ANA BEATRIZ TEIXEIRA FREDERICO

ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS DA HIGIENIZAÇÃO DE VEGETAIS SERVIDOS CRUSEM UM RESTAURANTE DO MUNICIPIO DO RIO DE JANEIRO

Monografia apresentada ao Instituto de Microbiologia Paulo de Góes, como pré-requisito para a obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas: Microbiologia e Imunologia.

INSTITUTO DE MICROBIOLOGIA PAULO DE GÓES
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
RIO DE JANEIRO
DEZEMBRO/2016

Trabalho realizado no Departamento de Microbiologia médica, do Instituto de Microbiologia Paulo de Góes, UFRJ, sob a orientação do Professor MarcoAntônio Lemos Miguele da professora Aline Gomes de Mello de Oliveira.

CIP - Catalogação na Publicação

F849a

Frederico, Ana Beatriz Teixeira
Aspectos microbiológicos da higienização de vegetais servidos crus em um restaurante do município do Rio de Janeiro / Ana Beatriz Teixeira Frederico. -- Rio de Janeiro, 2016.
65 f.

Orientador: Marco Antônio Lemos Miguel.
Coorientador: Aline Gomes de Mello de Oliveira.
Trabalho de conclusão de curso (graduação) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Microbiologia, Bacharel em Ciências Biológicas: Microbiologia e Imunologia, 2016.

1. microbiologia de alimentos. 2. vegetais. 3. qualidade microbiológica. 4. coliformes. 5. higiene dos alimentos. I. Miguel, Marco Antônio Lemos , orient. II. Oliveira, Aline Gomes de Mello de , coorient. III. Título.

Elaborado pelo Sistema de Geração Automática da UFRJ com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

INSTITUTO DE MICROBIOLOGIA PAULO DE GÓES / UFRJ
COORDENAÇÃO DE ENSINO DE GRADUAÇÃO

ATA DA APRESENTAÇÃO DE MONOGRAFIA PARA APROVAÇÃO NO RCS DE TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO, BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS: MICROBIOLOGIA E IMUNOLOGIA

ALUNO: **Ana Beatriz Teixeira Frederico**
DRE: 113026773

BANCA EXAMINADORA: Prof. Leandro Araújo Lobo (Presidente)
MSc. Maria Claudia Novo Leal Rodrigues
Profa. Maria Lúcia Mendes Lopes
Profa. Ana Maria Mazotto de Almeida (Suplente)

Título da Monografia: **"Aspectos microbiológicos da higienização de vegetais crus servidos em um restaurante do município do Rio de Janeiro"**

Local: **Sala D-27**, Instituto de Microbiologia Paulo de Góes /CCS/ UFRJ
Data e hora de início: 21 de dezembro de 2016 às 10:00h

Em sessão pública, após exposição de cerca de 50 minutos, o aluno foi argüido pelos membros da Banca Examinadora, demonstrando suficiência de conhecimentos e capacidade de sistematização no tema de sua Monografia, tendo, então, obtido nota 10 neste requisito do RCS de **TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO**. Na forma regulamentar, foi lavrada a presente ata que é assinada pelos membros da banca examinadora, aluno, orientador (e/ou co-orientador) e pelo coordenador do RCS.

Rio de Janeiro, 21 de dezembro de 2016.

NOTA	Banca Examinadora:
10	Prof. Leandro Araújo Lobo
10	MSc. Maria Claudia Novo Leal Rodrigues
10	Profa. Maria Lúcia Mendes Lopes
	Profa. Ana Maria Mazotto de Almeida

Aluno: Ana Beatriz Teixeira Frederico

Orientador: Prof. Marco Antônio Lemos Miguel

Coorientador: Aline Gomes de Mello de Oliveira

Coordenador de TCC: Profa. Bernadete Teixeira Ferreira Carvalho

Dedico está monografia a minha família que tanto apoiou e incentivou meu crescimento profissional.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus, que iluminou meu caminho durante esta caminhada, pela força e coragem durante esta longa jornada.

