir dos tubos de LST com produção de gás, transfere-se uma alçada bem carregada de cada cultura para tubos de caldos *E.coli* (EC), incubando-os em estufa a  $45^{\circ}\text{C}$ , por 24/48 horas e verificando se existe a formação de gás. Anota-se o número de tubos positivos e determina-se o NMP (número mais provável) adequado às diluições inoculadas, utilizando tabela apropriada .

##### **3.5.1.1 Identificação de *E.coli* (Qualitativa) ( Anexo 1)**

A partir dos tubos com caldo EC positivo (com formação de gás), foi transferida uma alçada para placas com meio EMB (eosina azul de metileno), incubando-as a  $35^{\circ}\text{C}$  por 24 horas. Para confirmação de *E.coli* as colônias típicas foram transferidas para a série bioquímica.

#### **3.5.2 *Salmonella* spp (Anexo 2)**

Para fase de pré-enriquecimento, os 25g da amostra previamente homogeneizadas foram adicionados a 225 ml de caldo lactosado e foram incubados a  $35^{\circ}\text{C}$  por 24 horas. Após esta fase foi feito um enriquecimento seletivo com caldo Tetrionato (TT) e caldo Selenito-Cistina (SC), passando-se 1 ml da solução anterior para tubos com 10 ml de cada um dos caldos, incubando-os a  $35^{\circ}\text{C}$  por 24 horas. O Isolamento foi feito após agitação dos tubos com o caldo anterior. Uma alçada de cada tubo foi estriada em placas de ágar *Salmonella/Shigella*, e Bismuto-Sulfito, incubando as placas invertidas a  $35^{\circ}\text{C}$  por 24 horas. Após o fim do tempo de

incubação, verificou-se o desenvolvimento de colônias típicas nas placas, sendo estas transferidas para a série bioquímica.

### **3.5.3 *Staphylococcus aureus* (Anexo 3)**

O método de preparo da amostra foi o mesmo utilizado para as etapas anteriores. A partir do frasco com a água peptonada a 0,1% (diluição  $10^{-1}$ ) transferiu-se uma alíquota de 0,1 ml para placa com meio Baird Parker, até diluição de  $10^{-3}$ , incubando-as a 35° C por 48 horas. Após este período as colônias típicas foram semeadas em placas com o meio ágar Cled, incubando-as a 35° C por 24 horas. As colônias consideradas típicas (amarelas, pequenas e opacas), seguiram para a série bioquímica, onde foram efetuadas as provas de coagulase, catalase e dnase, sendo consideradas *Staphylococcus aureus* as colônias positivas para as 3 provas. Os resultados foram expressos em UFC/g, considerando contagem de colônias, diluição utilizada e resultados da série bioquímica.

### **3.5.4 Clostrídios sulfito redutores (Anexo 4)**

Através do mesmo frasco (preparo da amostra para as demais provas) selecionou-se uma alíquota de 1 ml (diluição  $10^{-1}$ ) em água peptonada a 0,1%. Selecionou-se 3 diluições da amostra, que foram plaqueadas por profundidade em placas de ágar Triptose Sulfito Cicloserina, com sobrecamada. Após a solidificação da sobrecamada, as placas foram incubadas a 46° C em atmosfera anaeróbia por 18 a 24 horas. A contagem de colônias presuntivas foi feita selecionando placas com 20 a 200 colônias e contando-se as colônias típicas (pretas). Foram considerados Clostrídios sulfito redutores os bastonetes Gram-positivos catalase negativos. Para o cálculo do resultado foram considerados o número de colônias e a diluição, sendo o valor expresso em UFC/g de Clostrídios sulfito redutores a 46° C.

## **3.6 Parâmetros de referência**

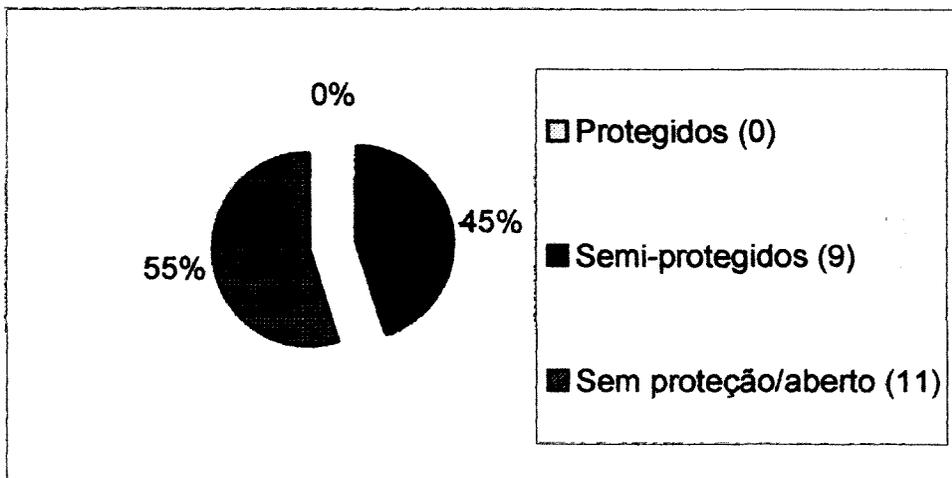
Os parâmetros microbiológicos utilizados como referência foram os determinados pela Resolução RDC 12, de 2 de Janeiro de 2001 - Regulamento técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos (BRASIL 2001a).

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Características dos balcões pesquisados quanto à proteção física

Para fins de classificação, do ponto de vista da proteção física, os balcões foram inicialmente divididos em 3 categorias distintas: protegidos, semi-protegidos e abertos. Balcões considerados protegidos, isto é com mecanismos que possibilite um fechamento por completo dos mesmos, com sistema “abre e fecha” mantidos por um sistema de molas, de maneira a permitir que o alimento fique exposto apenas no exato momento em que está sendo manipulado, e portanto considerados “protegidos”, embora descritos em materiais comerciais e observados em eventos promocionais do setor, não foram encontrados em nenhum dos 20 estabelecimentos pesquisados, sendo que destes, 9 (45%), continham balcões classificados como semi-protegidos, isto é que não protegiam o alimento por completo, valendo ressaltar que em muitos destes balcões onde havia esta proteção parcial (que na maioria das vezes se limita a uma coluna horizontal sobre o balcão) esta era utilizada como suporte para servir alguns pratos (que portanto mantinham-se fora de qualquer controle térmico) ou para colocação de enfeites, aumentando assim o risco de contaminações ao invés de preveni-las. 55% dos balcões pesquisados (11) se apresentavam completamente abertos (sem proteção física alguma) (Gráfico 4.1).

**Gráfico 4.1** - Características dos balcões pesquisados quanto à proteção física.



## 4.2 Característica dos balcões e resultados microbiológicos

Das 4 amostras onde foram detectados *Staphylococcus* coagulase positiva, 2 (50%), encontravam-se em balcões sem nenhuma proteção (abertos) e 2 (50%) em balcões classificados como semi-protegidos (com proteções parciais). Na única amostra onde os níveis de *Staphylococcus* encontravam-se fora dos padrões legais, com valores de  $2 \times 10^3$  UFC/g, o balcão encontrava-se sem proteção alguma (do tipo aberto). É suposto que balcões mais protegidos, ao evitar um menor contato dos alimentos com as pessoas durante o ato de se servir, pudessem funcionar como um elemento de proteção, porém o baixo número de amostras positivas para *Staphylococcus* coagulase positiva não permitiu uma melhor avaliação quanto à interferência desta característica como um fator de maior ou menor risco, além de na prática ter sido constatado que muitos estabelecimentos utilizam os balcões de forma inadequada, sendo que, como já foi relatado, frequentemente a parte superior do balcão serve de elemento de apoio para que pratos sejam servidos, passando portanto de um fator de proteção para um fator de risco.

## 4.3 Presença de lavatórios e resultados microbiológicos

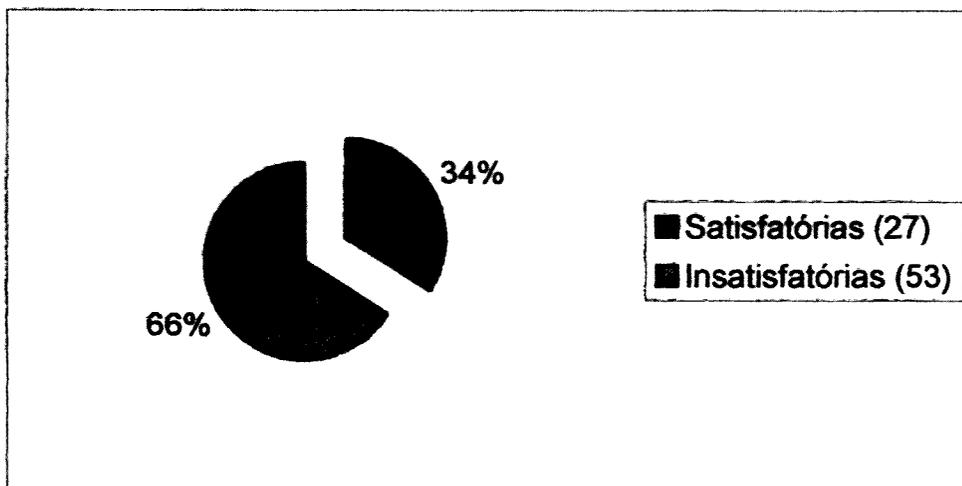
Dos 20 estabelecimentos visitados, apenas 4 possuíam pias exclusivas para lavagem das mãos em locais considerados estratégicos (no trajeto da pista). Das 4 amostras onde foram detectadas a presença de *Staphylococcus* coagulase positiva, em 2 (50%) os estabelecimentos possuíam pias exclusivas para lavagem das mãos, sendo que no estabelecimento onde os níveis detectados excediam o padrão legal, o local disponível para este fim era o banheiro. Supõe-se que a colocação de pias para lavagens das mãos em locais estratégicos quanto ao fluxo de pessoas que circulam nos estabelecimentos, possa ser um importante aliado, ao induzir um certo número de pessoas a efetuar a lavagem das mãos. Este procedimento simples pode tornar-se um fator de proteção para os alimentos, já que muitas pessoas ao se servirem podem vir a contaminar os alimentos expostos através de atitudes consideradas impróprias, como tocar involuntariamente nos alimentos, porém novamente o baixo valor de amostras positivas para *Staphylococcus* coagulase positiva (5% das amostras), não permitiu uma avaliação deste fator como elemento de proteção. Além disso a fonte de contaminação das amostras positivas em questão pode não ter sido o

comensal, sendo neste caso ocasionada por outros fatores como uma deficiente manipulação, ou mesmo o fato de a pia estar presente em um local adequado não ter induzido o comensal a efetuar a lavagem das mãos, como esperado, sendo de grande importância nestes casos a educação da população como um todo quanto a esta questão. Tal processo de educação pode partir inclusive dos proprietários, através de campanhas, utilizando-se entre outras coisas de material ilustrativo (como cartazes), visando sensibilizar o comensal para a importância de um comportamento adequado durante o ato de se servir, incluindo a lavagem das mãos, conscientizando-o sobre os riscos gerados não somente para si mesmo, mas em especial para os demais comensais, particularmente aqueles que se alimentam em horários mais avançados.

