

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

*Pontos Críticos de Controle do Número de Bactérias Mesófilas
e Enterobactérias no Preparo e Desinfecção da Alfaca em uma
Cozinha Hospitalar na Cidade de Uberlândia*

TAÍSSA ALVIM MENDONÇA

Monografia apresentada à Coordenação
do Curso de Ciências Biológicas da
Universidade Federal de Uberlândia, para
obtenção do grau de Bacharel em
Ciências Biológicas.

Uberlândia, MG
Dezembro de 1999

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

*Pontos Críticos de Controle do Número de Bactérias Mesófilas
e Enterobactérias no Preparo e Desinfecção de Alfaca em uma
Cozinha Hospitalar na Cidade de Uberlândia*

TAÍSSA ALVIM MENDONÇA

PROF^a. ANGELA MARIA A. H. BEICHER

Monografia apresentada à Coordenação
do Curso de Ciências Biológicas da
Universidade Federal de Uberlândia, para
obtenção do grau de Bacharel em
Ciências Biológicas.

Uberlândia, MG
Dezembro de 1999

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

*Pontos Críticos de Controle do Número de Bactérias Mesófilas
e Enterobactérias no Preparo e Desinfecção de Alfaca em uma
Cozinha Hospitalar na Cidade de Uberlândia*

TAÍSSA ALVIM MENDONÇA

APROVADO PELA COMISSÃO EXAMINADORA EM 22/12/99

NOTA: 100,00

PROF^a. ÂNGELA MARIA A. H. BEICHER
ORIENTADORA

MS. DAISE APARECIDA ROSSI
ORIENTADORA

NOELI MARQUES GONÇALVES
CO-ORIENTADORA

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROFESSORA RESPONSÁVEL: ÂNGELA MARIA A. H. BEICHER

Uberlândia, 22 de dezembro de 1999.

A Lição da Borboleta

Um dia, uma pequena abertura apareceu em um casulo. Um homem sentou e observou a borboleta por várias horas, conforme ela se esforçava para fazer com que seu corpo passasse através daquele pequeno buraco. Então, pareceu que ela parou de fazer progresso. Parecia que ela tinha ido o mais longe que podia e não conseguia ir mais longe. Então o homem decidiu ajudar a borboleta. Ele pegou uma tesoura e cortou o restante do casulo. A borboleta então saiu facilmente, mas seu corpo estava murcho, era pequeno e tinha asas amassadas. O homem continuou a observar a borboleta porque ele esperava que, a qualquer momento, as asas dela se abrissem e esticassem para serem capazes de suportar o corpo, que iria se afirmar com o tempo. Nada aconteceu. Na verdade, a borboleta passou o resto da sua vida rastejando com um corpo murcho e as asas encolhidas. Ela nunca foi capaz de voar.

O que o homem em sua gentileza e vontade de ajudar não compreendia, era que o casulo apertado e o esforço necessário à borboleta para passar através da pequena abertura, era o modo que Deus fazia com que o fluido do corpo da borboleta fosse para suas asas, de modo que ela estaria pronta para voar uma vez que estivesse livre do casulo.

Algumas vezes, o esforço é justamente o que precisamos em nossa vida. Se Deus nos permitisse passar através de nossas vidas sem quaisquer obstáculos, ele nos deixaria aleijados. Nós não iríamos ser tão fortes como poderíamos ter sido.

Nunca poderíamos voar.

Autor Desconhecido

Agradecimentos

À Deus,

"Quem nos dera ao menos uma vez fazer com o mundo inteiro saiba que Seu nome está em tudo e mesmos assim ninguém lbe diz ao menos obrigado".

Aos meus pais,

De vocês recebi o dom mais precioso do mundo: a vida! Por isso seria infinitamente grata, mas vocês não se contentaram em presentear-me apenas com ela, revestiram minha experiência de amor carinho e dedicação, cultivaram na criança todos os valores que me transformaram num adulto responsável e consciente. Abriam as portas do meu futuro, iluminando o meu caminho com a luz mais brilhante que puderam encontrar: o estudo. Trabalharam dobrado, sacrificando seus sonhos em favor dos meus, não foram apenas pais, mas amigos e companheiros. Hoje procuro entre as palavras aquelas que gostaria que seus corações ouvissem do meu. Obrigada queridos pais, pela compreensão quando distanciei da família apegando aos livros. Obrigada por tudo que fizeram por mim, sem que ao menos soubesse. Obrigada pelo sonho que estou realizando, em que me transformo de estudante para profissional, sobretudo, obrigada pela lição de amor que me ensinaram durante toda a vida. Tomara Deus que eu possa transmiti-la no exercício de minha profissão e ensina-la aos meus filhos com a mesma dignidade que vocês o fizeram chegar a mim... se isto conseguir, estarei realizada.

Obrigada!

Aos Familiares

"A todos que de algum modo nos incentivaram e acompanharam nessa jornada, meu mais sincero agradecimento".

À minha orientadora Daise,

Mudei, cresci e... cheguei lá.

E você está junto de mim, como no começo de tudo. A alegria desta conquista também é sua. Afinal seu amor, estímulo, carinho e compreensão são a alma desta vitória .

Obrigada!

À minha orientadora Ângela,

Os meus sinceros agradecimentos, pela paciência, respeito e apoio para que minha conquista se concretizasse.

À amiga Jupyrcyara,

Não caminhe a minha frente,

Eu posso não te seguir.

Não caminhe atrás de mim

Eu posso não te guiar.

Caminhe ao meu lado,

E seja sempre minha amiga

Obrigada por tudo!

À amiga Lenita,

"Todos os que passam em nossa vida passam sozinhos, mas não vão sozinhos. Levam um pouco de nós e deixam um pouco de si mesmos. Há os que levam muito, porém nunca haverá os que não deixam nada. Esta é a mais bela realidade de nossa vida, prova evidente de que as pessoas não se encontram por acaso".

Richard Bach

Obrigada por tudo!

Aos funcionários Soninha, Liana e Odécio,

"Talvez represento apenas mais um estagiário que parte e não serei mais que uma rotina. Mas, a convivência nos tornou amigos e na partida levaremos saudades, deixando o agradecimento pela dedicação de vocês, que viveram e dividiram todas as minhas angústias, frustrações e alegrias".

Aos funcionários da cozinha,

Obrigada por terem compreendido a importância deste trabalho para a minha vida profissional.

À Noeli,

Minha homenagem e gratidão, pela amizade, carinho e respeito ou pelo simples convívio ao longo deste trabalho.

Gostaria de agradecer a todas as pessoas que de alguma forma colaboraram direta ou indiretamente na realização deste trabalho.

Lista de Tabelas e Figuras

Tabela 1	Potabilidade da água de irrigação	27
Tabela 2	Contagens médias dos "swabs" provenientes das cinco coletas	28
Tabela 3	Contaminação do ambiente	29
Tabela 4	Média* das contagens de mesófilas (PCA) e enterobactérias (EMB) durante as diferentes etapas e uso dos agentes desinfetantes.	36
Figura 1	Esquema de condução do experimento	20
Figura 2	Esquema de condução da análise microbiológica da alface.	22
Figura 3	Esquema de condução da análise microbiológica do "swab"	23
Figura 4	Esquema de condução análise microbiológica da água.	24
Figura 5	Variações das contagens em PCA e EMB desde a recepção até a saída da câmara fria.	31
Figura 6	Contagem de bactérias mesófilas após saída da câmara, tratamento com hipoclorito e Sumaveg [®] e manipulação.	35
Figura 7	Contagem de enterobactérias após saída da câmara, tratamento com hipoclorito e Sumaveg [®] e manipulação.	35

Índice

1. INTRODUÇÃO.....	01
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	05
2.1. Enterobactérias.....	05
2.2. Bactérias mesófilas.....	06
2.3. Alface.....	06
2.4. Higienização na indústria de alimentos.....	08
2.5. Higiene pessoal e comportamento no trabalho.....	12
2.6. Sistema APPCC	15
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	17
3.1 Coleta das amostras.....	18
3.2. Análises microbiológicas.....	21
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	26
4.1. Água e solo na fazenda produtora de alface.....	26
4.2. “Swabs” das mãos e utensílios, água e ambiente.....	28
4.3. Alface.....	29
4.4. Identificação bioquímica.....	36
5 CONCLUSÕES.....	37
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	38

Resumo

Com a finalidade de determinar os pontos críticos de contaminação (PCCs) em uma cozinha de um hospital, determinou-se a contagem padrão de bactérias mesófilas e enterobactérias. Para este fim, foram coletadas amostras de alface (*Lactuca sativa L.*) em diferentes etapas de processamento, no período de agosto a novembro de 1999 em Uberlândia - MG. As amostras foram submetidas a processos de desinfecção com Sumaveg® a 3% de cloro ativo e hipoclorito de sódio a 2% de cloro ativo. Realizou-se análise microbiológica de swabs das mãos dos manipuladores e dos utensílios utilizados, bem como, a água da torneira usada para enxágüe da alface dentro da cozinha e da água e solo utilizado para irrigação e plantio da alface a fim de correlacionar as contagens obtidas com os resultados das análises dos pontos críticos de controle. A contaminação inicial considerada elevada foi reduzida em algumas etapas do preparo da alface, permanecendo com uma alta contagem no final do preparo. Comparando-se os dois desinfetantes utilizados, constatou-se uma melhor eficiência do produto Sumaveg® ($p > 0.05$) que atuou tanto em bactérias mesófilas quanto em enterobactérias. Já o hipoclorito atuou com melhores resultados nas enterobactérias, aumentando não significativamente o número de bactérias mesófilas. Foram realizadas análises estatísticas afim de obter correlações entre as mãos, utensílios, água e solo, com as contagens efetuadas nas etapas do preparo da alface. As correlações foram não significativas ($p > 0.05$).

Atualmente os consumidores estão cada vez mais exigentes quanto à qualidade dos alimentos, fazendo com que as indústrias adotem métodos mais eficientes e seguros para melhorar os produtos por elas fabricados.

Alimentos podem ser contaminados por microrganismos saprófitas ou patogênicos durante sua produção, manipulação ou processamento. Esses microrganismos são responsáveis por mudanças físicas e químicas nos alimentos podendo causar a deterioração e/ou toxinfecção no homem. Normalmente nestes casos, a qualidade da matéria prima, higienização no processamento e manipulação ou beneficiamento utilizados são precários, precisando de especialistas ligados à área e técnicas para prevenção da contaminação e preservação do alimento (PELCZAR, 1996).