À minha família, por acreditar e investir em mim. Mãe, por todo amor e exemplo de dedicação aos estudos. Pai, por sua presença e conselhos que me guiaram até aqui. Grazielle, que em muitos momentos foi muito mais do que uma irmã, obrigada por tudo! Matheus, por toda ajuda e companhia. Carolina, por simplesmente existir e alegrar minha vida. Fábio, por toda ajuda e conselho. Amo todos vocês!

Aos meus orientadores Marco Miguel e Aline Mello, muito obrigada! Vocês foram fundamentais para a conclusão deste trabalho. Serei eternamente grata pelos conselhos, ajuda e paciência.

Às minhas amigas, Danielle Cristina, Ana Gabriela e Thaís Oliveira, pela amizade, companhia e toda ajuda durante esses quatro anos de convivência.

À todos os professores do Instituto de Microbiologia e Imunologia - UFRJ, que foram tão importantes na minha vida acadêmica e no desenvolvimento desta monografia.

Aos Técnicos Antônio, Marley e Marquinhos por toda ajuda e auxilio na realização desta pesquisa. Antônio, o que seria de nós, alunos de IC, sem o seu auxílio? Muito obrigada por toda ajuda e pelas conversas.

Aos amigos do laboratório de Microbiologia de Alimentos: Amanda, GiseleFerreira, Giselle Duarte, Mariana e Bianca, muito obrigada pela ajuda, pelas conversas e pelos momentos de descontração.

À todos os docentes e funcionários do Programa de Pós Graduação em Ciência de Alimentos pela oportunidade de crescimento e pelo auxílio. Especialmente, ao André e à Dilma, muito obrigada por toda ajuda!

À todos os funcionários do restaurante onde este trabalho foi realizado.

Às agencia de fomento, FAPERJ, que deu suporte financeiro para a conclusão deste projeto.

"A distância entre o sonho e a realidade chama-se disciplina."

(Bernardinho)

RESUMO

ANA BEATRIZ T. FREDERICO

ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS DA HIGIENIZAÇÃO DE VEGETAIS SERVIDOS CRUS EM UM RESTAURANTE DO MUNICIPIO DO RIO DE JANEIRO

Orientadores: Marco Antônio Lemos Miguel e Aline Gomes de Mello de Oliveira

Resumo daMonografia apresentada no Instituto de Microbiologia Paulo de Góes da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas: Microbiologia e Imunologia e aprovação no RCS Trabalho de Conclusão de Curso.

Uma alimentação nutricionalmente saudável e balanceada deve conter alimentos *in natura* ou minimamente processados, principalmente alimentos de origem vegetal. No entanto, é necessário que a higienização e o processamento desses alimentos sejam realizados de forma adequada, a fim de evitar a contaminação e a proliferação de microrganismos e minimizar os riscos de doenças transmitidas por alimentos (DTA). As DTA são patologias causadas por agentes físicos, químicos ou biológicos através da ingestão de alimentos contaminados, principalmente, por bactérias. Para garantir a qualidade e a segurança das refeições produzidas em serviços de alimentação é necessárioo controle das condições higiênico-sanitárias ao longo de todo o processo produtivo. Desta forma, este estudo teve como principal objetivo avaliar o processo de higienização e a qualidade microbiológica de vegetais, que serão consumidos crus e com casca, servidos aos comensais de um serviço de alimentação do município do Rio de Janeiro. O estudo foi realizado em três etapas: A. análise do cardápio servido, para verificar os principais vegetais servidos crus e com casca; B. observação sistemática do processo de higienização, para conhecer o tipo de sanitizante utilizado, o teor de cloro livre, o tempo de contato dos vegetais com a solução clorada e os procedimentos adotados pelos manipuladores de alimentos; eC.análise microbiológica dos vegetais. Para a análise microbiológica foram coletadas amostras das abóboras e beterrabas após a higienização e após o corte em processador. O processador de alimentos também foi analisado. Foram pesquisados coliformes,*Escherichia coli*, bactérias mesófilas totais e *Salmonella*. A contagem de bactérias mesófilas foi realizada atravésdo método de semeadura em placa, utilizando ágar padrão para contagem; a pesquisa de