#### 4.4 Qualidade microbiológica das amostras analisadas

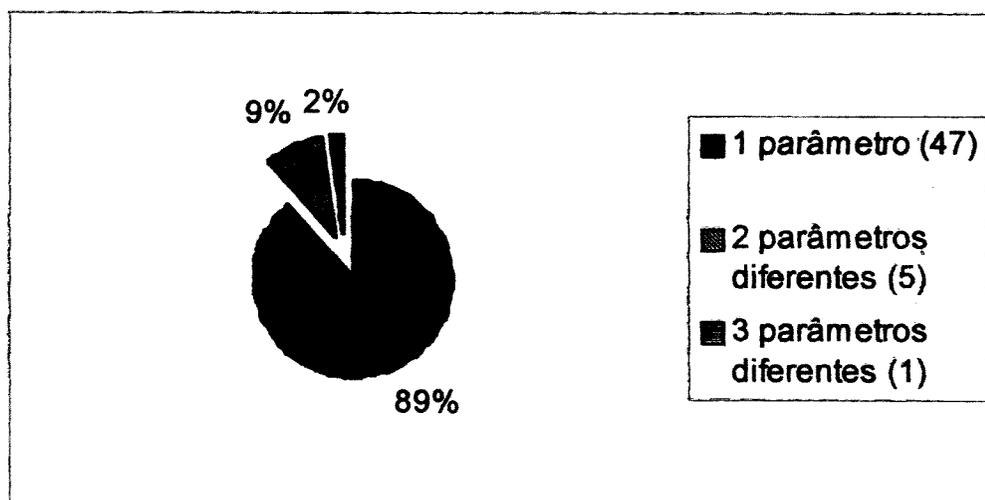
Em relação aos parâmetros microbiológicos, das 80 amostras analisadas 53 (66,20%), encontravam-se fora dos padrões estabelecidos pela ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) através da Resolução RDC nº 12, de 2001, para pelo menos um dos parâmetros analisados (Gráfico 4.2).

**Gráfico 4.2** - Classificação das amostras quanto às condições higiênico-sanitárias, de acordo com os parâmetros legais vigentes estabelecidos pela Resolução RDC nº 12, de 2001.



Em relação aos estabelecimentos pesquisados, todos (100%), continham pelo menos uma amostra fora do padrão microbiológico mínimo exigido pela legislação para pelo menos um dos parâmetros analisados; *E.coli* foi detectada em 3 (3,75%) das 80 amostras analisadas; *Salmonella* spp foi detectada em 4 (5%) das amostras, o que por si só, assim como no caso da *E.coli*, já torna tais amostras fora dos padrões mínimos exigidos. Quanto aos valores de coliformes fecais, 52 amostras (65%) encontravam-se em condições consideradas inadequadas, sendo que os valores de coliformes fecais das amostras fora do padrão mínimo variaram de 1,15 a  $>1,2 \times 10^7$  vezes acima do padrão legal. *S.aureus* foi detectado em quatro amostras, sendo que em 1 (1,25%), foi encontrado um valor duas vezes acima dos padrões legais permitidos e em outra amostra o valor se encontrava exatamente no limite máximo permitido para sua categoria. Do total das amostras analisadas, 5 (6,25%) se apresentaram fora do padrão para dois parâmetros concomitantemente (presença de *E.coli*, índice de coliformes fecais e ou *Staphilococcus* coagulase positiva acima do permitido), 1 amostra apresentava-se inadequada para três parâmetros diferentes (*Salmonella* spp, *Staphilococcus* coagulase positiva e coliformes fecais) (Gráfico 4.3). Cabe ressaltar que LERNER e KATSUIA, em 1999, descrevendo os surtos notificados no Estado de São Paulo nos anos de 1996 e 1997, apontam 7,3% destes, como causados por associação de agentes, se aproximando assim dos dados do presente trabalho quanto ao número de agentes diferentes detectados em cada amostra.

**Gráfico 4.3** - Classificação das amostras consideradas impróprias, em relação ao número de parâmetros em desacordo com a Resolução RDC nº 12, de 2001.



47 amostras (58,75%) encontravam-se duas vezes ou mais acima do padrão legal permitido para coliformes fecais, 39 (48,75%) apresentavam níveis de coliformes fecais 10 ou mais vezes acima do permitido, 27 amostras (33,75%) valores 100 vezes, ou mais acima do permitido e 17 amostras (21,25%) valores 1.000 vezes ou mais acima do permitido pelo padrão legal vigente, sendo que destas, 16 (94,11%) continham níveis iguais ou superiores a  $4,8 \times 10^4$  vezes acima do padrão legal (Tabela 4.1). Estes resultados podem indicar que uma vez contaminados, devido a manipulação inadequada entre outras coisas, os alimentos tiveram uma elevada multiplicação bacteriana facilitada pelo tempo prolongado de exposição, demonstrando que as temperaturas encontradas não foram suficientes para controlar a multiplicação pós-contaminação (independentemente da origem), já que grande parte das amostras com níveis inaceitáveis de contaminação para coliformes fecais (65,00% do total) estavam com valores muito além do padrão legal, sendo 76,92% destas com valores superiores a 10 vezes acima do permitido.

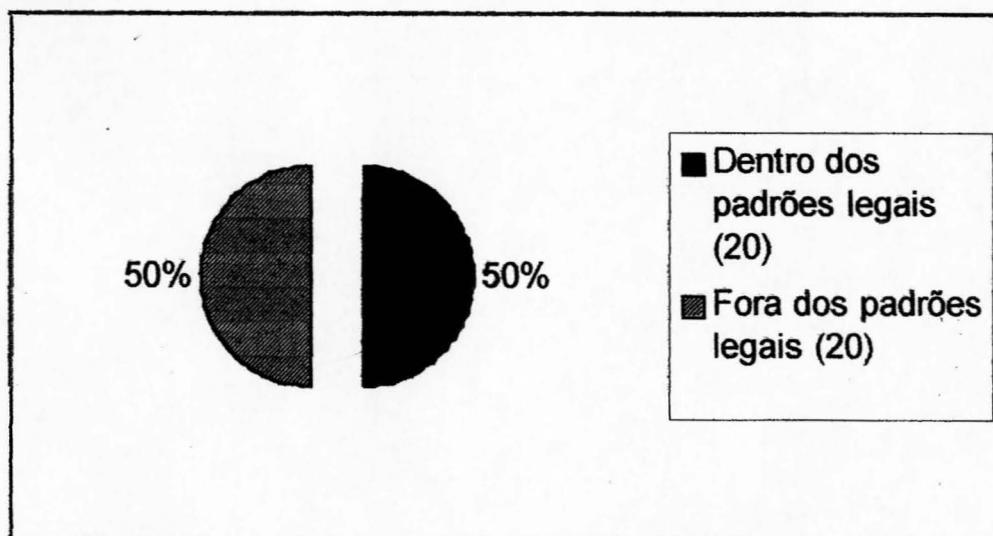
**Tabela 4.1** – Variação da ocorrência de coliformes fecais nas 80 amostras analisadas, de acordo com os padrões legais estabelecidos pela RDC nº 12, de 2001.

Valores de coliformes fecais de acordo com o padrão legal	Nº de amostras	%
De acordo com os padrões legais	28	35,00
Até 10 vezes acima do permitido	12	15,00
De 10,1 a 99 vezes acima do permitido	13	16,25
De 100 a 999 vezes acima do permitido	10	12,50
De 1000 vezes ou mais acima do permitido	17	21,25
Total de amostras	80	100,00

Do total de pratos quentes analisados (40), 50% encontravam-se em condições higiênico- sanitárias insatisfatórias, de acordo com o padrão legal vigente (**Gráfico 4.4**).

Já do total de pratos frios (40), 77% encontravam-se fora dos padrões legais vigentes (**Gráfico 4.5**), podendo ser um indício de que o processo térmico a qual os pratos quentes foram submetidos (pré-distribuição) pode estar ligado ao menor índice de contaminação. Dados de GARCIA e colaboradores (1998), que em trabalho realizado na Espanha avaliando microbiologicamente alimentos considerados de alto risco, elaborados em diferentes estabelecimentos de alimentação coletiva, classificaram como impróprias para o consumo, de acordo com a legislação local, apenas 5,60% das amostras analisadas, número bem abaixo dos detectados pelo presente trabalho. Trabalho semelhante efetuado na Argentina por ARANGO e colaboradores, em 1997, também avaliando grupos de estabelecimentos destinados à alimentação coletiva, encontrou resultados, se não tão satisfatórios quanto os descritos por GARCIA e colaboradores, em 1998, ao menos com índices de contaminação bem abaixo do apresentado no presente trabalho, sendo que, das 94 amostras analisadas em tal trabalho, 75,50% encontravam-se em condições higiênico-sanitárias satisfatórias de acordo com a legislação vigente local.