Segundo ANDRADE (1996) a maior consequência da má higienização é a possível ocorrência de doenças de origem alimentar. Cerca de 200 doenças podem ser veiculadas pelos alimentos e as bactérias representam o grupo de maior importância, sendo responsáveis pela ocorrência de cerca de 70% dos surtos e 90% dos casos.

Dentre as doenças transmissíveis por alimentos destacam as de origem microbiológica ou parasitária, as quais são causadas por agentes de origem endógena (os agentes já se encontram nos alimentos antes de sua obtenção) e agentes de origem exógena (os alimentos são contaminados durante sua manipulação). A primeira categoria ocorre principalmente, em alimentos de origem animal, que podem estar contaminados por agentes causadores de zoonoses como a tuberculose, a brucelose e o complexo teníase/cisticercose. A segunda categoria inclui os agentes patogênicos para o homem, causadores de infecções e intoxicações alimentares. As principais doenças de origem microbiana, transmitidas por alimentos possuem como características comuns um curto período de incubação e um quadro clínico gastro-intestinal manifestado por diarreia, náuseas, vômito e dor abdominal, acompanhado ou não de febre. Normalmente, possuem curta duração, havendo recuperação total dos pacientes. Todavia em indivíduos muito jovens ou velhos e debilitados, estas doenças podem originar complicações graves conduzindo até mesmo à morte (MOSSEL & MORENO GARCIA, 1982).

A maioria dos casos de doenças microbiana transmitidas por alimentos deve-se à manipulação inadequada. Dentre as causas mais comuns encontram-se a má utilização da temperatura no preparo e conservação dos alimentos, a contaminação cruzada, a higiene pessoal deficiente, a preparação dos alimentos com muita antecedência ao seu consumo, a limpeza inadequada de equipamentos e utensílios e o contato de manipuladores infectados com alimentos já preparados (FELIX, 1990).

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS) o termo “manipuladores”, sentido mais amplo, corresponde a todas as pessoas que

podem entrar em contato com um produto comestível, em qualquer etapa da cadeia alimentar, desde a sua fonte até o consumidor.

As condições que favorecem o aparecimento de surtos de intoxicação de origem alimentar são: refrigeração inadequada, preparo de alimentos com muita antecedência; higiene pessoal precária, cocção ou aquecimento inadequado e uso prolongado de pratos aquecidos para servir os alimentos, pois permitem a multiplicação de muitos microrganismos (ELEMENTOS...., 1999).

A microflora dos vegetais é muito variável, dependendo do tipo, fatores ambientais, sazonalidade, entre outros. É constituída por microrganismos oriundos do solo, da água, dos insetos e dos animais. No processamento, durante a colheita dos vegetais crus, as principais fontes microbianas são mãos dos manipuladores, solo e água contaminados, equipamentos e os meios de transporte. Na lavagem dos vegetais, a água clorada pode remover até cerca de 90% da flora microbiana, o restante permanece preso no exsudado mucilaginoso dos vegetais e na distribuição e comercialização, os vegetais sofrem manipulações adicionais, podendo ser feitas em condições higiênicas e refrigeração adequadas ou não (ELEMENTOS..., 1999).

Visando obter alimentos seguros para o consumo, diferentes procedimentos vem sendo adotados pelas indústrias e cozinhas industriais, entre eles, o controle do processo de fabricação, a detecção de pontos críticos e ações corretivas logo após a identificação do perigo. Para obtenção de alimentos seguros, desenvolveu-se o sistema APPCC baseado em conceitos preventivos. Este sistema estabelece o controle em todas as etapas de preparação do alimento, garantindo uma qualidade maior dos produtos finais obtidos, satisfazendo assim, o consumidor e a saúde pública. Segundo ALMEIDA (1998)

para se conseguir a inocuidade dos alimentos é necessário monitorar aspectos que vão desde a fazenda, onde são produzidos os animais, o leite, os grãos e os demais vegetais, sua manipulação, beneficiamento e estocagem até chegar à mesa do consumidor.

Para obtenção de produtos com maior segurança microbiológica, deve-se controlar não somente a preparação do alimento, mas também é de suma importância averiguar as instalações e construções de prédios, que podem ser promotores de contaminação cruzada ou direta. Deste modo, é mais fácil e segura a manutenção da inocuidade do alimento. O projeto higiênico em termos microbiológicos, inclui prevenção de contaminação do produto e limites para desenvolvimento e disseminação de microrganismos no ambiente (APPCC..., 1997).

Devido a importância da inocuidade dos alimentos preparados para consumo em hospitais, o presente trabalho possui como objetivos:

- detectar os pontos críticos de controle e contaminação por bactérias mesófilas e enterobactérias na alface;
- caracterizar a importância dos diferentes processos adotados para limpeza, manipulação e armazenamento no aumento ou diminuição da contaminação;
- verificar a eficiência de dois agentes clorados (hipoclorito 2% e Sumaveg® 3%) empregados na sua desinfecção.

2.1.2. Enterobactérias

2.1.2.1. Enterobactérias

As enterobactérias são bactérias presentes no intestino humano e animal. As estudadas serão as da família Enterobacteriaceae que são bactérias Gram-negativas, mesófilas, não esporuladas, anaeróbias facultativas, fermentam uma grande variedade de carboidratos e são oxidase negativo. Existem vários gêneros como: *Escherichia*, *Shigella*, *Salmonella*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia* e *Proteus*. São aeróbias ou anaeróbias facultativas, fermentam uma grande variedade de carboidratos e são oxidase negativo (FRANCO, 1996).

Em alimentos, devido a grande diversidade de microrganismos presentes, geralmente são pesquisados grupos de microrganismos indicadores de contaminação, entre eles, o grupo coliforme de origem ambiental ou fecal. O grupo coliforme é caracterizado por bacilos Gram negativos, fermentadores da lactose com produção de ácido e gás. Dentre seus principais representantes encontram-se o *Enterobacter aerogenes* e *Escherichia coli* (FRANCO, 1996).

O meio de cultura Ágar Levine Eosina Azul de Metileno (EMB) é utilizado para isolamento, detecção e diferenciação de bacilos entéricos, inclusive coliformes. A composição deste ágar permite a inibição de todos os germes

Gram-positivos, permitindo o isolamento de bactérias Gram-negativas, principalmente as enterobactérias (LEVINE, 1943)

As bactérias mesófilas possuem temperatura ótima de multiplicação entre 25°C e 40°C, mínima entre 5°C e 25°C, e máxima entre 40°C e 50°C. Correspondem à grande maioria daquelas de importância em alimentos, inclusive a maior parte dos patógenos de interesse. A contagem desses microrganismos é comumente empregada para indicar a qualidade sanitária dos alimentos (FRANCO, 1996).

A alface é originária da Índia. Apresenta relativo valor nutricional e grandes qualidades medicinais (antianêmicas, depurativa, calmante, hipnótica, mineralizante e reguladora da motilidade intestinal). É uma excelente fonte de vitamina A, vitamina E, vitamina do complexo B, vitamina C e sais de cálcio e ferro. Por ser consumida crua, suas propriedades nutritivas são conservadas, além de fornecer intactas fibras ricas em celulose favorecendo o funcionamento do intestino. Possui um agradável paladar, com valor energético pequeno, avaliado em 17,5 calorias por 100g de alface (ROTMAN, 1984).

A *Lactuca sativa* L. é cultivada em todas as regiões temperadas e tropicais. A planta cresce rente ao chão, onde é facilmente alcançada por insetos, caracóis, lesmas e outros pequenos animais. É consumida crua, podendo ser misturada em saladas com ovos cozidos, batatas e outros ingredientes que são excelentes substratos para multiplicação de muitos germes patógenos. O alface apresenta

muitos perigos potenciais incluindo bactérias entéricas, parasitos e vírus introduzidos a partir do solo, fertilizantes, água de irrigação, excrementos animais e de aves, poeira, insetos, ceifeiros e manipuladores (APPCC..., 1997).

BRYAN apud SAMAYOA CAMPOS (1988), sugeriram que a contaminação de hortaliças com diferentes microrganismos se dá em qualquer etapa, desde o crescimento, passando pelo corte, manuseio e transporte, até o armazenamento.

NASCIMENTO e MARQUES (1998) constataram que saladas cruas provenientes de seis restaurantes *self-service* da cidade de São Luiz - MA estavam em condições sanitárias insatisfatórias. O elevado número de coliformes fecais encontrados foi diretamente correlacionado com a higiene dos manipuladores, do ambiente, do transporte e da qualidade da água para lavagem das hortaliças.

Com o objetivo de conhecer e avaliar os perigos de contaminação das saladas cruas e cozidas servidas em nove restaurantes industriais localizados na cidade de Belo Horizonte, SIQUEIRA et al. (1997) realizaram uma pesquisa, buscando controlar mensalmente cada tipo de salada. Os resultados mostraram que 44% das saladas cruas dos restaurantes apresentavam condições higiênicas insatisfatórias, devido à presença de coliformes fecais, sendo que 7% ofereciam produtos potencialmente capazes de causar toxinfecção alimentar. O produto que apresentou a maior índice de contaminação foi a alface seguida do agrião.

Para determinação de contaminantes microbianos, GELLI et al. (1979), realizaram uma pesquisa em 125 amostras de 4 qualidades diferentes de hortaliças procedentes de 18 localidades de São Paulo, expostas à venda no comércio da capital. Os autores constataram que das 41 amostras de alface

analisadas, 22 foram positivas (53,64%) para *Escherichia coli* e todas ausentes para *Salmonella*. Quando compararam os resultados obtidos para a alface, quanto a presença de *E. coli*, foi observado que comparativamente, o agrião apresentou maior índice de contaminação.

3.2.2.2. Higienização e Sanificação

A higienização ou sanificação na indústria de alimentos visa basicamente a preservação da qualidade microbiológica dos alimentos, alterando o menos possível a palatabilidade e a pureza. Visa portanto, manter o valor nutricional, qualidade sensorial e uma boa condição higiênico sanitária não oferecendo riscos à saúde do consumidor (ANDRADE, 1996).