coliformes foi realizada pelo método do número mais provável (NMP) utilizando caldo lactose bile verde brilhante e caldo EC. Para *Salmonella* foi realizado,primeiramente, um enriquecimento não seletivo em água peptonada, seguido de um enriquecimento seletivo em caldo tetrationato e, posteriormente, o plaqueamento seletivo em agar SS, agar EMB e agar XLD. A abóbora e o beterraba foramservidos com maior frequência, ao longo de três meses. Observou-senão conformidades no processo de higienização,como a inadequação do teor de cloro livre e do tempo de contato do vegetal com a solução.Após a higienização (antes do processamento) 66,6% (n=16) das amostras estavam impróprias para o consumo humano. No entanto, após terem sido processadosverificou-se que 100% dos vegetais estavam fora do padrão microbiológico aceitável para o consumo humano, todas as amostras apresentaram contagens de coliformes termotolerantes acima de 10^2 UFC/g. Nenhuma amostra apresentou contagem para *Salmonella*. Estes resultadosapontam a importância da higienização adequada dos vegetais, assim como dos equipamentos, neste caso, a lâmina e a superfície do processador de alimentos.Sendo assim, se as medidas de boas práticas não forem adotadas ao longo do processo produtivo de refeições, os vegetais consumidos crus e com casca servidos neste estabelecimento podem serpotenciais veículos de transmissão de DTA, podendo causar danos à saúde do consumidor.

Palavras-chave: Microbiologia de alimentos; Vegetais; Qualidade microbiológica; Coliformes; Higiene dos alimentos.

ABSTRACT

ANA BEATRIZ TEIXEIRA FREDERICO

MICROBIOLOGICAL ASPECTS OF HYGIENIZATION OF RAW VEGETABLES IN A RESTAURANT IN THE MUNICIPALITY OF RIO DE JANEIRO

Orientadores: Marco Antônio Lemos Miguel e Aline Gomes de Mello de Oliveira

Abstractda Monografia apresentada no Instituto de Microbiologia Paulo de Góes da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas: Microbiologia e Imunologia e aprovação no RCS Trabalho de Conclusão de Curso.

A nutritionally healthy and balanced diet should contain *in natura* or minimally processed foods, mainly plant source food. However, it is necessary to hygienize and handle food for packaging purposes in order to avoid contamination and proliferation of micro-organisms and minimize risks of foodborne diseases (FD). FD are pathologies caused by physical, chemical or biological agents by ingestion of contaminated food. To ensure quality and safety of meals produced in food services, it is necessary to control the hygienic and sanitary conditions for the entire production process. In this way, the main objective of this study was to evaluate the hygienization process and the microbiological quality of raw vegetablesserved with skinin a food service in the city of Rio de Janeiro. The study was carried out in three steps: A. Analysis of the management system for the main vegetables served raw and with skin; B. Systematic observation of the sanitization process, the sanitizer used, the free chlorine content, the contact time of the vegetable with a chlorinated solution and the procedures adopted by the food handlers; and C. Microbiological analysis of the vegetables. For the microbiological analysis samples of pumpkins and beets were collected after sanitization and after cut in food processor. The food processor was also analyzed. Coliforms, *Escherichia coli*, total mesophilic bacteria and *Salmonella* were investigated. The counting of mesophilic bacteria was performed by sowing method, using Plate Count Agar (PCA); The coliforms evolution was performed by the most probable number method (MPN) usingBrilliant green bile broth2%and EC broth. For Salmonella, it was carried in three steps, firstly using a non-selective enrichment in peptone water, followed by a selective enrichment in tetrathionate brothand then it was inoculated on SS agar, EMB agar and XLD agar. Non-conformities in the hygiene process were observed as an inadequacy of

the free chlorine content and the contact time of the vegetable with a solution. After sanitizing, 66.6% (n = 16) of samples were considered unfit for human consumption. However, after using the food processor, it was found that 100% of the vegetables were not microbiologically acceptable for human consumption, all samples had above 10^2 CFU/g of thermotolerant coliform.Salmonella was not identified in any sample. These results point to the importance of vegetable, as well as equipment hygiene, in this case the knife and surface of the food processor.Therefore, if good practice measures are not adopted for the food production process, the raw vegetablesserved with skinat this establishment may be a potential vehicle for transmission of FD and may cause harm to the health of the consumer.