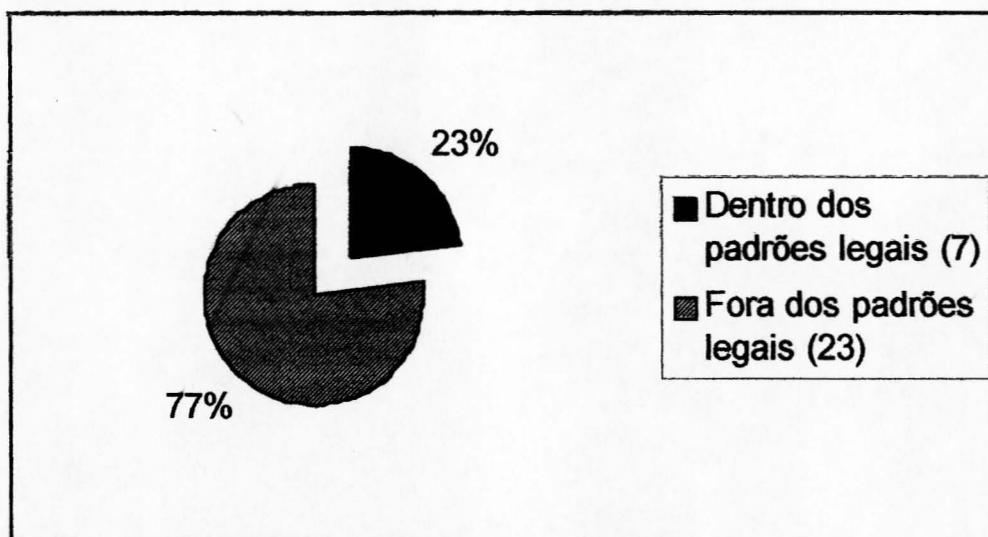
**Gráfico 4.4** - Classificação dos pratos quentes, analisados de acordo com o padrão microbiológico vigente – Resolução RDC nº 12 de 2001.



Talvez vários aspectos como alguns fatores sócio-culturais, em especial aqueles ligados à educação sanitária e portanto ao conhecimento dos riscos inerentes a um processo inadequado de distribuição dos alimentos, possam ajudar a explicar tal discrepância.

Em relação ao baixo valor de *Staphylococcus aureus* encontrados, uma das possíveis explicações é a grande quantidade detectada de bactérias de outros gêneros, já que de acordo com JAY (2000), este não tolera competição com outros microrganismos. Já em relação ao *C.perfringens* nenhuma amostra positiva foi detectada, não acompanhando a tendência descrita por GUTIERREZ, em 1999, onde 46% das amostras analisadas em seu trabalho, visando a detecção deste agente, mostraram-se positivas.

**Gráfico 4.5** - Classificação dos pratos frios analisados de acordo com o padrão microbiológico vigente – RDC nº 12 de 2001.



#### 4.5 Temperaturas registradas nos balcões

Em relação a temperatura dos pratos colhidos, do total de pratos quentes (40), apenas 8 (20%), encontravam-se com temperaturas iguais ou superiores à 60° C, sendo 7 (17,50%) com temperaturas iguais ou superiores a 65° C. 18 pratos (45%) encontravam-se com temperaturas entre 50° C e 59,9° C e 14 (32,50%) com temperaturas abaixo dos 50° C, sendo que destes, 11 (27,50%) encontravam-se com temperaturas entre 40' e 49,9° C e 3 (7,50%) com temperaturas menores de 40° C, variando de 30 a 35° C, o que configura uma

temperatura de alto risco; ainda mais ao levarmos em conta outros possíveis fatores como uma contaminação inicial ou cruzada ou ainda um procedimento de reposição inadequado (permitindo que o alimento fique exposto por um tempo prolongado em tais temperaturas). A variação total de temperaturas do balcão quente foi de 30° C à 72° C (Tabela 4.2).

**Tabela 4.2** – Variação das temperaturas encontradas em balcões quentes de estabelecimentos com serviço de Bufê.

Temperatura em ° C	Nº	%
60 ou mais	8	20,00
De 50 a 59,9	18	45,00
De 40 a 49,9	11	27,50
Abaixo de 40	3	7,50
Total de amostras	40	100,00

Determinados alimentos como carnes grelhadas, bistecas suínas e alimentos fritos, pelas suas características intrínsecas, demonstraram uma dificuldade maior para manter uma temperatura adequada no balcão, mesmo naqueles considerados em condições para tal, sendo que dos alimentos enquadrados nesta categoria, todos (10) se encontravam abaixo da faixa de temperatura considerada como de maior segurança (65° C) e apenas uma amostra encontrava-se acima dos 50° C, com as outras nove variando de 35° C a 50° C.

Em relação aos pratos frios, das 40 amostras colhidas, 20 (50%) encontravam-se com temperaturas de 20° C ou mais no momento da colheita, 17 (42,50%) na faixa entre 10° C e 20° C, e apenas 3 (7,50%) abaixo dos 10° C, temperatura considerada como segura (Tabela 4.3).

Em trabalho onde analisou a qualidade higiênico-sanitária de pescados servidos crus em restaurantes do tipo *fast-food*, SOARES, em 1999, encontrou 90% das amostras em temperatura superior à 10° C, sendo 6,7% com temperatura acima de 20° C.

**Tabela 4.3 – Variação das temperaturas encontradas em balcões frios de estabelecimentos com serviço de Bufê.**

Temperatura em °C	N <sup>o</sup>	%
De 0 a 10	3	7,50
10,1 a 20	17	42,50
Acima de 20	20	50,00
<b>Total de amostras</b>	<b>40</b>	<b>100,00</b>

HANASHIRO (2002), em seu trabalho com Bentô comercializados na cidade de São Paulo, encontrou 67% das amostras sem refrigeração, isto é comercializadas à temperatura ambiente, procedimento considerado de risco para 75% das amostras, sendo que foram descritas temperaturas de até 35,2<sup>o</sup> C, detectadas durante a colheita, assemelhando-se em parte aos dados relatados no presente estudo, demonstrando que estes números podem representar uma perigosa tendência.

Para o presente trabalho, se considerarmos as 2 categorias em conjunto (pratos quentes e frios), apenas 11 amostras (13,75%), encontravam-se com temperaturas consideradas satisfatórias (igual ou abaixo de 10<sup>o</sup> C para frios e acima ou igual ou superior a 60<sup>o</sup> C para quentes). Por se tratar de um parâmetro frequentemente associado ao tempo de exposição (binômio tempoXtemperatura), fica difícil estabelecer limites máximos e mínimos isoladamente (baseados apenas na temperatura), sendo que a própria legislação vigente (SÃO PAULO 1999) trabalha com tal binômio, permitindo que alimentos fiquem expostos por períodos diferenciados de acordo com a sua temperatura de distribuição (Anexo 5), por este motivo parâmetros baseados não só na legislação mas em princípios técnicos de segurança alimentar devem ser levados em conta, já que é muito difícil prever ou detectar por quanto tempo um alimento ficará ou está exposto e em quais condições. A inclusão por parte da legislação sanitária da exigência de termômetros visíveis nos balcões (assim como acontece nas gôndolas dos supermercados) poderia ser um aliado importante neste quesito (controle da temperatura de distribuição), pois possibilitaria que este fosse efetuado

também pelos usuários, induzindo os proprietários a dispensar uma maior atenção a este fator. Este procedimento beneficiaria não só os próprios usuários do sistema de maneira geral, como aqueles proprietários que já possuem uma preocupação com este quesito, uma vez que estes seriam mais valorizados pelos próprios comensais e pelo mercado como um todo.

#### 4.6 Características microbiológicas e temperatura de distribuição

Das 8 amostras onde foram constatadas temperaturas acima dos 60° C, portanto de acordo com o mínimo sugerido pela legislação vigente para pratos quentes, 6 (75%), encontravam-se de acordo com o padrão microbiológico legal, sendo que os valores de coliformes fecais para as amostras positivas, em unidades formadoras de colônias, variaram em média  $4,15 \times 10^6$  vezes acima do padrão legal. Já das 18 amostras colhidas entre 50 e 59,9° C, 9 (50%) encontravam-se de acordo o padrão legal, com valores de coliformes fecais para as amostras positivas 8 (44,40%) com médias de  $2,6 \times 10^5$  vezes acima do permitido. Dos 11 pratos colhidos entre 40 e 49,9° C, 4 (36,36%) encontravam-se de acordo com o padrão legal vigente, com valores médios de coliformes fecais para os positivos de  $3,8 \times 10^6$  vezes acima do permitido (Tabela 4.4). Dos 3 pratos colhidos com temperaturas inferiores a 40° C, 1 (~33,3%), encontrava-se em acordo com o padrão legal vigente, com a média dos valores de coliformes fecais para as amostras positivas ficando em  $1,15 \times 10^6$  vezes acima do permitido pelos padrões legais. Os resultados do presente trabalho em relação a influência da temperatura de pratos quentes na microbiologia dos alimentos, parecem reforçar os resultados encontrados em trabalho efetuado na Argentina por TESSI e colaboradores (2002), envolvendo a pesquisa de *Salmonella* spp, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, e *Clostridium* spp em comidas prontas para consumo, em uma cozinha central escolar, onde foram analisados dois tipos de alimentos de acordo com a distribuição: alimentos cozidos prontos distribuídos à temperatura ambiente e alimentos cozidos prontos para o consumo distribuídos quentes, onde foram encontrados resultados bem discrepantes, sendo que no segundo grupo, entregue sobre a ação do calor, foi detectada uma variação de 1,04 a 3,5 log UFC/g de coliformes e nada foi encontrado em relação aos demais patógenos; já para o outro grupo, os seguintes resultados foram encontrados: variação de 3,63 a 6,48 log UFC/g para bactérias aeróbicas totais,

foram encontrados: variação de 3,63 a 6,48 log UFC/g para bactérias aeróbicas totais, variação de 1,90 a 5,36 a CFU/g para coliformes, variação de 1,30 a 3,95 log UFC/g para coliformes termo-tolerantes, e variações de 3,60 a 5,46 log UFC/g para *Enterobacteriaceae*, levando a crer que a temperatura de distribuição teve um papel importante em tais resultados. Trabalho semelhante realizado por ZANARDI, em 2002, avaliando a qualidade microbiológica de refeições servidas a bordo de aeronaves, e classificando as preparações, quanto ao seu grau de cocção, como bem passada, mal passada e muito mal passada, detectou contagens de coliformes totais, *E.coli* e *Salmonella* spp estatisticamente iguais para os três grupos, além de não encontrar correlação estatística entre a temperatura de distribuição e contagem de bactérias, se opondo em parte ao descrito neste trabalho, porém fatores anteriores à distribuição destes alimentos podem ter interferido decisivamente para que tais resultados tenham sido alcançados.