Após o processamento dos alimentos, os equipamentos, utensílios, pisos, paredes, e ambientes de maneira geral terão que ser submetidos à higienização (sanificação) que é dividida em duas etapas: limpeza e desinfecção. A limpeza inclui lavagem com água, aplicação de detergente e enxágüe dos resíduos, tendo como objetivo básico a remoção dos resíduos orgânicos e minerais das superfícies, diminuindo a carga microbiana por meio da ação mecânica da água e pela possível ação germicida dos detergentes ou do enxágüe quando feitos com água quente, entretanto, o número de microrganismos pode ainda continuar elevado. A desinfecção tem como objetivo eliminar os microrganismos patogênicos e reduzir até níveis seguros os microrganismos alteradores das superfícies de equipamentos e utensílios que entram em contato com o alimento (ANDRADE, 1996).

Os desinfetantes podem ser físicos como o calor, nas formas de ar e água quentes, vapor, radiações ou químicos utilizando compostos clorados, iodados, entre outros (ANDRADE, 1996).

Para a desinfecção química, encontram-se disponíveis um grande número de marcas comerciais de compostos à base de cloro, iodo, amônia quaternária, ácido peracético, peróxido de hidrogênio, clorexidina, derivados fenólicos, extrato de semente de "grape-fruit", entre outros. Estes agentes químicos se caracterizam por apresentarem níveis de eficiências variáveis em virtude das diferentes formulações, valores de pH, tipos de embalagem, condições de armazenamento e resíduos contaminantes. Os compostos clorados, por exemplo, particularmente os inorgânicos (hipoclorito sódio, hipoclorito de cálcio, hipoclorito de lítio, cloro gasoso e dióxido de cloro), devem ser mantidos em frascos escuros bem fechados evitando o contato com a luz, em locais bem ventilados e de temperaturas não elevadas. Caracterizam-se, também, por serem eficientes contra formas vegetativas de bactérias. Devido a alta resistência dos esporos, há a necessidade de aumento da concentração, do tempo e temperatura de contato, ajustamento do pH destes desinfetantes, entre outros fatores (ANDRADE, 1996).

Os fatores que influenciam na eficácia dos desinfetantes incluem a sua concentração, tempo de contato, temperatura, pH, dureza da água, detergentes residuais, quantidade e espécie de material orgânico, tipo de superfície, e espécie e níveis dos microrganismos a serem inativados (ICMSF, 1980). O pH é de extrema importância, portanto, os compostos clorados são mais efetivos em valores de pH baixo, quando a presença de ácido hipocloroso é dominante (ANDRADE, 1996).

Quando quaisquer produtos clorados estão em solução aquosa, libera-se o ácido hipocloroso, em sua forma não dissociada, que apresenta ação germicida. Um dos mecanismos de ação proposto em 1950, sugere que o ácido hipocloroso penetra através da membrana celular e elimina a célula microbiana por meio da inibição da via glicolítica. Neste caso, o cloro oxidaria os grupos sulfidrílicos de certas enzimas importantes no metabolismo de carboidratos. A aldose foi considerada o principal sítio de ação no processo inibitório do cloro (ANDRADE, 1996).

As soluções cloradas podem ser usados para melhorar a qualidade da água utilizada na limpeza de pisos, paredes, utensílios e equipamentos. Uma outra aplicação dessas soluções é na redução microbiana das superfícies de vários alimentos, como por exemplo, na superfície de camarão, de frango, de carnes, de alface, de pepino e de ovos. É de suma importância ressaltar que as reduções do número de bactérias nas superfícies de alface foram relativamente baixas após o contato com concentrações de 50, 100 e 200 mg/l de cloro disponível livre nos tempos de 1, 2, 3, 5, 10, 20 e 30 minutos (ANDRADE, 1996).

As principais vantagens e desvantagens de se usar compostos clorados na sanitização dos alimentos são:

Vantagens: Possuem rápida ação desinfetante, baixa toxicidade, efetivos contra uma variedade de microrganismos, inclusive esporos e bacteriófagos, baixo custo, fáceis de preparar e aplicar em equipamentos (ANDRADE, 1996 e KUAYE, 1999). São efetivos em baixas concentrações, concentrações facilmente determinadas, podem ser usados no tratamento de água e concentrações de 50 mg/l, geralmente são aprovados no teste de suspensão, os equipamentos e alimentos não

necessitam ser enxaguados após a sanificação, possuem pouca influência da dureza da água (KUAYE, 1999).

Desvantagens: São sensíveis à presença de matéria orgânica, ação sanitante afetada por sais de cobre, ferro, níquel e cromo presentes na água, corrosivo em altas concentrações, baixa estabilidade na estocagem requerendo constante controle do teor de cloro ativo na utilização (ANDRADE, 1996). Podem atacar borrachas em concentrações elevadas provocando alterações no odor sabor e cor, assim como alterações na pele, sua atividade diminui com o aumento do pH e é incompatível com qualquer tipo de tensoativo (KUAYE, 1999).

Dentre as soluções cloradas, o hipoclorito de sódio (NaClO) comercializados sob a forma líquida em teor de 1 a 10% de cloro residual total (CRT) é o mais usado (ANDRADE, 1996 e KUAYE, 1999). Perde sua eficiência durante o armazenamento, exposição à luz, calor, contato com metais (cobre, níquel e ferro) e presença de matéria orgânica. A estocagem das soluções de NaOCl deve ser feita em recipientes de PVC rígido ou polietileno (KUAYE, 1999).

ANDRADE et al. (1985) avaliou a ação bactericida de soluções desinfetantes contendo 100, 200, 300, 400 e 500 ppm de cloro ativo corrigidas com ácido nítrico a 1% para pH 6, 7 e 8 além do pH sem correção, em células vegetativas de *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *B. cereus* e esporos de *B. subtilis*. Os autores verificaram que para as suspensões de células vegetativas de *E. coli* e *S. aureus*, as concentrações de hipoclorito de sódio comercial apresentaram excelente ação bactericida nas cinco concentrações e nos quatro pH's analisados (após dois minutos houve uma redução acima de 99,999%, não havendo crescimento na menor diluição efetuada).

As pessoas que mantêm contato com a matéria-prima, alimentos em processo e alimentos já processados, equipamentos e utensílios devem ter muita atenção às boas práticas de higiene pessoal e comportamento no trabalho para evitar a contaminação química, física e microbiológicas dos alimentos. (ELEMENTOS....., 1999)

A intoxicação alimentar pode-se causar por manipuladores que não possuem hábitos de higiene. Os germes que levam à intoxicação alimentar estão presentes no homem, independentemente do cuidado que dediquem à higiene pessoal. (HAZELWOOD & MCLEAN, 1994).

O processamento de alimentos feito de forma incorreta, poderá ocasionar a sobrevivência e a multiplicação de microrganismos patogênicos e deteriorantes. Dados epidemiológicos comprovaram que em 5% dos surtos, relatados na Inglaterra e no país de Gales, 10% em Nova Gales do Sul, Austrália, e 20% nos Estados Unidos, foram os manipuladores que diretamente contaminaram o alimento (ROBERTS, 1982; DAVEY, 1985; BRYAN, 1978).

Para se obter um produto de maior qualidade, os manipuladores devem seguir as seguintes normas de higiene no preparo do alimento.

As mãos devem se apresentar sempre limpas durante o período de trabalho lavando-as com maior frequência possível. As unhas devem ser mantidas sempre curtas não permitindo o uso de unhas postiças, e o esmalte não

deve ser usado por pessoas que manipulam produtos alimentícios. O manipulador deve evitar levar as mãos à boca quando estiver preparando qualquer tipo de alimento, passar-las pelo cabelo, coçar a orelha, nariz ou qualquer parte do corpo e manusear dinheiro durante a manipulação (HZELWOOD & MCLEAN, 1994 E KUAYE, 1999)

MARTINS e SOARES (1993), constataram que solução alcoólica e solução PVP-I (provine – solução depolivinilpirrolidona – iodo – 10% de iodo ativo) foram mais eficientes na desinfecção das mãos, ou seja, houve uma redução significativa da carga microbiana após o uso de tais soluções. O álcool obteve 99,4% e o PVP-I 98,7% de redução.

Cortes, machucados, feridas, respões, etc.

Todos os ferimentos devem ser cobertos com algum tipo de proteção à prova d'água, de cor viva reduzindo a possibilidade de contaminação (HZELWOOD & MCLEAN). Segundo KUAYE (1999) qualquer sintoma ou suspeita de doença do funcionário deve ser afastado para outras atividades até que fique curado.

Cabelos

O manipulador deve lavar os cabelos regularmente, já que o couro cabeludo em geral contém bactérias prejudiciais à saúde. Todos os manipuladores de alimentos devem usar proteção adequada na cabeça, de maneira a cobrir completamente o cabelo. Os cabelos não devem ser penteados enquanto o manipulador estiver usando a roupa de trabalho (KUAYE, 1999).

O estafilococo é encontrado no nariz e na boca e é responsável por uma grande parte dos casos de intoxicação alimentar, são disseminados com muita facilidade quando se espirra, tosse ou mesmo quando se assobia nas áreas de manipulação de produtos alimentícios. Os manipuladores não devem trabalhar com alimentos quando estiverem resfriados, devem evitar comer doces e mascar gomas durante o trabalho e usar os dedos para provar alimentos. Qualquer manipulador que tenha corrimentos na orelha, no nariz ou nos olhos pode contaminar os produtos que manipula (HZELWOOD & MCLEAN, 1994 e KUAYE, 1999). Quando tossir ou espirrar, o manipulador deve afastar-se do produto e cobrir a boca e o nariz com lenço de papel ou tecido e depois lavar as mãos (KUAYE, 1999).

Enquanto o manipulador fuma, toca na boca, e as bactérias prejudiciais à saúde, como o estafilococos, podem ser passados aos alimentos. As pontas de cigarro, que são contaminadas pela saliva, se depositadas sobre a superfície de trabalho podem permitir a contaminação cruzada (HZELWOOD & MCLEAN, 1994 e KUAYE, 1999).

Perfumes usados por manipuladores de produtos alimentícios podem causar alterações nos alimentos. As jóias são possíveis armadilhas de sujeiras,

onde as partículas de alimentos e a poeira podem se acumular e disseminar bactérias prejudiciais à saúde (HZELWOOD & MCLEAN, 1994).