Key-words: Food Microbiology; Vegetables; Microbiological quality; coliforms; Food hygiene.

LISTA DE FIGURAS **Pag.**

Figura 1. Fluxograma básico do processo produtivo de refeições. 4

Figura 2. Fluxograma do processo de higienização de folhosos, frutas e vegetais. 5

Figura 3. Número de surtos e de pessoas acometidas por doenças transmitidas por alimentos entre os anos 2000 e 2015 no Brasil. 8

Figura 4. Locais iniciais em que os surtos foram reportados entre os anos de 2007 e 2016 no Brasil. 9

Figura 5. Agentes etiológicos dos surtos reportados entre os anos de 2000 e 2005 no Brasil. 10

Figura 6. Alimentos relacionados aos surtos reportados entre 2007 e 2016 no Brasil. 13

Figura 7. Porcentagem dos principais microrganismos envolvidos nos surtos entre os anos de 2007 e 2016 no Brasil. 14

Figura 8. Adesão de bactérias em superfícies de pepinos (A) *S. aureus* (B) *Lactobacillus plantarum* (C) *L. monocytogenes* (D) *S. typhimurium*. 15

Figura 9. Fluxograma do processo de higienização e preparação de vegetais in natura e com casca, adotado no serviço de alimentação em estudo. 30

Figura 10. Processador de alimentos utilizado no processamento dos vegetais in natura e com cascas pelo restaurante em estudo. 31

Figura 11. Desinfetantes utilizados na higienização dos vegetais do serviço de alimentação em estudo. 31

Figura 12. Fluxograma proposto para o processo de higienização de vegetais *in natura* e com casca. 38

LISTA DE TABELAS

Pag.

Tabela 1. Número de refeições (em milhões por dia) servidas em serviços de alimentação coletiva entre os anos de 2008 e 2016 no Brasil. 1

Tabela 2. Dados relacionados às Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA) entre os anos de 2007 e 2016 no Brasil. 2

Tabela 3. Características dos principais microrganismos causadores de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA). 11

Tabela 4. Padrão microbiológico vigente para vegetais *in natura* esaladas mistas. 19

Tabela 5. Padrões Microbiológicos das condições higiênico-sanitárias de equipamentos e utensílios de preparação, segundoentidades oficiais e autores. 20

Tabela 6. Vantagens e desvantagens de técnicas de análises microbiológicas de superfícies. 21

Tabela 7. Frequência dos diferentes tipos de vegetais consumidos *in natura*, oferecidos nos cardápios do serviço de alimentação em estudo, ao longo de três meses, durante o ano de 2016. 29

Tabela 8. Análises microbiológicas dos vegetais consumidos com cascas após a higienização. 34

Tabela 9. Análises microbiológicas dos vegetais consumidos com cascas após o corte em processador de alimentos. 35

Tabela 10.Média da contagem dos microrganismos pesquisados obtidas antes e após o processamento dos vegetais. 36

Tabela 11. Porcentagem de amostras que não apresentaram contagens de E. coli. 37

Tabela 12. Análises microbiológicas do processador de alimentos. 37

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABERC – Associação Brasileira das Empresas de Refeições Coletivas

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

APPCC –Análise de Perigo e Pontos Críticos de Controle

ATCC - American Type Culture Colection

CDC - Centers for Disease Control and Prevention

CFN –Conselho Federal De Nutricionistas

DTA – Doenças Transmitidas por Alimentos

EC – *Escherichia coli*

EMB - Eosin Methylene Blue

FAO - Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

ICMSF - International Commission on Microbiological Specifications for Foods

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

NMP – Número Mais Provável

OMS – Organização Mundial de Saúde

ONU – Organização das Nações Unidas

SS - *Salmonella Shigella*

SUS – Sistema Único de Saúde

SVS – Secretaria de Vigilância em Saúde

UAN – Unidade de Alimentação e Nutrição

UFC – Unidades Formadoras de Colônias

XLD - Xilose Lisina Desoxicolato

ÍNDICE

Pág

.