**Tabela 4.4** – Classificação das amostras de alimentos colhidos em balcões quentes de estabelecimentos com serviço de Bufê, de acordo com o padrão microbiológico vigente (RDC nº 12, de 2001), em relação à temperatura de distribuição.

Temperatura em °C	Dentro do padrão	Fora do padrão
Acima de 60	6 (75,00%)	2 (25,0%)
De 50 a 59,9	9 (50,00%)	9 (50,00%)
De 40 a 49,9	4 (36,36%)	7 (63,64%)
Abaixo de 40	1 (33,30%)	2 (67,70%)
Total de amostras	20 (50,00%)	20 (50,00%)

Em relação aos pratos frios analisados, das 20 amostras colhidas entre 20° C e 30° C, 18 (90%) encontravam-se fora dos padrões legais, sendo que as amostras positivas para coliformes fecais se encontravam, em média,  $3,87 \times 10^5$  vezes acima dos padrões máximos

temperaturas entre 10 e 20° C, 11 (64,70%) encontravam-se fora do padrão, com valores médios de coliformes fecais para os positivos de  $5,81 \times 10^5$  vezes acima do permitido. Das 3 amostras colhidas entre 0 e 10° C, 2 (66,70%) encontravam-se fora do padrão legal para coliformes fecais, com valores médios para os positivos de  $1,61 \times 10^3$  vezes acima do padrão legal. Estes resultados relacionando as temperaturas de pratos frios e qualidade microbiológica das amostras parecem corroborar os resultados dos estudos desenvolvidos por RICHERT e colaboradores, em 2000, envolvendo a sobrevivência e desenvolvimento da bactéria *E.coli* O157:H7 em vegetais, demonstrando a capacidade desta multiplicar-se a 15° C. Embora o número de amostras de *E.coli* detectadas no presente trabalho não tenha sido tão elevado em relação às contagens de coliformes fecais (número alto se levarmos em conta o potencial patogênico da bactéria), e todas encontrarem-se com temperaturas superiores a 15° C, o trabalho citado pode mostrar uma tendência que pode ser aplicada a outras bactérias.

Das quatro amostras aonde foi detectada a presença de *Salmonella* spp (duas quentes e duas frias), todas se encontravam em faixas de temperatura entre 50° e 55° C para pratos quentes e 15° e 26,7° C para pratos frios, sendo que na amostra aonde foram detectados valores acima dos permitido para *Staphylococcus aureus*, o alimento era mantido a 26,7° C. Sendo conhecido que a temperatura de distribuição não elimina os problemas de contaminações pré-existentes, servindo sim para controlar a multiplicação da carga microbiana inicial, a grande quantidade de coliformes fecais encontrada, principalmente nos pratos frios, provavelmente já contaminados antes da distribuição, talvez seja um parâmetro mais relevante para avaliar a eficácia da temperatura de distribuição como fator de proteção, porém o pequeno numero de amostras que se enquadraram neste grupo (alimento frios com temperaturas consideradas de segurança), dificultou a avaliação de sua eficiência.

**Tabela 4.5** – Classificação das amostras de alimentos colhidos em balcões frios de estabelecimentos com serviço de Bufê, de acordo com o padrão microbiológico vigente (RDC nº 12, de 2001), em relação à temperatura de distribuição.

Temperatura em °C	Dentro do padrão	Fora do padrão
De 0 a 10	1 (33,30%)	2 (66,70%)
De 10,1 a 20	6 (35,30%)	11 (64,70%)
Mais de 20	2 (10,00%)	18 (90,00%)
<b>Total de amostras</b>	<b>9 (22,50%)</b>	<b>31 (77,50%)</b>

#### 4.7 Horário de colheita e temperatura de distribuição

Das 28 amostras colhidas entre 11:45 e 13:00 hora, 6 (21,43%) apresentavam-se dentro de faixas de temperaturas consideradas seguras. Dos 14 pratos quentes colhidos neste horário, portanto aproximadamente no terço inicial do período total de funcionamento, 4 (28,57%) apresentavam temperaturas acima de 60<sup>o</sup> C, sendo que destes, 100% encontravam-se com temperatura igual ou superior a 65<sup>o</sup> C (Tabela 4.6). Já das 14 amostras frias colhidas neste período apenas 2 (14,28%) encontravam-se com temperaturas iguais ou menores a 10<sup>o</sup> C. (Tabela 4.7)

Das 22 amostras quentes colhidas entre 14:00 e 15:15 horas, 2 (9,09%) encontravam-se em faixas de temperatura acima de 60<sup>o</sup> C, para os pratos frios e nenhuma amostra encontrava-se abaixo de 10<sup>o</sup> C.

A tolerância legal estipulada pela Portaria CVS 06 de 1999 e recentemente pela Consulta Pública N<sup>o</sup> 001 de 2002, do Departamento de Inspeção Municipal de Alimentos da cidade de São Paulo, relacionada ao binômio tempo e temperatura permitindo a exposição de pratos quentes mantidos à temperatura abaixo de 60<sup>o</sup>C por até 3 horas pode significar um risco que não deve ser desprezado, já que não defini faixas de temperatura abaixo dos 60<sup>o</sup> C, e tampouco prevê a incapacidade de se controlar por quanto tempo o alimento permanecerá exposto no balcão.

**Tabela 4.6 – Variação das temperaturas de distribuição de alimentos colhidos em balcões quentes de estabelecimentos com serviço de Bufê em relação ao horário de colheita.**

Horário de colheita	Temperatura de distribuição em °C	
	Acima de 60	Abaixo de 60
De 11:45 à 13:00	4 (28,57%)	10 (71,43%)
De 13:01 às 13:59	2 (50,00%)	2 (50,00%)
De 14:00 às 15:10	2 (9,09%)	20 (90,91%)
Total de amostras	8 (20,00%)	32 ( 80,00%)

**Tabela 4.7 – Variação das temperaturas de distribuição de alimentos colhidos em balcões frios de estabelecimentos com serviço de Bufê em relação ao horário de colheita.**

Horário de colheita	Temperatura de distribuição em °C	
	10 ou menos	Acima de 10
De 11:45 à 13:00	2 (14,29%)	12 (85,71%)
De 13:01 às 13:59	1 (25,00%)	3 (75,00%)
De 14:00 às 15:10	0 (0%)	22 (100,00%)
Total de amostras	3 (7,50%)	32 ( 82,50%)

#### 4.8 Horário de colheita e resultados microbiológicos

Do total de 44 (55%) de amostras colhidas no horário entre 14:00 e 15:15, para pratos quentes e frios, apenas 9 (20,45%) encontravam-se dentro dos padrões microbiológicos legais (Tabela 4.8), sendo que 35 amostras (79,55%) se encontravam fora deste padrão para pelo menos um dos parâmetros analisados e 34 demonstraram estar fora do padrão para coliformes fecais, com valores médios de  $1,04 \times 10^6$  vezes acima do permitido para os positivos. Já das 28 amostras colhidas entre 11:45 e 13:00, 16 (57,14%) se encontravam dentro dos padrões legais, sendo que nas 12 amostras fora do padrão para coliformes fecais (42,86%), os valores médios encontrados foram de  $1,36 \times 10^2$  vezes acima do permitido. Se forem levados em conta apenas os alimentos colhidos até 12:30, das 20 amostras, 13 (65%) encontravam-se dentro dos padrões microbiológicos legais, sendo que o valor médio das 7 amostras fora do padrão para coliformes fecais foi de 29,8 vezes acima do permitido. Estes números, quando comparados àqueles referentes às amostras colhidas no horário entre 14:00 e 15:15 horas, podem ser considerados relevantes, não só pela diferença na quantidade de amostras impróprias (35% no primeiro horário contra 79,5% no segundo), mas principalmente pelos valores médios de coliformes fecais detectados para cada horário (29,8 vezes acima do permitido na primeira faixa de horário contra  $1,04 \times 10^6$  da última), sugerindo que tal discrepância pode estar relacionada à um demasiado tempo de exposição. A pequena diferença no número de amostras consideradas impróprias, ao se comparar aquelas colhidas entre 11:45 e 13:00 hora com aquelas colhidas entre 13:00 e 13:59 horas (42,86% contra 37,5%), pode até levar a acreditar que o segundo horário se mostrou mais seguro, porém ao analisarmos os dados referentes aos valores médios de coliformes fecais nas amostras fora do padrão, percebemos que o segundo horário apresentou valores médios muito superiores ao primeiro ( $6,4 \times 10^4$  vezes acima do permitido contra 29,8 do primeiro), possivelmente por um maior tempo de exposição, permitindo uma maior multiplicação desta bactérias nas amostras já contaminadas. Além disto, o número menor de amostras fora do padrão encontradas no segundo horário não indica necessariamente um menor tempo de exposição dos alimentos colhidos nesta faixa, já que esta pode ter sido efetuada após uma das inúmeras reposições e portanto possibilitando um tempo menor de exposição dos alimentos em questão.

após uma das inúmeras reposições e portanto possibilitando um tempo menor de exposição dos alimentos em questão.