Os funcionários devem usar uniformes adequados e mantidos limpos, devem ser lavados e trocados freqüentemente. Devem ser de cores claras, sem bolsos externos e de preferência com prendedores do tipo “não abotoável”. O uso de avental plástico é recomendado em processos onde os uniformes sujam rapidamente. Não é permitido carregar no uniforme, canetas, lápis, ferramentas, pinças, etc., para evitar que caiam no alimento (HZELWOOD & MCLEAN, 1994 e KUAYE, 1999).

O sistema APPCC tem sua origem nos anos 60 quando a NASA (Administração Espacial e da Aeronáutica) estabeleceu como prioridade a segurança da saúde dos astronautas, no sentido de eliminar a possibilidade de toxinfecções alimentares durante a sua permanência no espaço (feitos pela companhia Pillsbury). O mais importante elemento deste sistema é a sua natureza preventiva e o controle do processo de fabricação nos seus pontos críticos (qualquer ponto, etapa ou procedimento no qual o controle pode ser aplicado para garantir a segurança do produto). Neste sentido, problemas que poderiam causar impacto na segurança dos alimentos, podem ser prontamente detectados e corrigidos antes do produto estar completamente processado e embalado (ELEMENTOS...,1999). De acordo com ALMEIDA (1998) o sistema APPCC, é um método preventivo que busca a produção de alimentos inócuos; baseando-se

na aplicação de princípios técnicos e científicos na produção e manipulação desde o campo até a mesa do consumidor.

Os perigos do sistema APPCC podem ser classificados em: a) Biológicos (moscas, insetos e microrganismos causadores de infecções e intoxicações); b) Químicos (pesticidas, hormônios, antibióticos, aditivos, etc.); c) Físicos (vidros, metais ou objetos que podem causar um choque no consumidor e serem antiestéticos e desagradáveis) (ELEMENTOS..., 1999). Segundo ALMEIDA (1998), os perigos biológicos são os mais sérios, do ponto de vista da saúde pública, sendo necessário destaca-lo, uma vez que um pedaço de metal (perigo físico) em alimento pode provocar uma lesão bucal em um consumidor, enquanto que a contaminação de um lote de leite pasteurizado pode afetar centenas ou milhares de consumidores.

Os princípios do APPCC foi profunda e detalhadamente estudados pela indústria e agências governamentais. Este sistema é constituído por 07 princípios que consistem em: 1) Efetuar uma análise de perigos e identificar as medidas preventivas; 2) Identificar os pontos críticos de controle (PCCs); 3) Estabelecer limites críticos para as medidas preventivas associadas com cada PCC; 4) Estabelecer os requisitos de controle (monitoramento) do PCC. Estabelecer procedimentos para utilização dos resultados do monitoramento para ajustar o processo e manter o controle; 5) Estabelecer ações corretivas para o caso de desvio dos limites críticos; 6) Estabelecer um sistema para registro de todos os controles; 7) Estabelecer procedimentos de verificação para verificar se o sistema está funcionando adequadamente (ALMEIDA, 1998).

Para determinar pontos críticos de contaminação por enterobactérias e número total de bactérias mesófilas, foram coletadas amostras de alfaces desde a entrada até o momento de consumo em uma cozinha industrial de um hospital da cidade de Uberlândia. Uma das etapas da coleta objetivou avaliar a eficiência de dois diferentes sanitizantes clorados (200 ppm) com tempo de contato na redução do microrganismo. Foram utilizados para o preparo da solução o Hipoclorito de sódio (2% de cloro ativo) e o Sumaveg® (3% de cloro ativo) em concentrações diferentes. Além da alface foram realizados swabs de superfícies e mãos de manipuladores.

O tratamento com os desinfetantes Hipoclorito e Sumaveg® (Dicloro S. Triazinatriona Sódica Dihidratada) teve o seguinte procedimento: após a lavagem prévia da alface para retirada de resíduos orgânicos e minerais, a alface foi dividida e colocada nas cubas de água (80 litros) contendo 60 litros de água e 300 g de desinfetante. Em uma das cubas foi adicionado o Hipoclorito e na outra o Sumaveg®, de forma a obter uma concentração final de 200ppm. A alface permaneceu nessas soluções por aproximadamente 10 min.

Para coleta das amostras de alface foram utilizados sacos plásticos devidamente esterilizados e as amostras imediatamente transportadas ao Laboratório de Tecnologia e Inspeção de Produtos do Departamento de Produção Animal da Universidade Federal de Uberlândia onde foram analisadas. O esquema de condução do processamento da alface pode ser observado na figura 01.

Os swabs de superfícies planas foram realizados através de um delimitador estéril de 100 cm², para a coleta nos demais utensílios, a coleta foi realizada em toda a extensão que mantinha contato com o alimento, a coleta da mão foi sempre realizada na superfície palmar, entre os dedos e debaixo das unhas.

Foram realizadas análises microbiológicas da água utilizada na cozinha industrial, bem como, aquela usada na irrigação da alface. O solo utilizado para o cultivo da alface, foi coletado e analisado microbiologicamente.

3.1. Coleta das amostras

3.1.1. Alface

Foram coletadas amostras de alface em sete etapas que poderiam se constituir em pontos críticos de controle. As amostras foram acondicionadas, com utilização de luvas, em sacos plásticos devidamente esterilizados, e posteriormente, levadas ao Laboratório de Microbiologia para análises de contagem padrão de mesófilos e enterobactérias.

3.1.2. Mãos

Com o auxílio de Swab estéril, foram coletadas amostras da superfície das mãos dos manipuladores. Posteriormente, os instrumentos utilizados para coleta foram mergulhados em frascos contendo água peptonada 0,1%. Para análise foi efetuada a contagem padrão de mesófilos e enterobactérias.

3.1.3. Superfícies e Utensílios

Amostras dos utensílios e superfícies foram coletadas com swabs estéreis para os fins citados no item 3.1.2.

3.1.4. Água

A água da torneira, utilizada para enxágüe da alface, mãos, utensílios e superfície, bem como, a água utilizada na irrigação da alface, foram coletadas em recipientes estéreis. No frasco utilizado para a coleta de água clorada, adicionou-se tiosulfato de sódio (0,1 mL de solução a 15% por frasco de 250 mL) para destruição do cloro residual.. A torneira foi limpa em sua parte externa com álcool a 70%, flambada e aberta por 3-5 minutos para que a água que estava parada no cano escoasse. As amostras foram acondicionadas em caixa térmica com gelo e levadas ao Laboratório de Tecnologia e Inspeção de Produtos de Origem Animal, onde foram analisadas microbiologicamente, utilizando-se técnicas como a do número mais provável de coliformes fecais e coliformes totais, contagem de bactérias mesófilas e enterobactérias, de acordo com metodologia proposta por LANARA (1981).

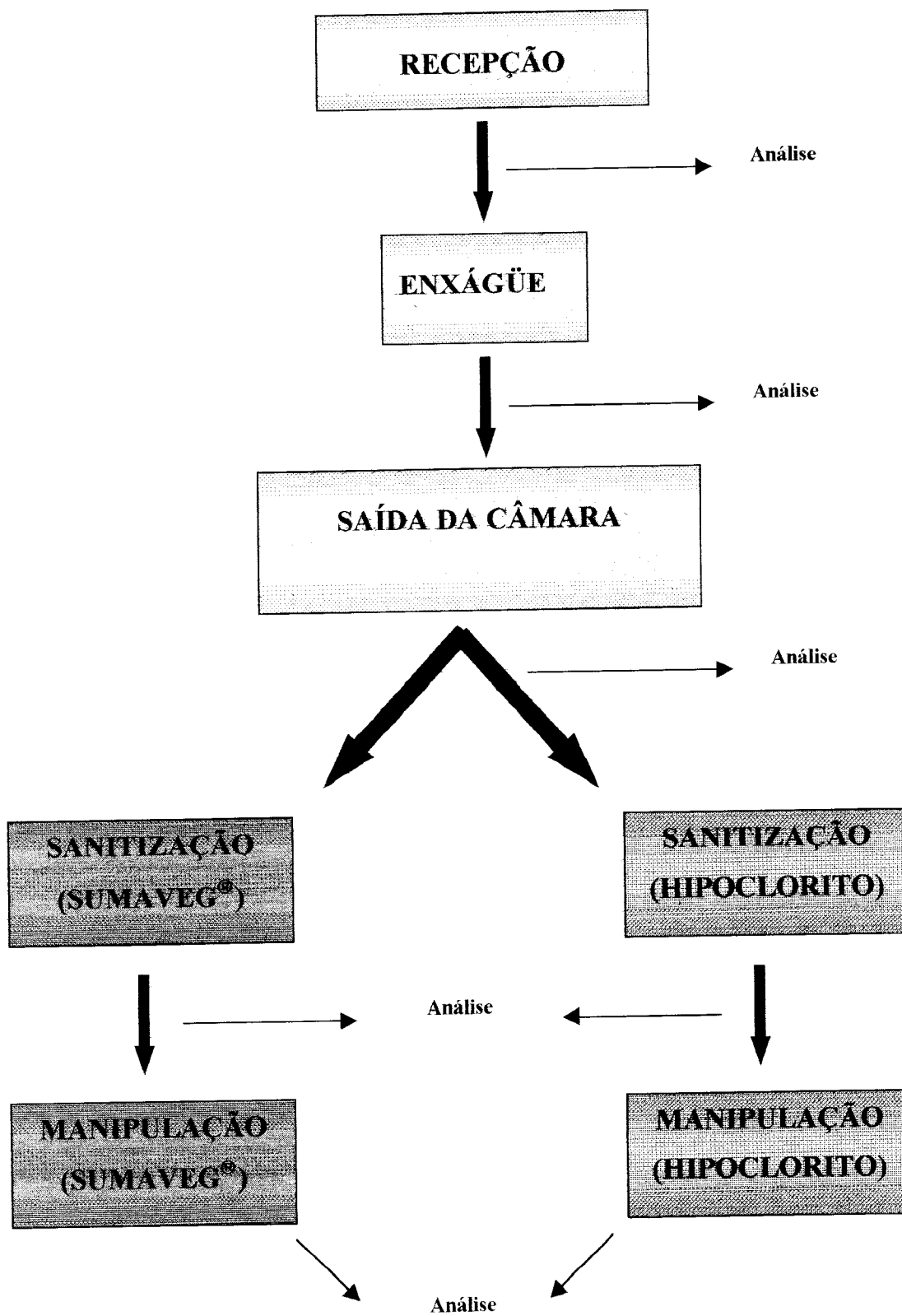


Figura 1. Esquema de condução do Experimento

3.1.5. Solo

O solo utilizado para o cultivo da alface também foi analisado microbiologicamente. A coleta foi realizada em saco plástico estéril e posteriormente realizou-se a contagem de bactérias mesófilas e enterobactérias, segundo LANARA (1981).