1. INTRODUÇÃO 1

1.1. Setor de alimentação coletiva 1

1.2. Boas práticas de manipulação em serviços de alimentação 3

1.3. Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA) 7

1.4. Controle da qualidade higiênico-sanitária de alimentos 17

2.JUSTIFICATIVA 22

3. OBJETIVO 23

3.1. Objetivo Geral 23

3.2. Objetivos específicos 23

4. MATERIAIS E MÉTODOS 24

4.1. Tipo e local de estudo 24

4.2. Escolha dos vegetais a serem analisados..... 24

4.3. Observação sistemática do processo de higienização de vegetais consumidos com casca 24

4.4. Coleta das amostras..... 24

4.5. Análises microbiológicas 25

4.5.1. Preparo da amostra 25

4.5.2. Contagem de bactérias mesófilas totais 25

4.5.3. Contagem de coliformes totais 26

4.5.4. Contagem de coliformes termotolerantes.....26

4.5.5. Contagem de Escherichia coli em placas 26

4.5.6. Identificação de Escherichia coli 26

4.5.7. Pesquisa de Salmonella spp...... 27

***4.5.7.1. Identificação das Salmonella spp. isoladas das amostras por espectrometria de massa do tipo MALDI-TOF* 28**

4.6. Elaboração do fluxograma de higienização de vegetais com cascas 28

4.7. Análise estatística 28

5.RESULTADOS 29

5.1. Avaliação do cardápio oferecido no serviço de alimentação.....29
5.2. Processo de higienização de vegetais consumidos com cascas.....29

5.3. Análises microbiológicas.....32

5.4. Elaboração do fluxograma de higienização de vegetais com casca.....37

6. DISCUSÃO.....39

7. CONCLUSÃO.....43

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 44

1. INTRODUÇÃO

1.1. Setor de alimentação coletiva

As alterações ocorridas na economia brasileira e no setor de alimentação foram, em parte,acarretadas pelas transformações no cotidiano da população, causadas peloaumento na jornada de trabalho, crescimento da população em centros urbanos e entrada da mulher no mercado de trabalho – reduzindo o tempo para o preparo e consumo de refeições em domicílio. Estes fatorestêm contribuído para o aumento da realização das refeições fora do lar (Badaró, Azeredo e Almeida, 2007; Alves e Ueno, 2010).

Este crescimento pode ser observado nos dados divulgados pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2010), queapontam que a população brasileira gastou cerca de 33,1% da renda familiar com a alimentação fora do lar. Além disso, como demonstradona Tabela 1,a Associação Brasileira das Empresas de Refeições Coletivas (ABERC) estima que, em 2016, serão servidas cerca de 17,86 milhões de refeições por dia, que gerarão aproximadamente 195 mil empregos diretos e que o faturamento do setor será de R$ 29,76 bilhões (ABERC,2016). Os dados das pesquisas mostram que os serviços de alimentação fora do lar assumiram um papel importante na alimentação da população.

Tabela 1. Número de refeições (em milhões por dia) servidas em serviços de alimentação coletiva entre os anos de 2008 e 2016 no Brasil.

	Anos								
	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016*
Autogestão (Administrada pela própria empresa)	0,22	0,18	0,19	0,15	0,11	0,1	0,08	0,07	0,06
Refeições coletivas (Prestadoras de serviços)	8,3	8,5	9,4	10,5	10,9	11,7	12,2	11,7	11
Refeições convênio (tíquetes / cupons / restaurantes comerciais)	5,2	5	5,3	6	6,4	7	7,4	7	6,8
TOTAL	**13,72**	**13,68**	**14,89**	**16,65**	**17,41**	**18,8**	**19,68**	**18,77**	**17,86**

* estimativa para 2016; Fonte: (ABERC, 2016).