Em relação às Salmonelas, das 4 amostras positivas 2 (50%) foram colhidas entre 11:45 e 13:00 hora e 2 (50%) entre 14:00 e 15:10 horas. As três amostras positivas para *E.coli* (3,75%), foram colhidas no mesmo estabelecimento entre 14:00 e 15:00 horas.

**Tabela 4.8 – Classificação de alimentos colhidos em balcões de estabelecimentos com serviço de Bufê, de acordo com o padrão microbiológico vigente, em relação ao horário de colheita.**

Horário da colheita	Dentro do padrão	Fora do padrão
De 11:45 à 13:00	16 (57,14%)	12 (42,86%)
De 13:01 às 13:59	5 (62,50%)	3 (37,50%)
De 14:00 às 15:15	9 (20,45%)	35 (79,55%)
Total de amostras	30 (37,50%)	50 (62,50%)

#### 4.9 Temperatura, Horário de colheita e resultados microbiológicos

Das 6 amostras colhidas entre 11:45 e 13:00 que apresentavam-se dentro de faixas de temperaturas consideradas seguras (60° C ou mais para pratos quentes e 0° C a 10° C para pratos frios), 5 (83,33%) se encontravam dentro dos padrões legais, sendo que a amostra fora do padrão para coliformes fecais possuía valores 43 vezes acima dos limites da legislação. Destas 6, se levarmos em conta apenas os pratos quentes (4), todas as amostras estavam dentro dos padrões microbiológicos legais, números que comparados com a alta porcentagem de amostras contaminadas (66,20%) e com os altos índices de coliformes fecais encontrados, pode ser um indicio de que a intercessão destes dois fatores (temperatura adequada de distribuição e tempo reduzido de exposição) seja um importante fator de proteção.

#### 4.10 Resultados por tipo de alimento

Em virtude da grande variedade de alimentos colhidos, fica difícil estabelecer uma relação entre o tipo de alimento e níveis de contaminação, porém alguns alimentos por serem encontrados com maior facilidade puderam ser melhor avaliados quanto ao risco inerente às suas características. Maioneses à base de legumes foram colhidas em 15 estabelecimentos (75%), sendo que destes, em 14 (93,33%) as amostras se encontravam fora do padrão em pelo menos um dos parâmetros analisados, 3 (20,00%) encontravam-se com no mínimo dois parâmetros diferentes fora do padrão e 1 (6,66%) com três parâmetros, demonstrando um alto potencial de contaminação deste alimento, possivelmente devido à falhas durante o processo de manipulação ou no processo de higienização das matérias-primas utilizadas, já que por tratarem-se alimentos de origem vegetal, e portanto manterem um contato direto com o solo, possuem um alto risco de contaminação primária, gerando riscos quando não higienizados adequadamente. Alimentos à base de produtos de origem animal, responderam por 22 (41,50%) das 53 amostras fora do padrão (Tabela 4.9), porém foi também o tipo de alimento mais colhido, respondendo por 39 (48,75%) do total de amostras, com 56,41% destas consideradas impróprias. Saladas adicionadas de molho de maionese (incluindo as maioneses de legumes), responderam por 28,30% do total de amostras contaminadas, sendo que das 16 amostras enquadradas nesta categoria, 15 (93,75%) encontravam-se fora do padrão.

Em relação às 4 amostras onde foi detectada a presença de *Salmonella* spp, os alimentos incriminados foram: bisteca suína, salsicha e maionese de legumes (2), não confirmando a tendência descrita por Elley, em 1996, relatando que 90% dos casos relacionados a este patógeno se originam através de alimentos formulados à base de ovos, levando em conta que as maioneses utilizadas para elaboração de saladas nos estabelecimentos visitados são, em sua grande maioria, industrializadas, indicando que as contaminações em questão podem ter sido originadas por via cruzada.

A significativa diferença dos níveis de inadequação dos pratos frios (77%), quando comparados aos dos pratos quentes (50%), pode, em parte, ser explicada pelos diferentes processamentos pré-distribuição a que são submetidos, já que pratos frios, muitas vezes não sofrem processos adequados de desinfecção, embora este seja um procedimento descrito por diversos instrumentos legais (SÃO PAULO 1999). Vale ressaltar que muitos dos pratos

considerados frios, cujos resultados mostraram-se satisfatórios, também passaram por processo de cocção pré-distribuição, como no caso dos ovos de codorna, salada de ovos e de alguns vegetais como chuchu e abobrinha. Em seu trabalho, SOARES, em 1999, verificou em amostras de pescado servido cru em restaurantes, a presença de coliformes (fecais ou totais) em 56,60% do total analisado, indicando um alto potencial de contaminação destes alimentos que não sofreram processos que poderiam reduzir o número de bactérias presentes a um nível aceitável.

**Tabela 4.9** – Classificação dos alimentos colhidos em balcões de estabelecimentos com serviço de Bufê, em relação ao padrão microbiológico vigente, de acordo com o tipo de alimento.

Tipo de alimento	Amostras fora do padrão
À base de carne, frango, ovos ou pescados	22 ( 41,51%)
Saladas adicionadas de molho de maionese	13 (24,53%)
Outros	18 (33,96%)
Total de amostras	53 (100,00%)

Em relação às 3 amostras onde foi detectada a presença de *E.coli*, 2 (66,60%) eram compostas por alimentos de origem vegetal (maionese de legumes e tabule). Dados estes que quando somados aos apontados por WILSON e HEANEY (1999), descrevendo quantidades de *E.coli* duas vezes maior neste tipo de alimento (vegetais) quando comparado àqueles à base de carne, podem demonstrar uma tendência destes abrigarem tal espécie bacteriana, devido principalmente a uma contaminação inicial ocasionada pelo contato com o solo, fato este agravado pelo não cumprimento das recomendações técnicas e legais de serem submetidos a um processo de desinfecção química adequada.

Este dado pode ser considerado como relevante, uma vez que é notada uma menor atenção dispensada a estes pratos quando comparados aos quentes, uma vez que estes últimos, devido entre outras coisas ao aspecto sensorial, geram uma maior rejeição por parte do comensal, quando se encontram com temperaturas inadequadas (abaixo do esperado).

Para efeitos de classificação foi usado o padrão estabelecido pela RDC nº 12 de 2001 (ANVISA 2001).

#### **4.11 Intersecção dos diversos parâmetros envolvidos**

Fatores como tipo de balcão, locais adequados para lavagem das mãos e hábitos adequados no momento de se servir não podem ser menosprezados como elementos de proteção, porém se faz necessário que estes estejam acompanhados de ações relacionadas à educação sanitária, despertando no comensal um sentimento de responsabilidade quanto à sua importância, mostrando que também ele pode ser responsável pela qualidade do alimento consumido por ele mesmo e por outras pessoas.

Faz-se necessária também uma maior conscientização por parte dos proprietários e ou responsáveis pelos estabelecimentos que utilizam os serviços de balcões, quanto à influência da temperatura de distribuição na qualidade dos alimentos servidos, sendo de suma importância a criação de procedimentos que monitorem este parâmetro. Cabe ressaltar que os critérios de distribuição dos alimentos servidos quanto à temperatura, são constantes da legislação sanitária, sendo necessário que esta seja monitorada a fim de atestar a sua conformidade com o estabelecido pelos critérios legais. Visando este objetivo, os balcões utilizados nestes estabelecimentos poderiam ou deveriam conter termômetros que permitissem a observação da temperatura por parte dos comensais, possibilitando que estes também efetuem um controle sobre os alimentos por eles consumidos. Vale lembrar que tal exigência só teria validade se acompanhada de ações que visassem conscientizar os usuários sobre a importância de tal fator para segurança dos alimentos.

A análise individual dos elementos que podem interferir na qualidade microbiológica dos alimentos em questão é muito difícil, já que é sabido que todo e qualquer resultado está relacionado a intersecção destes; porém a constatação que a não-observância destes fatores pode propiciar maiores riscos de contaminação, pode servir

como referência para que ações sejam tomadas a fim de que problemas sejam evitados, protegendo desta maneira a saúde dos usuários deste sistema.

## 5 CONCLUSÕES

- 66,2% das amostras analisadas mostraram-se impróprias para consumo.
- O grande número de amostras consideradas impróprias demonstra que possivelmente falhas ocorreram em uma ou mais etapas do processo, seja na seleção das matérias-primas utilizadas, na higienização ou durante a elaboração, sendo que temperaturas inadequadas de distribuição, funcionaram como um fator agravante propiciando uma elevada multiplicação bacteriana.
- O alto índice de indicadores de higiene como coliformes fecais, indicam um potencial risco de contaminação por outras bactérias (inclusive patogênicas), já que demonstram falhas durante o processo.
- As temperaturas encontradas, de maneira geral, não garantem a segurança dos alimentos, já que apenas 10 amostras (12,5%) encontravam-se com temperaturas consideradas como realmente seguras, ao levarmos em conta o período de distribuição como um todo.
- O tempo de exposição dos alimentos, aliado ao fator temperatura de distribuição, ~~é um parâmetro de~~ grande importância para os alimentos servidos no sistema *self-service*.
- A observação das boas práticas de higiene e manipulação durante a preparação dos pratos a serem servidos são de fundamental importância, já que o controle da temperatura de distribuição isoladamente não garante a segurança destes alimentos.
- Mesmo alimentos considerados de baixo risco ficam sujeitos à contaminações frequentes quando procedimentos adequados (incluindo controle da temperatura) não são seguidos.
- Os resultados encontrados, revelando altos índices de contaminação, demonstram que fatores como temperatura e tempo de distribuição, embora não solucionem problemas de contaminações já existentes, são importantes parâmetros de segurança para os alimentos e que tais fatores, quando associados, podem representar um papel decisivo na proteção dos alimentos expostos.