3.2. Análises microbiológicas

3.2.1. Contagem de bactérias mesófilas e enterobactérias da alface

Para determinação das contagens, triturou-se 10 gramas de alface, juntamente com 90 mL de água peptonada tamponada 0,1%. Posteriormente, a mistura (10^{-1}) foi submetida à diluições seriadas, das quais inoculou-se a alíquota de 1 mL em placas de Petri estéreis, onde foram colocados 15 mL de PCA e EMB fundido e resfriado a 45°C, para contagem de bactérias mesófilas e enterobactérias, respectivamente. As placas foram incubadas em estufa à 35 °C/2dias. Feito a contagem, o número de colônias foi multiplicado pela recíproca da diluição e o resultado expresso como unidades formadoras de colônias/mL - UFC/mL (LANARA, 1981). O esquema de condução da análise microbiológica pode ser observado na figura 02.

3.2.2. Contagem de bactérias mesófilas e enterobactérias do solo

Pesou-se 10 gramas da amostra em um recipiente contendo 90 mL de água peptonada tamponada 0,1%, homogeneizando em seguida. Foi utilizada a mesma metodologia proposta por LANARA (1981) para análise microbiológica da alface. O esquema de condução pode ser visto na figura 02.

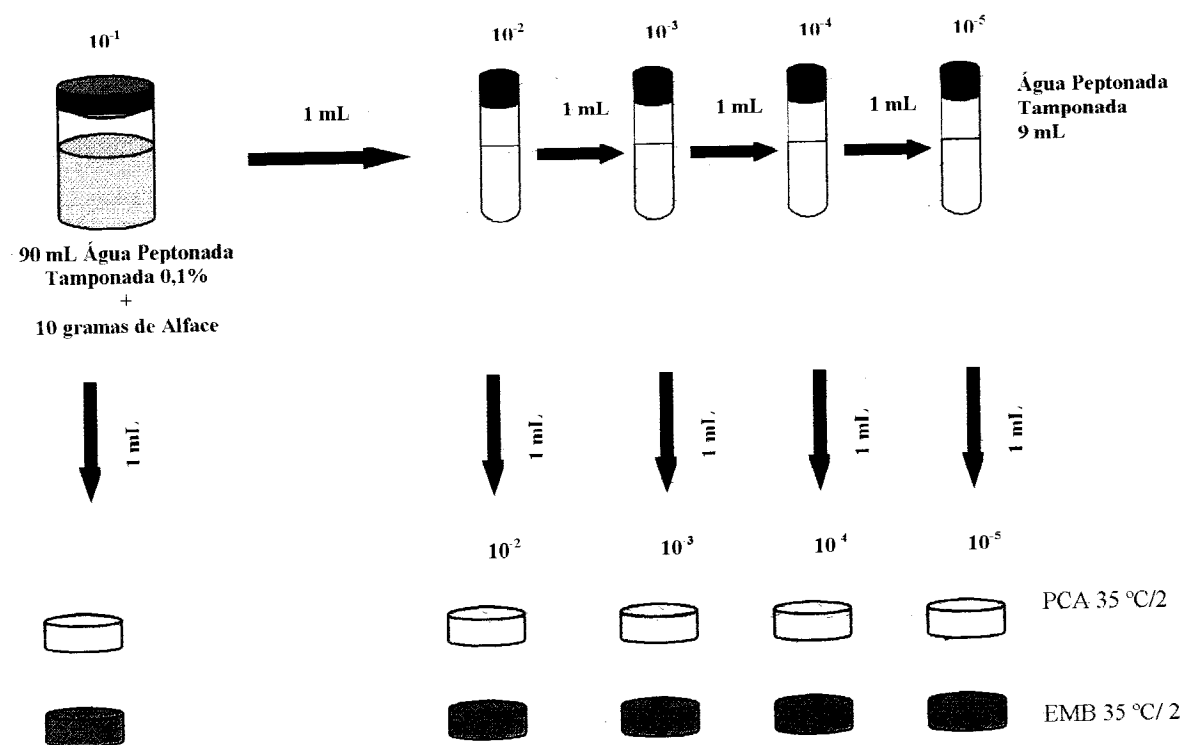


Figura 2. Condução da análise microbiológica da alface.

3.2.3. Contagem de bactérias mesófilas e enterobactérias de "swabs"

Foram realizados swabs das mãos, da faca e superfície da tábua. Para as coletas, foram preparados tubos de ensaio contendo, 9 mL de água peptonada tamponada 0,1%, onde foram acondicionados os swabs (10^{-1}). Para a coleta na superfície da tábua foi utilizado um delimitador de superfície estéril de 100cm^2 . Essas amostras foram colocadas em caixa térmica e levadas ao Laboratório de Tecnologia e Inspeção de Produtos de Origem Animal para sua posterior análise. As amostras coletadas foram submetidas à diluições seriadas, das quais inoculou-se 1 mL em placas de Petri estéreis e adicionados 15 mL de PCA e EMB fundidos e resfriados a 45°C , para contagem de bactérias mesófilas e enterobactérias, respectivamente. As placas foram incubadas em estufa à $35^\circ\text{C}/2\text{dias}$. O esquema da análise microbiológica pode ser observado na figura 03.

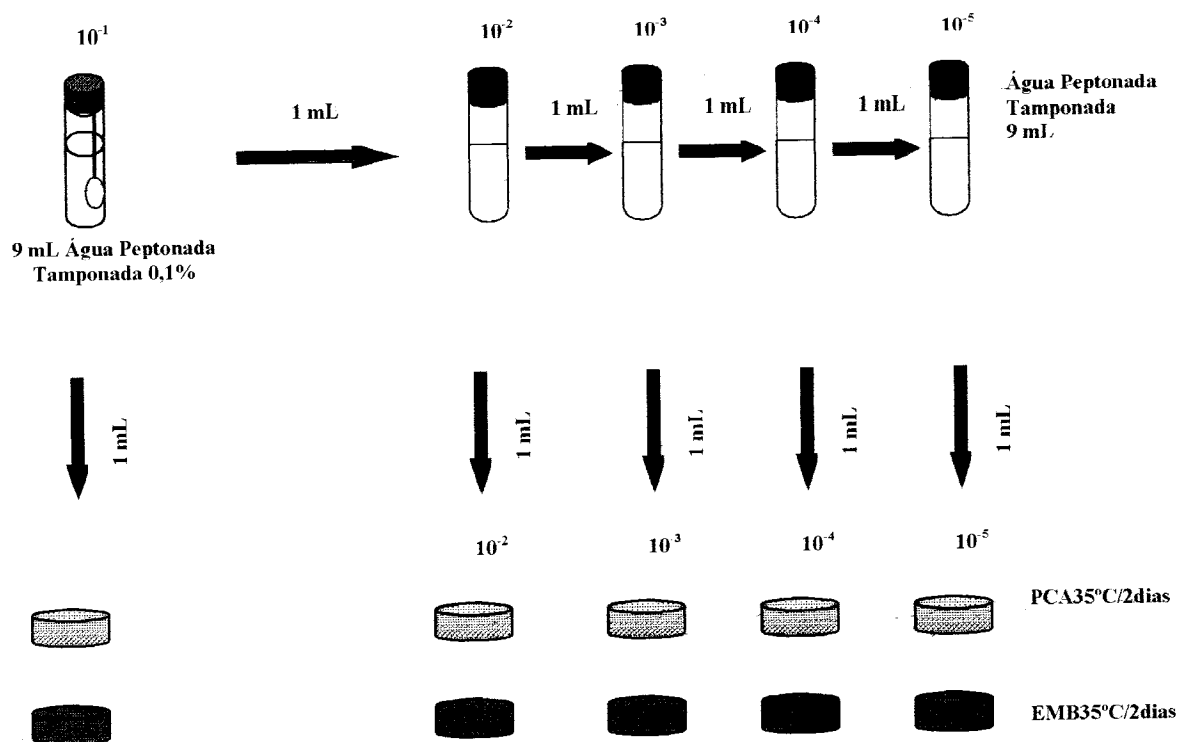
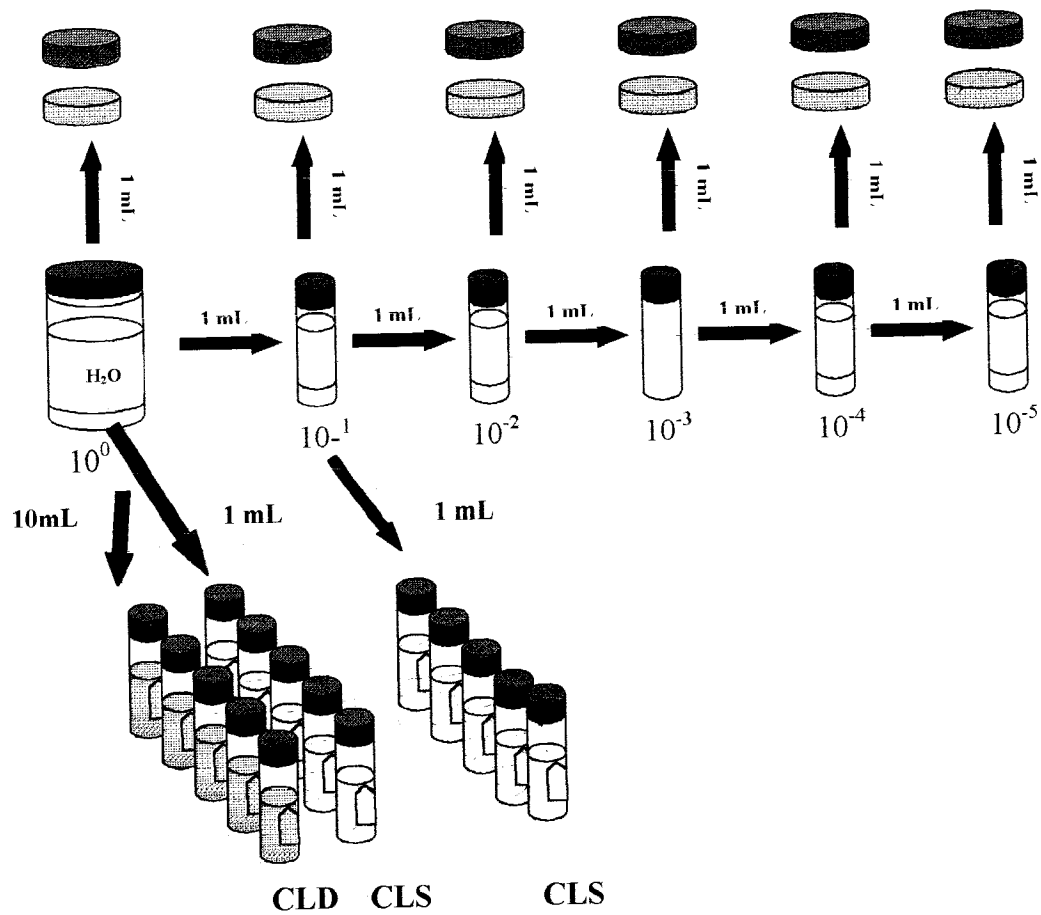


Figura 03. Condução da análise microbiológica do "swab".