A alimentação fora do lar pode ser realizada em Unidades de Alimentação e Nutrição (UAN), ou seja, empresas fornecedoras de serviços de alimentação coletiva incluindo os restaurantes comerciais, hotelaria marítima, serviços de buffet e de alimentos congelados, comissárias e cozinhas dos estabelecimentos assistenciais de saúde (CFN, 2005). Nestes

estabelecimentos o emprego das boas práticas de manipulação ao longo do processo produtivo é essencial para manter a qualidade das refeições servidas. Desta forma, a qualidade, passou a ser um atributo fundamental para o funcionamento destes estabelecimentos (Sousa e Campos, 2003).

Além da preocupação com a qualidade higiênico-sanitária das refeições servidas, é necessário adotar medidas que minimizem o desperdício de alimentos nas Unidades de Alimentação e Nutrição (UAN).Dados da Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura(FAO) estimamque aproximadamente um terço de todo alimento produzido anualmente é desperdiçado, o que é equivalente a 1,3 bilhões de toneladas. Essa quantidade seria suficiente para satisfazer às necessidades alimentares de 300 milhões de pessoas. Dos alimentos desperdiçados, 40% correspondem a raízes, frutas, hortaliças e 50% a sementes oleaginosas (ONU, 2015; FAO, 2016). Diariamente, 70 mil toneladas de alimentos são desperdiçadas só no Brasil (Badawi, 2009). Estes desperdícios afetam a economia, uma vez que é estimadauma perda de 12 bilhões de Reais (Brasil, 2007).

Nos serviços de alimentação, o desperdício está relacionado com a falta de qualidade e deve ser evitado a partir do planejamento adequado, para que não existam excessos de produção e consequentes sobras (Abreu, Spinelli e Pinto, 2003). Em estudo realizado por Augustini*et al.* (2008) foi avaliada a quantidade de sobras e restos em uma Unidade de Alimentação e Nutrição (UAN) localizada em empresa metalúrgica de Piracicaba – SP e verificou-se quea mesma desperdiçava, ao todo, 9611.45 Kg de alimentos. Os autores constataram, que com este desperdício seria possível alimentar cerca de 11442 pessoas. Pikelaizen e Spinelli (2013)mostraram que 21% da quantidade total dos alimentos distribuídos eram descartados pelos clientes. Nogueira e Spinelli (2015) mostraram que, aproximadamente, 40% dos alimentos preparados em uma UAN de uma escola particular de São Paulo eram desperdiçados.

Os estudos mostraram que o desperdício está relacionado com os alimentos que não foramutilizados, preparações prontas que não foramservidas e os restos dos pratos dos clientes que foramdescartados (Castro, 2002). Para reduzir o desperdício de alimentos e melhorar o valor nutricional das preparações oferecidas, tem sido incentivada a utilização integral dos alimentos, sendo aproveitado a casca, o talo, a folha, a polpa e as sementes (Gondim *et al.*, 2005), visto que grande quantidade de vitaminas e sais minerais, que podem auxiliar em tratamentos e prevenções de doenças, estão presentes nas cascas dos alimentos de origem vegetal(Della modesta, 1994) e, dependendo do alimento, a concentração de

nutrientes pode ser maior nos talos e cascas do que na própria polpa, como foi evidenciado em amostras de frutas por Godim *et al.* (2005).No entanto, alguns cuidados devem ser adotados durante o pré-preparo, principalmente se esses alimentos forem consumidos crus, pois podem transmitir doenças, causando danos à saúde do consumidor (Silva *et al*, 2005).

Em 2015, aSegurança dos Alimentos foi tema do Dia Mundial da Saúde promovido pela Organização Mundial de Saúde (OMS). De acordo com este órgão,o consumo de alimentos não seguros está associado à morte de cerca de 2 milhões de pessoas por ano (OMS, 2015). Quando não são adotados os procedimentos de boas práticas, os alimentos podem apresentarsubstâncias químicas ou agentes patogênicos incluindo: bactérias, vírus, parasitas que podem causar doençastransmitidas por alimentos (DTA).