- Faz-se necessária uma maior conscientização por parte não só dos proprietários, mas também da população que se utiliza deste tipo de serviço, quanto aos riscos da manipulação e conservação inadequadas dos alimentos servidos neste sistema.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Adams MR, Moss MO. **Food Microbiology**. Cambridge: Royal Society of Chemistry; 1995.

Alexandre MS, Pozo CM, Gonzales VG, Martinez MC, Prat SM, Fernandes AR, Fica AC, Fernandes JO, Heitmann IG. Deteccion de *Salmonella* Enteritidis en muestras de productos avícolas de consumo humano em la Region Metropolitana. **Revista medica de Chile** [periódico on line] 2000; 128(10). Disponível em <URL: [http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034)> [2002 Jul 29]

Almeida CR. Sistema de vigilância epidemiológica das doenças transmitidas por alimentos. [Apresentado ao I Simpósio de vigilância das doenças de transmissão hídrica e alimentar do Estado de São Paulo; 1999 nov 16; São Paulo, Brasil].

● Almeida Filho ES, Nader Filho A. Ocorrência de *Staphylococcus aureus* em queijo tipo frescal. **Revista de Saúde Pública** 2000; 34(6): 578-80.

● Andrade NJ, Macêdo JAB. **Higienização na indústria de alimentos**. São Paulo: Varela; 1996.

Arango J, Agostini A, Silvestre A, Yaafar M, López C e Fishmann H. Condiciones sanitarias de los comedores comunitarios del conurbano de Buenos Aires, Argentina. **Revista Panamericana de Salud Pública** [Periódico on line] 1997; 2(4).

Disponível em <URL:

[http://www.scielosp.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1020-49891997001000001&lng=en&nrm=iso](http://www.scielosp.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1020-49891997001000001&lng=en&nrm=iso)> [2002 Jul 31]

Baldassi L. Verificação da toxigenicidade de cepas de *Clostridium perfringens*, isoladas de material de origem bovina e sua tipificação pelo ensaio

**imunoenzimático e eletroforese corada para esterase.** São Paulo; 1998. [Tese de Doutorado – Faculdade de Saúde Pública da USP].

Barg NL, Harris T. Toxin mediated syndromes. In: Crossley KB e Archer GL. **The *Staphylococcus* in human disease.** Nova York: Churchill Livingstone; 1997. p. 527-543.

Biddle W. **Guia de batalha contra os germes.** Rio de Janeiro: Record; 1998.

Boulos MEMS, Bunhos RM. **Guia de leis e normas para profissionais e empresas da área de alimentos.** São Paulo: Varela; 1999.

Brasil. Ministério da Saúde. Portaria nº 1.428, de 26.11.1993: Aprova o regulamento técnico para inspeção sanitária de alimentos e as diretrizes para o estabelecimento de Boas Práticas de Produção de alimentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 2 dez. 1993. Seção I, p. 415-9.

Brasil. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Portaria nº 46, de 10.01.1998: Manual genérico de procedimentos para APPCC em indústrias de produtos de origem animal. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 16 abr. 1998. Seção I, p. 24-28.

Brasil. Ministério da Saúde. Portaria nº 304, de 08.04.1999: Obriga os produtores de palmito a orientarem os consumidores, através de etiquetas, a não consumir o produto sem antes submetê-lo a um tratamento térmico adequado. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 15 Abr. 1999.

Brasil. Ministério da Saúde. Resolução RDC 12, de 02.01.2001: Aprova o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 10 Jan. 2001. Seção I, p. 45-53.

Brasil. Ministério da Saúde. Resolução RDC 13, de 02.01.2001: Regulamento para instrução de uso e conservação na rotulagem de carne de aves e seus miúdos crus resfriados ou congelados. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 10 Jan. 2001. Seção I, p. 54.

Calil R. **O laboratório especializado em alimentos, como instrumento na Vigilância Sanitária e controle de qualidade**. São Paulo; 1997. [Tese de doutorado – Faculdade de Saúde Pública da USP].

Cardoso ALSP, Tessari ENC, Castro AGM, Hanashiro AMI. Pesquisa de *Salmonella* spp, coliformes totais, coliformes fecais e mesófilos em carcaças e produtos derivados de frango. **Arq Inst Biol** [periódico on line] 2000; 67(1). Disponível em <URL: [http://www.biologico.sp.gov.br/arquivos/v67\\_1/pesquisa\\_salmonella.htm](http://www.biologico.sp.gov.br/arquivos/v67_1/pesquisa_salmonella.htm)> [2001 Jun 28]

Cardoso ALSP, Tessari ENC, Castro AGM, Hanashiro AML, Gama NMSQ. Pesquisa de coliformes totais e coliformes fecais analisados em ovos comerciais no laboratório de patologia avícola de Descalvado, SP, Brasil. **Arq Inst Biol** 2000; 68(1): 19-22.

CDC. Outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infection associated with eating fresh cheese curds – Wisconsin, June 1998. **Morbidity and Mortality Weekly Reports** 2000; 49(40): 911-913.

CDC. Preliminary FoodNet Data on the incidence of foodborne illness – Selected sites, United States, 2000 - **Morbidity and Mortality Weekly Reports** 2001; 40: 241-246.

CDC. Summary of notifiable diseases, United States 2000 - **Morbidity and Mortality Weekly Reports** 2002; 49(53). [Informativo on line]. Disponível em <URL: <http://www.cdc.gov/mmwr/PDF/wk/mm4953.pdf>> [2002 Ago 01]

Ciordia IP, Ferrero M, Sanchez E, Abadiás M, Navarro FM, Herrera D. Enteritis por Salmonella en Huesca 1996-1999. **Enfermedades infecciosas - Microbiología Clínica** 2002; 20(1): 16-21.

Cowden JM, Ahmed S, Donaght M, Riley A. Epidemiological investigation of the central Scotland outbreak of *Escherichia coli* O 157:H7, November to December 1996. **Epidemiol Infect** 2001; 126: 335-341.

CNI, SEBRAE, SENAI. **Elementos de apoio para o sistema APPCC**. Rio de Janeiro: SENAI/DN; 1999.

Cruz MA, Katz JK, Suarez JA. An assessment of the ability of routine restaurant inspections to predict food-borne Outbreaks in Miami-Dade County, Florida. **Am J Pub Health** 2001; 91(5): 821-823.

CVE - Centro de Vigilância Epidemiológica do Estado de São Paulo. Informe-net DTA CVE. **Manual da doenças transmitidas por alimentos e água - Clostridium botulinum/Botulismo - CVE/SES/SP** [informativo on line]. Disponível em <URL: [http://www.cve.saude.sp.gov.br/htm/if\\_54bot.htm](http://www.cve.saude.sp.gov.br/htm/if_54bot.htm)> [2000 Abr 23]

CVE - Centro de Vigilância Epidemiológica do Estado de São Paulo. Informe-net DTA CVE. **Surtos de doenças transmitidas por alimentos notificados, por caso e óbitos, por agente etiológico, fonte de transmissão e local de ocorrência, por DIR e Municípios, SP - 1999 - CVE/SES/SP** [informativo on line]. Disponível em <URL: [http://www.cve.saude.sp.gov.br/htm/DTA\\_TAB299.htm](http://www.cve.saude.sp.gov.br/htm/DTA_TAB299.htm)> [2001 Jun 28]

CVE - Centro de Vigilância Epidemiológica do Estado de São Paulo. Informe-net DTA CVE. **Número de surtos notificados de doenças transmitidas por alimentos, casos e óbitos, por etiologia, SP - 1999 - CVE/SES/SP**. Dados estatísticos [informativo on line]. Disponível em <URL: [http://www.cve.saude.sp.gov.br/htmDTA\\_TAB199.htm](http://www.cve.saude.sp.gov.br/htmDTA_TAB199.htm)> [2001 Jun 28]

CVE - Centro de Vigilância Epidemiológica do Estado de São Paulo. Informe-net DTA CVE. **Dados dos surtos notificados à divisão de DTHA, durante o ano de 2001, por semana Epidemiológica, DIR e Município - CVE/SES/SP** [dados estatísticos on line]. Disponível em <URL: [http://www.cve.saude.sp.gov.br/doc\\_tec/dta\\_SE34.xls](http://www.cve.saude.sp.gov.br/doc_tec/dta_SE34.xls)> [2001 Set 19]

Dias RS, Carmo LS, Silva MCC. Surto de toxinfecção alimentar causado pela ação simultânea de enterotoxina estafilocócica e *Salmonella* Enteritidis. **Rev Inst Adolf Lutz** 1999; 58(1):7-11.

Doris LK Ng, Ko BB, Tay L, Yeo M. The presence of *Salmonella* In local food and beverage items in Singapore. **Dairy, Food and Environmental Sanitation** 1999; 19(12): 848-852.

Doyle MP, Beuchat LR, Montville TJ. **Food Microbiology: fundamentals and frontiers**. Washington DC: American Society for Microbiology; 1997.

Eduardo MBP. Projetos intersetoriais da vigilância das doenças transmitidas por alimentos. [Apresentado ao I Simpósio de vigilância das doenças de transmissão hídrica e alimentar do Estado de São Paulo; 1999 nov 16; São Paulo, Brasil].

Eduardo MBP. *E. Coli* O157:H7 e uma nova abordagem para as doenças emergentes de origem alimentar. [palestra on line]. Disponível em <URL: <http://www.cve.saude.sp.gov.br/ecoliest.ppt>> [2000 Abr 24]

Eley AR, editor. **Microbial food poisoning**. 2<sup>a</sup> ed. Londres: Chapman e Hall; 1996.