3.2.4. Análise microbiológica da água



LEGENDA



Caldo Lauril Sulfato de Sódio Duplo (CLD)



Caldo Lauril Sulfato de Sódio Simples (CLS)

Figura 04. Condução da análise microbiológica da água.

Para a análise da água, da torneira da cozinha e da utilizada para irrigação da alface, foi realizado enriquecimento não seletivo em tubos de ensaio com Duhran, contendo Caldo Lauril Sulfato de Sódio (LST). Para cada amostra foram preparados 3 séries de 05 tubos de LST, sendo que uma das séries possuía LSTD (dupla concentração) e as outras duas LSTS. Na primeira série contendo LSTD foram adicionados 10 mL da diluição 10^0 , na segunda série contendo LSTS foi adicionado 1 mL da diluição 10^0 e na terceira série também contendo LSTS foi adicionado 1 mL da diluição 10^{-1} . Em seguida foram realizadas diluições seriadas (10^{-1} a 10^{-4}), as quais inoculou-se 1 mL em placas de Petri, adicionado meios de cultura PCA e EMB. Posteriormente essas placas foram acondicionadas em estufa a $35^\circ\text{C}/48$ horas (LANARA, 1981).

4. Resultados e Discussão

Foram determinados a evolução ou regressão da microbiota mesófila e de enterobactérias em alfaces em uma cozinha industrial que preparava alimentos para pacientes internados em um hospital da cidade de Uberlândia. O experimento constou de 5 repetições onde foram analisados a contagem dos microrganismos durante processamento e armazenamento, até a saída do vegetal da cozinha para as diferentes enfermarias. Além disso, foram monitorados a água e o solo onde a hortaliça foi produzida e os diferentes utensílios que entravam em contato com o alimento, assim como, “swabs” das mãos dos manipuladores, na tentativa de correlacionar estes resultados com os encontrados nas diferentes etapas.

A água das torneiras da cozinha industrial foi analisada em seu nível de potabilidade, de forma a não interferir nos resultados das análises.

4.1. Água e solo na fazenda produtora de alface

Para padronização, as amostras foram colhidas em todas as repetições de um mesmo produtor. As alfaces eram produzidas de forma tradicional, no solo e a água de irrigação era proveniente de poço artesiano e de um córrego com água represada. Metade das hortaliças eram irrigadas por uma fonte e a outra metade

pela outra, sendo que, não tivemos controle no momento da coleta de saber se a amostra era proveniente de irrigação por uma fonte ou outra.

A contagem obtidas das análises do solo foi $6,2 \times 10^6$ UFC/g para mesófilas e $5,5 \times 10^6$ UFC/g na contagem de enterobactérias em EMB. Mesmo não existindo padrões para limites máximos de microrganismos em terras de cultivo, pode-se observar pelas proximidade nas contagens, que a maioria da microbiota presentes era enterobactérias.

Os resultados da análise de potabilidade das duas fontes de água de irrigação podem ser observadas na tabela 1.

Tabela 1 – Potabilidade da água de irrigação

Análise	Poço artesiano	Córrego represado
Contagem padrão de mesófilas (UFC/100ml)	$2,0 \times 10^2$	$2,0 \times 10^3$
NMP/100ml coliformes totais *	33	1600**
NMP/100ml coliformes fecais *	26	920**
Contagem de enterobactérias (UFC/100ml)	$8,1 \times 10^1$	$4,6 \times 10^2$

* contagens em que existem padrão

** contagens acima do padrão

A regulamentação dos recursos hídricos, artigo 79, preconiza para águas doces destinadas a irrigação de hortaliças e plantas frutíferas, máximo de 200 coliformes fecais/100ml e 1000 coliformes totais/100mL. Não há padrões para contagem de mesófilas e contagem em EMB. Os resultados mostram grande superioridade na qualidade microbiológica na água proveniente de poço artesiano, o que era esperado, já que a outra fonte era de água de córrego represada.

4.2. "Swab" das mãos e utensílios, água e ambiente

Foram realizados swabs das mãos, tábua, faca e vasilha de armazenamento após o corte, de forma a observar o quanto da contaminação das alfaces poderiam ser provenientes destas fontes. Os resultados podem ser observados na tabela 2.

Tabela 2 – Contagens médias dos "swabs" provenientes das cinco coletas

	Mesófilas (UFC)	Enterobactérias (UFC)
Tábua (UFC/100cm ²)	$1,0 \times 10^5$	$6,0 \times 10^4$
Faca (UFC/faca)	$2,2 \times 10^6$	$2,3 \times 10^5$
Vasilha (UFC/vasilha)	$8,1 \times 10^5$	$6,4 \times 10^5$
Mão (UFC/mão)	$1,7 \times 10^4$	$7,4 \times 10^2$

As contagens feitas nas facas e vasilhas foram realizadas em toda a superfície com a haste do "swab, umedecidas em solução salina peptonada, nas mãos, além da superfície palmar, a haste também foi passada debaixo das unhas e entre os dedos dos manipuladores. Para a coleta das tábuas foi utilizado um delimitador estéril de 100 cm².

Não existe um padrão pré definido para análises realizadas em cozinhas industriais, porém em indústrias alimentícias é normalmente adotado no máximo 100UFC/cm², para considerar uma superfície como adequadamente limpa ou higienizada. As contagens realizadas nas tábuas foi em média $2,2 \times 10^4$, e portanto, acima dos recomendados. Para os outros utensílios e mãos, não foi possível realizar os cálculos para 1 cm² já que não foi utilizado o demarcador, porém, nos resultados obtidos observa-se contagens bastante altas.

A análise realizada na água utilizada nos diferentes procedimentos na cozinha industrial, mostrou-se adequada quanto os padrões microbiológicos vigentes. Em todas as 5 amostras coletadas, não houve crescimento em 1mL da

amostra, na contagem de bactérias mesófilas, coliformes totais e fecais foram ausentes em 100mL da amostra.

O ambiente também foi monitorado expondo placas de Petri com meio de cultura PCA, durante 15 minutos em 3 locais de manipulação ou estocagem da hortaliça (2 placas por ponto). Os resultados podem ser observados na tabela 3.

Tabela 3 – Contaminação ambiente

Local de coleta	Contagem (UFC/placa)*
Recepção	62
Câmara fria de estocagem	10
Local de manipulação da alface	49

* média de 10 placas

4.3. Alface

Para determinar o número de microrganismos presentes na alface, suas variações durante diferentes processos e sua provável redução após o uso de agentes desinfetantes, foram realizadas contagens de bactérias mesófilas e enterobactérias em diferentes pontos. Os locais de coleta foram recepção, após enxágüe, saída da câmara, após desinfecção e após manipulação, seguindo o caminho normal da hortaliça dentro da cozinha.

As contagens médias iniciais para bactérias mesófilas e enterobactérias encontradas nas alfaces coletadas na recepção foi de 1.1×10^7 e 7.7×10^6 , respectivamente. Estes microrganismos podem ser consequentes de diversos fatores, como forma de produção, água de irrigação, manipuladores, acondicionamento e transporte. O conjunto destes fatores, ou um deles em particular, se as condições forem favoráveis para a multiplicação, podem contribuir de maneira significativa para o crescimento acentuado de microrganismos.

Durante o experimento, foi observado que as alfaces eram transportadas em caixas de madeira, e posteriormente, transferidas para recipientes de polietileno, ficando expostas por alguns minutos em um local onde são recepcionados outros produtos e alimentos, até serem levadas para o local de enxágüe. Além disso, o local destinado à recepção, era muito próximo ao depósito de lixo da cozinha, fator este, que pode contribuir de forma significativa para a contaminação cruzada nesse alimento. Segundo BARUFFALDI, et al. (1984) a exposição de hortaliças às condições climáticas durante o transporte bem como o acondicionamento destas em caixas de madeira e a exposição nos carregamentos, aumentaria a flora bacteriana nas hortaliças.

A média após o enxágüe, mostrou que este procedimento diminuiu as contagens, tanto para mesófilas quanto para enterobactérias. Este resultado era esperado e confirma a literatura, já que o enxágüe possui como característica a diminuição, da microbiota, mas, mantendo ainda elevado o número de microrganismos sobreviventes, sendo que o enxague deve ser um processo obrigatório na desinfecção (ANDRADE, 1996). Foi observado porém, uma maior eficiência para ação nas bactérias mesófilas, que tiveram seu número reduzido significativamente de $1,1 \times 10^7$ para $5,0 \times 10^6$ UFC/g ($p < 0.05$). Mesmo constatando diminuição nas contagens de enterobactérias, a redução não foi significativa estatisticamente ($p > 0.05$) e demonstra a maior resistência das enterobactérias em permanecer no produto.

A passagem das hortaliças pela câmara fria por aproximadamente 24 horas a 4-5°C, também foi capaz de reduzir discretamente o número dos microrganismos analisados, provavelmente por injúria pelo frio, sendo que a redução só foi significativa para mesófilas ($p < 0.05$). As variações nas contagens de mesófilas

(PCA) e enterobactérias (EMB) desde a recepção até a saída da câmara fria podem se observadas na figura 5.