Nos serviços de alimentação as falhas podem ocorrer em qualquer etapa do processo produtivo, como por exemplo: no armazenamento inadequado, na higienização ineficiente, na cocção insuficiente, no preparo dos alimentos com excessiva antecedência ao consumo, na refrigeração e manipulação inadequada, aumentando o risco da perda da qualidade das refeições servidas (ICMSF, 2006; Kawasaki, Cyrillo e Machado, 2007).

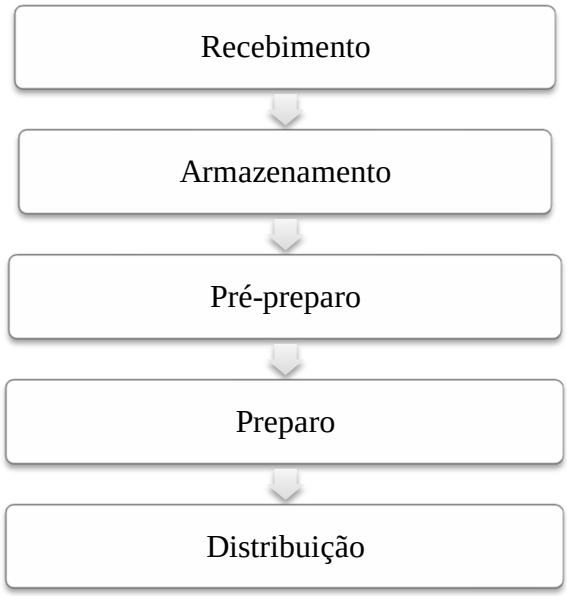
Desta forma, devem ser adotadas medidas de boas práticas que garantam a manutenção da segurança e qualidade das refeições servidas, através da adoção de processos que garantam as características nutricionais e inocuidade dos alimentos(Brasil, 2014a).

1.2. Boas práticas de manipulação em serviços de alimentação

No Brasil, a fiscalização e o controle de alimentos é realizado de forma compartilhada entre órgãos públicose entidades da administração pública, principalmente o Sistema Único de Saúde (SUS)e o Ministério da AgriculturaPecuária e Abastecimento (MAPA). Ao MAPA compete fiscalizar e controlar os alimentos da produção primária, ao SUS e às Agências de Vigilância estaduais, municipais e federal (ANVISA) competeassegurar que o produto comercializado para a população esteja seguro e não ofereça nenhum risco ao consumidor (Brasil, 2009).

Desta forma, a ANVISA publicou a Resolução RDC nº 216, de 15 de setembro de 2004 (Brasil, 2004a), que estabelece osprocedimentos de Boas Práticas para serviços de alimentação, como cantinas, bufês, confeitarias, pastelarias, a fim de assegurar a qualidade das refeições servidas. As boas práticasdevem ser adotadas ao longo de todo o processo produtivo, desde o recebimento da matéria-prima até a distribuição da refeição pronta para

consumo. Na figura 1 está apresentado o fluxograma básico do processo produtivo de refeições.