Ferrari CKB, Torres EAFS. Contaminacion de los alimentos por virus: un problema de salud pública poco comprendido. **Rev Pan Salud Publica** 1998; 3(6): 359-366.

Food and Drug administration (FDA). Consumers advised of risks associated with raw sprouts. **HHS News**; [informativo on line] 1999. Disponível em <URL: <http://www.cfsan.fda.gov/~lrd/hhssprts.html>> [2001 Out 9]

Forsythe, SJ. **Microbiologia da segurança alimentar**. Porto Alegre: Artmed; 2002.

Franco BD, Landgraf M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Ateneu; 1996.

Frenzen P, Riggs T, Buzby J, Breuer T, Roberts T, Voetsch D, Reddy S, FoodNet Working group. *Salmonella* cost estimate update using FoodNet Data. **FoodNet Publications** – CDC 2001. Disponível em <URL: [http://www.cdc.gov/foodnet/pub/publications/frenzen\\_p/frenzen\\_p.htm](http://www.cdc.gov/foodnet/pub/publications/frenzen_p/frenzen_p.htm)> [2002 Ago 2]

Friedman M, Friedland GW. **As dez maiores descobertas da medicina**. São Paulo: Companhia das letras; 2000.

García MCPS, Cortés SB e Corral JM. Estudio microbiológico de los alimentos elaborados en comedores colectivos de alto riesgo. **Rev Esp Salud Publica** [Periódico on line] 1998; 72(1). Disponível em <URL: [http://www.scielosp.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1135-57271998000100008&lng=en&nrm=iso](http://www.scielosp.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1135-57271998000100008&lng=en&nrm=iso) [2002 Jul 31]

Gebara AB. Contaminação dos alimentos. **O Biológico** 1998; 60(12): 67- 68.

Germano PML. O comércio clandestino e a qualidade dos alimentos. **Rev Hig Aliment** 1991; 5(18): 11.

Germano PML, Germano MIS, Oliveira CAF, Ungar ML. **Epidemiologia das DTA**. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública – USP; 1998.

Germano PML, Germano MIS. Aspectos patológicos e bioéticos da doença da “ vaca louca” nos animais e no homem. **Bioética** – CFM 2000; 8(1): 153-166.

Germano PML, Germano MIS. **Higiene e Vigilância Sanitária de Alimentos**. São Paulo: Varela; 2001.

Grisi S. Perfil epidemiológico das doenças diarreicas de origem alimentar. **Revista CIP - Secretaria de Estado da Saúde [periódico on line] 1998; 1(1)**. Disponível em <URL: <http://www.cip.saude.sp.gov.br/Revistac.htm#PERFIL EPIDEMIOLOGICO>> [2000 Abr 23]

Gutierrez A, Gamboa MDM, Rodriguez E, Arias ML. Presencia de Clostridium perfringens en preparaciones a base de carne en servicios de alimentación pública del Cantón Central de San José, Costa Rica. **Arch Lat Am Nut** 1999; 49(3) :275-278.

Hanashiro A. **Avaliação da qualidade higiênico-sanitária e nutritiva de bents comerciais no bairro da liberdade, São Paulo**. São Paulo, 2002. [Dissertação de mestrado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP, Faculdade de Economia, Administração e Contabilidade da USP, Faculdade de Saúde Pública da USP].

Hazelwood D, Mc Lean AC. **Manual de higiene para manipuladores de alimentos**. São Paulo: Varela; 1999.

Hobbs BC, Roberts D. **Toxinfecções e controle higiênico-sanitário de alimentos**. São Paulo: Varela; 1999.

Hoffman FL, Garcia Cruz HP, Vinturim TM. Qualidade microbiológica de carnes e de presunto. **Rev Hig Aliment** 1998; 12(58): 52-75.

ICMSF. **Microbiologia de los alimentos: características de los patógenos microbianos.** Zaragoza: Acribia; 1996.

ICMSF/IAMS. **APPCC na qualidade e segurança microbiológica de alimentos.** São Paulo: Varela; 1997.

Jakabi M, Buzzo AA, Ristori CA, Tavechio AT, Sakuma H, Paula AMR, Gelli DS. Observações laboratoriais sobre surtos alimentares de *Salmonella* spp ocorridos na Grande São Paulo, no período de 1994 a 1997. **Rev Inst Adolf Lutz** 1999; 58(1): 47-51.

Jay JM. **Modern Food Microbiology.** 6<sup>a</sup> ed. New York: Aspen; 2000.

Lerner LH, Katsuya EM. Distribuição dos surtos de diarreia notificados à divisão de hídrica do Estado de São Paulo - CVE/SES/SP 1996 e 1997. **Revista CIP- Secretaria de Estado da Saúde** [periódico on line] 1998; 1(1). Disponível em <URL: [http://www.cip.saude.sp.gov.br/Revistac.htm#DISTRIBUIÇÃO DOS SURTOS](http://www.cip.saude.sp.gov.br/Revistac.htm#DISTRIBUIÇÃO%20DOS%20SURTOS)> [2000 Abr 23]

Linkvist RA, Anderson Y, Yong B de e Norberg P. A summary of reported foodborne incidents in Sweden, 1992 to 1997. **J Food Prot** 2000; 63(10): 1315-1320.

Mead PS, Slutsker L, Dietz V, McCaig LF, Bresee JS, Shapiro C, Griffin PM, Tauxe RV. Food-related illness and death in the United States. **Emerg Infect Dis** 1999; 5(5): 607-625. Disponível em <URL: <http://www.cdc.gov/ncidod/eid/vol5no5/mead.htm#>> [2002 Ago 07]

Melo MLR. Doenças emergentes de origem alimentar. [Apresentado ao I Simpósio de vigilância das doenças de transmissão hídrica e alimentar do Estado de São Paulo; 1999 nov 16; São Paulo, Brasil].

Mensah P, Yeboah-Manu D, Owusu-Darko K, Ablordey. Street foods in Accra, Ghana: how safe are they?. **Bulletin of the World Health Organization**. [artigo on line] 2002; 80(7). Disponível em<URL: [http://www.scielosp.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0042-968620020007000006&lng=en&nrm=iso](http://www.scielosp.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0042-968620020007000006&lng=en&nrm=iso)> [2002 Jul 31]

Okumura, MPM; Perez ACA, Espíndola Filho A. Principais zoonoses parasitárias transmitidas por pescado — Revisão. **Revista educação continuada do Conselho Regional de Medicina Veterinária de São Paulo** 1999; 1(2): 66-80.

Palmer S, Parry S, Perry D, Smith R, Evans M, Nehaul L, Roberts R, Walapu M, Wright D. The role of outbreaks in developing food safety policy: population based surveillance of *Salmonella* outbreaks in Wales, 1986-98. **Epidemiol Infect** 2000; 125: 467-472.

Panetta JC. Prefácio dos editores nacionais. In: IAMFES. **Guia de procedimentos para implantação do método de análise de perigos em pontos críticos de controle APPCC**. São Paulo: Ponto Crítico; 1997. p. 9.

Passos, MHCR; Kuaye AY. Relato de surto de intoxicação alimentar provocada por consumo de bolo contaminado por *Staphylococcus aureus*: importância da higiene dos manipuladores e condições de conservação do alimento na prevenção da doença. **Rev Inst Adolf Lutz** 1996; 56(1): 71-76.

Paulson DS. Handwashing, gloving, and disease transmission by the food preparer. **Dairy, Food and Environmental Sanitation** 2000; 20(11): 838-845.

Peresi JTM, Almeida IAZC, Lima SI, Marques DF, Rodrigues ECA, Fernandes AS, Gelli DS, Irino K. Surtos de enfermidades transmitidas por alimentos causados por *Salmonella* Enteritidis. **Rev Saúde Pública** 1998; 32(5): 477-83.

Pinto PSA. Aspectos sanitários da salmonelose como uma zoonose. **Rev Hig Aliment** 2000; 71(14): 32-33.

Proença RPC. **Inovação tecnológica na produção de alimentação coletiva**. Florianópolis: Insular; 1997.

Richert KJ, Albrecht JA, Bullerman LB, Summer SS. Survival and growth of *Escherichia coli* O157:H7 on broccolis, cucumber e green pepper. **Diary, Food and Enviromental Sanitation** 2000; 20(1): 24-28.

Riedel G. **Controle higiênico-sanitário dos alimentos**. 2<sup>a</sup> ed. São Paulo: Atheneu; 1992.

Ritter R, Santos D, Bergmann GP. Contaminação bacteriana da carne moída bovina comercializada em bancas do mercado público de Porto Alegre, RS. **Rev Hig Aliment** 2001; 15(85): 50-56.

Rodrigues KRM, Salay E. Garantia da qualidade sanitária de ovos de galinha in natura em unidades de alimentação e nutrição. **Higiene Alimentar** 2000; 14(73): 13-20.

Roitman I, Travassos LR, Azevedo JL. **Tratado de microbiologia**. São Paulo: Manole; 1987.

Rhodes R. **Banquetes Mortais: uma nova epidemia**. Rio de Janeiro: Campus; 1998.

Romão A. **Manual básico para planejamento e projeto de restaurantes e cozinhas industriais**. São Paulo: Varela; 1999.

São Paulo. Portaria CVS 6, de 10.03.1999: Regulamento técnico sobre os parâmetros e critérios para o controle higiênico-sanitário em estabelecimentos de alimentos. **Diário Oficial do Estado de São Paulo**, São Paulo, 12 abr. 1999.

Schuller L. As moscas domésticas e sua importância na transmissão de intoxicações e infecções alimentares. **Rev Hig Aliment** 2000; 73(14): 28-38.

Scussel VM. **Micotoxinas em alimentos**. Santa Catarina: Insular; 1998.