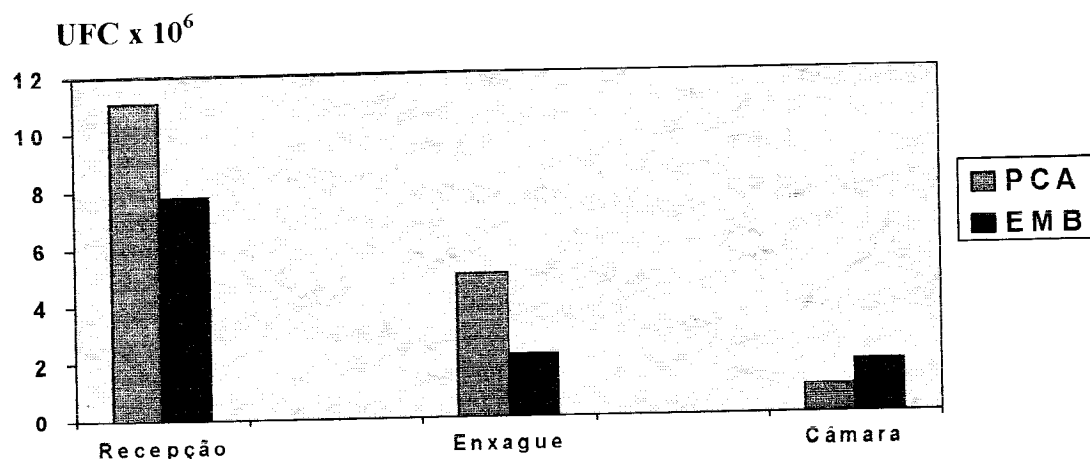


Figura 5. Variações nas contagens em PCA e EMB desde a recepção até a saída da câmara fria.

Com intuito de verificar o melhor agente desinfetante na redução do número de microrganismos da alface, após a saída da câmara, a hortaliça era dividida em dois grupos que eram tratados com uso de Sumaveg® a 3% de cloro ativo e hipoclorito de sódio a 2% de cloro ativo diluídas em solução a 200ppm. Todos os dois tratamentos foram capazes de reduzir as contagens de enterobactérias ($p > 0.05$), porém, no tratamento com hipoclorito foi observado um pequeno aumento não significativo ($p > 0.05$) na contagem média de mesófilas (de $1,0 \times 10^6$ para $6,8 \times 10^6$). No tratamento com Sumaveg® houve redução também para mesófilas, porém, não significativa ($p > 0.05$). Este aumento na contagem de mesófilas após o tratamento com hipoclorito não era esperado, provavelmente, houve influência do teor de matéria orgânica na ação do desinfetante, um aumento do pH da solução ou estavam presentes grupos de microrganismos

pelos quais o agente possuía menor atividade. Foram feitas medições do pH das soluções e foi constatado que o Sumaveg® mantinha o pH em média 6,5 enquanto que no hipoclorito as medidas foram sempre alcalinas, próximas de 9,5, o que indica um comportamento tamponante do primeiro agente quando comparado ao hipoclorito. Segundo ANDRADE (1996) o pH da solução clorada é de suma importância para uma boa eficiência do produto. O produto clorado em solução aquosa, libera ácido hipocloroso indissociado (HOCl) apresentando ação germicida, com o pH elevado o equilíbrio desvia para a forma dissociada (OCl⁻) que não é biocida. Portanto, os compostos clorados são mais efetivos em valores de pH baixo, quando a presença de ácido hipocloroso é dominante.

Um outro fator que poderia estar influenciando na eficiência do hipoclorito é a presença de matéria orgânica. Como este fator não foi controlado, não há forma de afirmar com segurança. ANDRADE (1996) cita que a matéria orgânica proveniente da má higienização das etapas anteriores à desinfecção, reage com a solução clorada inativando-a rapidamente.

Na literatura encontram-se relatos do uso de soluções cloradas em diversas superfícies de alimentos. A contagem da alface analisada, obteve uma redução relativamente baixa da carga microbiana após contato de 50, 100 e 200 mg/L de cloro disponível livre nos tempos 1, 2, 3, 5, 10, 20 e 30 minutos (ANDRADE, 1996).

Após a desinfecção, as hortaliças eram colocadas em um escorredor de alumínio, picadas em tábua e devolvidas ao escorredor até serem distribuídas em vasilhas plásticas com tampa para os diferentes setores. Todas as contagens realizadas após a manipulação foram maiores que das coletadas na saída da desinfecção, com exceção, das bactérias mesófilas tratadas com hipoclorito.

Como esta mesma contagem foi a única a não apresentar redução quando do uso deste desinfetante (hipoclorito), provavelmente, o tempo de contato não foi suficiente para uma ação efetiva, que mostrou efeito residual, agindo nos microrganismos no momento da manipulação.

As contagens nas diferentes etapas do preparo do alface, desde a recepção até o uso dos agentes desinfetantes podem ser observados na tabela 4.

O teste estatístico utilizada para verificar diferenças entre os dois agentes utilizados para desinfecção na alface foi a prova de Wilcoxon e estabelecido o nível de significância de 0.05 (SIEGEL, 1975). Os resultados mostraram que não haviam diferenças significativas entre os dois tratamentos tanto nas contagens em PCA quanto em EMB ($p > 0.05$).

Quando foram observados o número de microrganismos mesófilos que permaneceram no alface após a utilização dos dois agentes, verifica-se que os resultados, mesmo não sendo significativos, apresentaram diferenças, sendo que no tratamento com Sumaveg®, partindo-se de uma mesma contagem de $1,0 \times 10^6$, a contagem foi reduzida para $1,9 \times 10^5$ e no uso de hipoclorito a contagem aumentou para $6,8 \times 10^6$. Este aumento nas contagens quando do uso de hipoclorito foi observado em três das repetições, indicando que este agente sofreu influência de algum fator na sua ação sobre a redução da microbiota, como alteração do pH, presença de matéria orgânica ou dificuldade para ação no grupo de microrganismos presentes. O agente Sumaveg® em todas as repetições se revelou mais homogêneo em seus resultados, além disso, em nenhum momento o pH da solução aumentou de 6,5 durante a higienização, enquanto o pH da solução do hipoclorito chegou até 9,9. Durante a manipulação, após o uso de Sumaveg®, o número de microrganismos mesófilos aumentou ligeiramente

($p > 0.05$) de $1,9 \times 10^5$ para $4,9 \times 10^5$, porém, na manipulação após a utilização de hipoclorito, este número foi reduzido de $6,8 \times 10^6$ para $5,9 \times 10^5$ UFC/g ($p > 0.05$). Esta redução quando do uso de hipoclorito não era esperado, mas como na desinfecção com este agente, houve aumento no número de microrganismos, esta redução é, provavelmente, devido a uma ação retardada deste desinfetante. As variações no número de microrganismos mesófilos com a utilização de Sumaveg® e hipoclorito podem ser observadas na figura 6.

A ação dos agentes sobre as enterobactérias foi mais efetiva do que sobre as mesófilas. Mesmo não havendo diferenças significativas ($p > 0.05$), também sobre este grupo o Sumaveg® foi mais eficiente que o hipoclorito. Em uma contagem média inicial de $1,8 \times 10^6$ UFC/g, a redução foi para $6,0 \times 10^4$ e $4,0 \times 10^5$ UFC/g, respectivamente, com o uso de Sumaveg® e hipoclorito.

O número de enterobactérias aumentou na manipulação pós desinfecção da alface ($p > 0.05$), nos dois tratamentos. A contagem passou de $6,0 \times 10^4$ a $1,0 \times 10^5$ UFC/g com o uso de Sumaveg® e de $4,0 \times 10^5$ para $1,0 \times 10^6$ UFC/g com o uso de hipoclorito. Estes resultados podem ser melhor visualizados na figura 7.

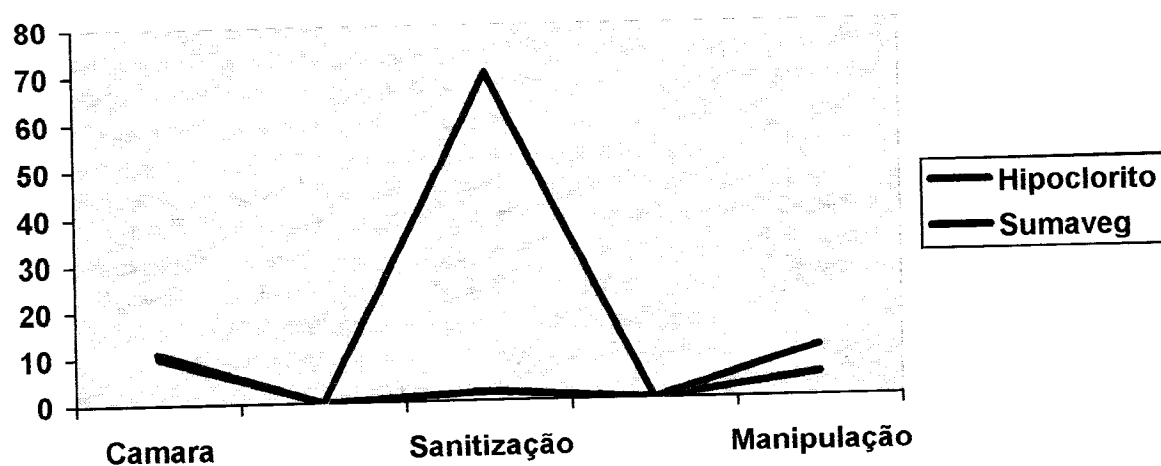
UFC x 10⁵

Figura 6 – Contagens médias de bactérias mesófilas após saída da câmara, tratamento com hipoclorito e Sumaveg® e manipulação.