SEMAB – Secretaria Municipal de Abastecimento de São Paulo. **Histórico de fiscalização – Resumo anual 2001**. [informativo on line] 2002.. Disponível em <URL:

[http://www.prefeitura.sp.gov.br/secretarias/abastecimento/organizacao/estrutura/inspecao\\_alimentos\\_resumo\\_anual.asp](http://www.prefeitura.sp.gov.br/secretarias/abastecimento/organizacao/estrutura/inspecao_alimentos_resumo_anual.asp)> [2002 Out 15]

Silva Jr EA. **Manual de controle higiênico-sanitário em alimentos**. 2ª ed. São Paulo: Varela; 2001.

Silva N, Junqueira VCA, Silveira NFA. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 4ª ed. São Paulo: Varela; 1997.

Siqueira RS. **Manual de microbiologia de alimentos**. Rio de Janeiro: EMBRAPA-CTAA; 1995.

Soares CM. **Análise da qualidade higiênico-Santária de pescado, servido cru em restaurantes do tipo *fast-food* do município de São Paulo – SP**. São Paulo; 1999. [Dissertação de mestrado – Faculdade de Saúde Pública da USP].

Sobel J. E Coli O157:H7. [Apresentado ao Seminário Internacional sobre Síndrome Hemolítica Urêmica e a *E Coli* O157:H7; 2000 maio 31; São Paulo, Brasil].

Tauxe RV. Emerging Foodborne Diseases: an evolving Public Health Challenge. **Emerg Infect Dis** [periódico on line] 1997; 4(3): 425-432. Disponível em < <http://www.cdc.gov/ncidod/eid/vol3no4/tauxe.htm>> [2002 Ago 02]

Tessi MA, Aringoli EE, Pirovani, ME, Vincezini AZ, Sabbag NG, Costa SC; García CC, Zanier MS, Silva ER, Moguilevzky MA. Microbiological quality and safety of ready-to-eat cooked foods from a centralized school kitchen in Argentina. **J Food Prot** 2002; ( 65)4: 636–642.

Todd ECD. Foodborne and waterborne disease in developing countries – Africa and the Middle East. **Dairy, Food and Environmental Sanitation** 2001; 21(2): 110-121.

White DG, Zhao S, Sudler R, Ayers S, Friedman S, Chen S, McDermott PF, McDermott S, Wagner DD, Meng J. The isolation of antibiotic-resistant Salmonella from retail Ground Meats. **The New England Journal of Medicine** 2001; Volume 345: 1147-1154.

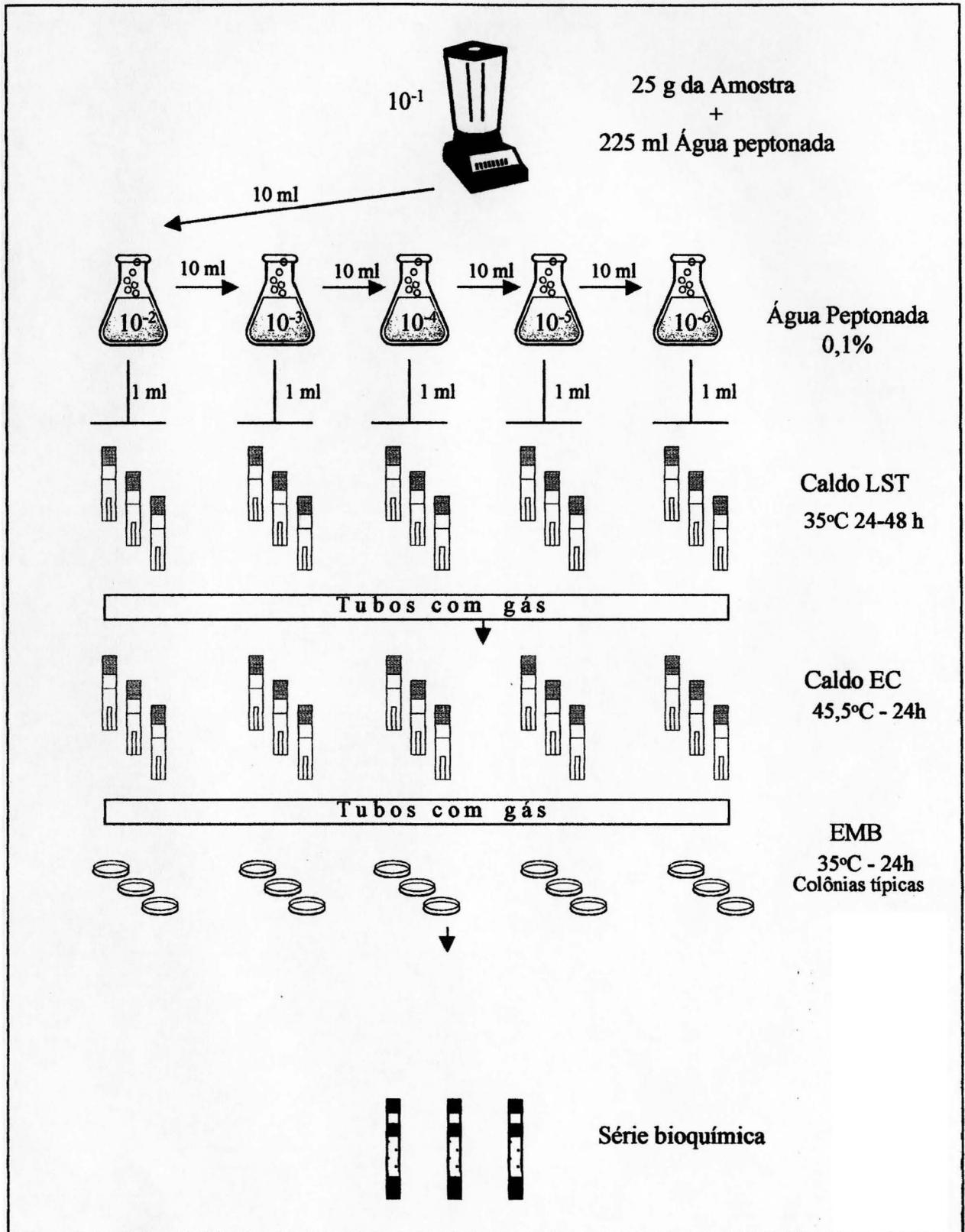
Wilkinson BJ. Biology. In: Crossley KB e Archer GL. **The *Staphylococcus* in human disease**. Nova York: Churchill Livingstone; 1997. p. 1-32.

Wilson I, Heaney JCN. Surveillance for *Escherichia coli* and other pathogens in retail premises. **Dairy, Food and Environmental Sanitation** 1999; 19(3): 170-179.

World Health Organization (WHO). **Foodborne disease: a focus for health education**. Geneva; 2000.

Zanardi AMP. **Avaliação da qualidade microbiológica de refeições servidas a bordo de aeronaves**. São Paulo; 2002. [Tese de doutorado – Faculdade de Saúde Pública da USP].

**ANEXO 1- PESQUISA DE COLIFORMES FECAIS E *Escherichia coli***  
**Contagem NMP**



## ANEXO 2 - PESQUISA DE *Salmonella* spp

25 g da Amostra  
+  
225 ml meio de  
enriquecimento (LST)



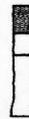
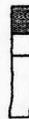
Caldo LST  
35°C 18-20 h



1 ml



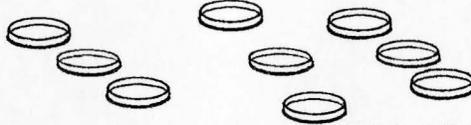
Meio Selenito Cistina  
35°C - 24 h



Meio Tetratonato  
35°C - 24 h

1 alcada

Meio SS  
35°C - 24 h



Meio Sulfito  
de bismuto  
35°C - 24 h

Meio XLD

35°C - 24 h

Colônias Típicas



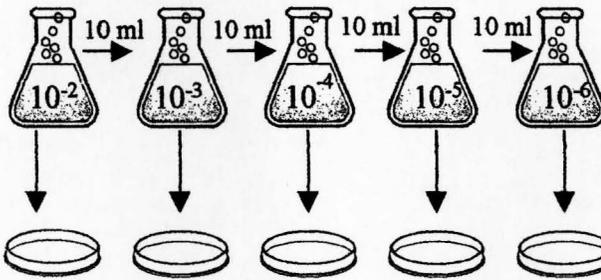
Série bioquímica

### ANEXO 3 - PESQUISA DE *Staphylococcus* spp



25 g da Amostra  
+  
225 ml Água peptonada

10 ml



Água peptonada

Meio Baird-Parker  
35°C - 48 h

Colônias Típicas



Catalase



DNase



Coagulase

## ANEXO 4 - PESQUISA DE *Clostridium perfringens*



Confirmação sorológica das colônias típicas

## **ANEXO 5 – CRITÉRIOS DE DISTRIBUIÇÃO DE ACORDO COM A PORTARIA CVS 06 DE 1999 (SÃO PAULO 1999)**

### **19.10 Distribuição**

Etapa onde os alimentos estão expostos para o consumo imediato, porém sob controle de tempo e temperatura para não ocorrer multiplicação microbiana e protegidos de novas contaminações, devendo serem seguidas as seguintes condutas e critérios para distribuição de alimentos quentes e frios:

**Alimentos quentes:**

- Podem ficar na distribuição ou espera a 65°C ou mais por no máximo 12 h ou a 60°C por no máximo 6 h ou abaixo de 60°C por 3 h.
- Os alimentos que ultrapassarem os prazos estipulados devem ser desprezados.

**Alimentos frios:**

**Alimentos frios potencialmente perigosos que favorecem uma rápida multiplicação microbiana:**

- Devem ser distribuídos no máximo a 10°C por até 4 horas.
- Quando a temperatura estiver entre 10°C e 21°C, só podem permanecer na distribuição por 2 horas.

Alimentos frios que ultrapassarem os critérios de tempo e temperatura estabelecidos devem ser desprezados.