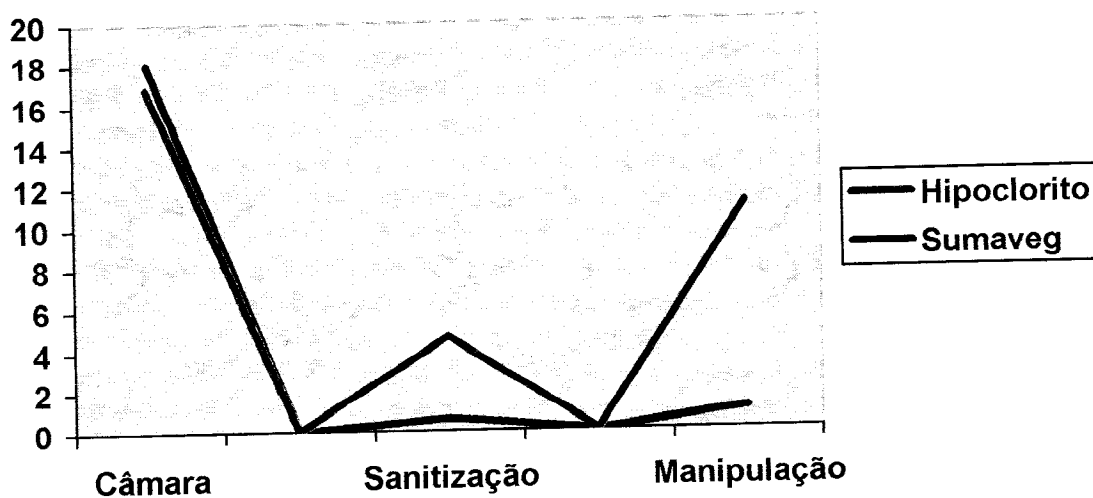
UFC x 10⁵

Figura 7 - Contagens médias de enterobactérias após saída da câmara, tratamento com hipoclorito e Sumaveg® e manipulação

Na tentativa de correlacionar fatores que poderiam estar contribuindo significativamente para o aumento nas contagens nas diferentes etapas, foi

Tabela 4 – Média* das contagens de mesófilas (PCA) e enterobactérias (EMB) durante as diferentes etapas e uso dos agentes desinfetantes.

	Recepção	Após Enxágüe	Saída da Câmara	Após sanitização	Após Manipulação		
				Sumaveg® 0	Sumaveg® 0		
				Hipoclorit	Hipoclorit		
PCA	$1,1 \times 10^7$	$5,0 \times 10^6$	$1,0 \times 10^6$	$1,9 \times 10^5$	$6,8 \times 10^6$	$4,9 \times 10^5$	$5,9 \times 10^5$
(UFC/g)							
EMB	$7,7 \times 10^6$	$2,2 \times 10^6$	$1,8 \times 10^6$	$6,0 \times 10^4$	$4,2 \times 10^5$	$1,0 \times 10^5$	$1,3 \times 10^6$
(UFC/g)							

* média de 5 coletas.

realizada a prova do coeficiente de correlação por postos de Spearman (SIEGEL, 1975). Para este teste foram utilizados os resultados obtidos dos "swabs" das mãos e utensílios com os resultados obtidos nas diferentes etapas do processamento da alface. Não houve correlação significativa ($p > 0.05$) entre os dados correlacionados, provavelmente, devido ao pequeno número de repetições (5) utilizados no presente trabalho. Entretanto, mesmo não sendo estatisticamente significativo, provavelmente a alta contagem pode ser proveniente da contaminação das mãos, utensílios, ambiente, solo e água de irrigação do córrego analisados durante o experimento. Mesmo não havendo padrões para comparação aos resultados obtidos nas análises de bactérias mesófilas e enterobactérias, por se tratarem de microrganismos indicadores, os resultados finais das contagens da alface servida aos pacientes foi bastante elevada.

4.4. Identificação bioquímica

Algumas colônias foram isoladas do agar EMB para identificação como forma de observar as espécies mais freqüentes presentes na microbiota da hortaliça. Foram escolhidas colônias características das diversas enterobactérias, conforme descrição em (LEVINE, 1943). Após realizada a identificação bioquímica, a espécie mais freqüentemente encontrada foi a *Escherichia coli* (37.5%), *Citrobacter freundii* (25%), *Serratia marcescens* (12.5%), *Enterobacter* sp. (12.5%) e *Klebsiella* sp. (12.5%).

5. Conclusões

Com base nos resultados obtidos nas condições experimentais utilizadas pode-se concluir que:

- Mesmo não havendo padrão para bactérias mesófilas e enterobactérias, as contagens foram bastante elevadas durante todo o preparo da alface, observando-se pequenas reduções em alguns pontos considerados como pontos críticos de controle (PCCs);
- Comparando-se os dois desinfetantes, constatou-se uma maior eficiência do agente Sumaveg[®], o qual possibilitou a redução tanto do número de mesófilas, quanto do número de enterobactérias, apesar de não ser estatisticamente significativo;
- As altas contagens das mãos, dos utensílios, da água de irrigação e do córrego podem ter contribuído de maneira considerável para a contaminação durante o preparo da alface, porém a correlação não foi significativa ($p > 0,05$).

ALMEIDA, C. R.. O sistema HACCP como instrumento para garantir a inoquidade dos alimentos. **Rev. Higiêne Alimentar**, v. 12, n. 53, p. 12 – 20, Janeiro/fevereiro. 1998.

ANDRADE, N. J., MARTYN, M. E.. **Higienização na Indústria de Alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, 1996, 181 p..

ANDRADE, N.J. et al.. Efeito da concentração e do pH na ação sanitizante de soluções diluídas de hipoclorito de sódio comercial. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 40, n. 240, p. 73 – 81, Julho/agosto. 1983.

APPCC na qualidade e segurança de alimentos. São Paulo: 1997. 377p..

BARUFFALDI, R., PENNA, T. C. C., MACHOSHVILI, I. A., et al.. Tratamento químico de hortaliças poluídas. **Revista saúde Pública**, São Paulo, v.18, p.225-34, 1984.

BRYAN, F. L. Factors that contribute to outbreaks of food-borne disease. **Journal of Food Protection**. 1978. 41, 816 – 827.

- BRYAN, F. L. Diseases transmitted by foods contaminated by wastewater. **J. Food Protection**, v. 40, p.45-56 apud SAMAYOA CAMPOS, M. A Implicaciones en la transmission de las enfermedades diarreicas de los productos hortícolas de hoja verde que se cosumen frescos. Guatemala: Universidad de San carlos de Guatemala. Facultad de Ciências Químicas y Farmacia, 1988. 70p. (Tese)
- DAVEY, G. R. **Food poisoning in new south wales: 1977 – 84**. Food Technology in Austrália. 1985. 37, 453 – 456.
- ELEMENTOS de Apoio para o Sistema APPCC, Brasília, SENAI. 1999. 370 p.. Qualidade de Segurança Alimentar.
- FELIX, C.W. **Foodservice disposables and public health**. Dairy, Food and Environmental Sanitation, 10 (11): 656 – 660, 1990.
- FRANCO, B. D. G. M., LANDGRAF, M.. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1996. 170 p.
- GELLI, D. S. et al.. Condições Higiênico-sanitárias de hortaliças comercializadas na cidade de São Paulo – SP. **Rev. Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 39, n. 1, p. 37 – 43. 1979.
- HZELWOOD, D., MCLEAN A. C.. **Manual de Higiene para Manipuladores de Alimentos**. São Paulo: Varela, 1994. 140 p..
- ICMSF (International Comission on Microbiological Specification for Food) 1980. Microbiological Ecology of Food. v. 2. Commodites. Academic Press, New York.
- KUAYE, Arnaldo Yoshiteru. Limpeza e sanitização. In: KUAYE, Arnaldo Yoshiteru e LEITÃO, Mauro Faber de Freitas. **Boas Práticas de Manufatura**,

Sanificação e Sistema APPCC. Campinas: UNICAMP. Faculdade de Engenharia de Alimentos, 1999. Paginação irregular. Apostila.

KUAYE, Arnaldo Yoshiteru. Boas Práticas de Manufatura. In: KUAYE, Arnaldo Yoshiteru e LEITÃO, Mauro Faber de Freitas. **Boas Práticas de Manufatura, Sanificação e Sistema APPCC.** Campinas: UNICAMP. Faculdade de Engenharia de Alimentos, 1999. Paginação irregular. Apostila.

LANARA - **Métodos Analíticos Oficiais para Controle de Produtos de Origem Animal e Seus Ingredientes:** Métodos Microbiológicos. Brasília: Ministério da Agricultura, 1981. v.1.

LEVINE, M.: J. Bacteriology, 45: 771-475, 1943.

MARTINS, S. C. S. e SOARES, J.B.. Avaliação da eficiência de antissépticos na limpeza das mãos. **B. CEPPA**, Curitiba, v. 11, n. 1, p. 63 – 70, Janeiro/junho.1993.

MOSSEL, D. A. A. MORENO GARCIA, B. **Microbiología de los alimentos.** Zaragoza, Editorial Acribia, 1982.

NASCIMENTO, Dirceu do. Análise de risco e pontos críticos de controle (APPCC) de uma planta de processamento de alimentos (restaurante universitário) em Ouro Preto – MG. **B. CEPPA**. Julho/dezembro (1992). Curitiba. v.10. n 2. p.170-185

NASCIMENTO, A. R., MARQUES, C. M. P.. Avaliação Microbiológica de Saladas “In Natura”, oferecida em restaurantes self-service de São Luís – MA. **Higiene Alimentar.** São Luís – MA. v 12. n. 57. P. 41-44, setembro/outubro. 1998

- ORGANIZACION MUNDIAL DE LA SALUD. Métodos de vigilância sanitária y de gestión para manipuladores de alimentos. Ginebra, OMS, 1989. (série de informes técnicos, 785).
- PELCZAR Jr, M. J., CHAN, E. C. S., KRIEG, N. R.. **Microbiologia: Conceitos e Aplicações**. 2 ed.. São Paulo: Makron Books, 1996. V.2, 521 p..
- ROBERT, D. Factors contributing to outbreaks of food poisoning in England and Wales, 1970 – 1979. **Journal of Hygiene, Cambridge**. 1982. 89, 491 – 498.
- ROTMAN, F.. **A cura popular pela comida: A transformação de alimentos em remédios – uma nova visão para uma época de crise**. Editora Record. Rio de Janeiro, 1984.
- SIEGEL, S. **Estatística não - paramétrica, para as ciências do comportamento**. Ed. McGraw-Hill do Brasil, São Paulo, 1975, 350 p.
- SIQUEIRA, I. M. C. et al.. **Avaliação microbiológica de saladas cruas servidas em restaurantes industriais da grande Belo Horizonte**. Rev. Higiêne Alimentar, v. 11, n. 49, p. 36 –39, maio/junho.1997.