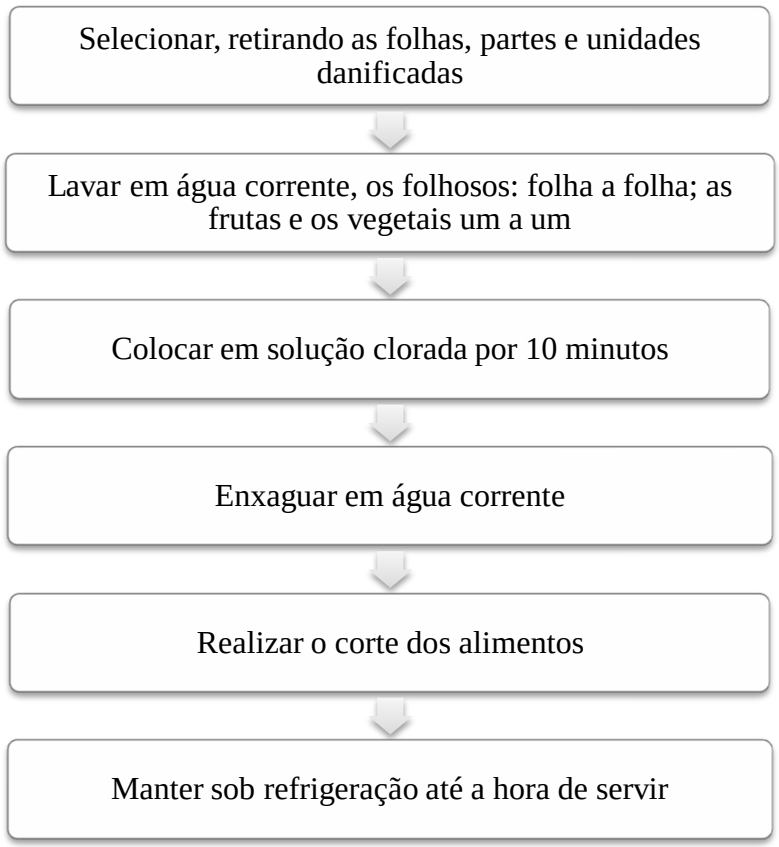


Fonte: Arruda, 2002.

Figura 1 . Fluxograma básico do processo produtivo de refeições.

No recebimento da matéria-prima, entre outros aspectos,deve-seobservar as condições das embalagens, o prazo de validade, a temperatura de recebimento e a integridade do alimento. Caso seja identificada alguma não conformidade,o alimento deverá ser devolvido ao fornecedor. Após o recebimento, os gêneros alimentícios e materiais devem ser armazenados de forma segura, a fim de evitar a contaminação dos mesmos(Brasil, 2004a).

Na etapa de pré-preparo, pode ocorrer a dessalga, fracionamento, catação e higienização dos alimentos que serão consumidos *in natura*como: folhosos,frutas e vegetais,como objetivo dereduzir a carga microbiana,tornando-os seguros para consumo(Brasil, 2004b).Na Figura 2 está apresentado o fluxograma geral para a higienização de folhosos, frutas e vegetais que serão consumidos *in natura* em preparações como saladas.



Fonte: Cartilha sobre boas práticas para serviços de alimentação (Brasil, 2004b)

Figura 2. Fluxograma do processo de higienização de folhosos, frutas e vegetais.

Os vegetais classificados como tubérculos e raízes, ou seja, aquelas raízes que apresentam 20% de carboidratos, como a batata inglesa e o aipim, 10% de carboidratos, como a beterraba e a cenoura e aqueles que apresentam 5% de carboidratos, como o nabo e o rabanete, necessitam de cuidado especial na sua higienização, pois apresentam superfície irregular e alta concentração de sujidades. Desta forma, recomenda-se a escovação em água corrente antes de colocar em solução clorada(Domene, 2011).

A higienização é definida como um conjunto de práticas que tem como objetivo promover ao ambiente de processamento de alimentos (superfícies das instalações, dos equipamentos e utensílios) boas condições higiênicas.Este processo está dividido em duas etapas: limpeza e desinfecção (Brasil, 2004a). A limpeza está relacionada com a remoção de substâncias indesejáveis como: poeira, terra, gordura e outros. A desinfecção baseia-se na redução do número de microrganismos a determinado nível que não coloque em risco a qualidade higiênico-sanitária dos alimentos e pode ser realizadapor métodos físicos ou químicos (Brasil, 2004a).

Nahigienizaçãode folhosos, frutas e vegetais recomenda-se a utilização deagente sanitizantea base de hipoclorito de sódio, que é permitido pela legislação e bastante utilizado no Brasil. Nos EUA o ácido peracético vem sendo muito utilizado para este fim e com resultados satisfatórios (Srebernich, 2007). Outro agente que pode ser utilizado em substituição ao hipoclorito de sódio é o dióxido de cloro, que por liberar subprodutos em quantidades pequenas não há a formação de cloraminas, como o hipoclorito de sódio, sendo então considerado de baixo poder carcinogênico. Estes agentes e outros sais de cloro são precursores para a formação de cloraminas orgânicas, apresentando alto potencial carcinogênico, que podem prejudicar a saúde do consumidor e por isso, deve-se ter cuidado com relação ao uso (Srebernich, 2007). O saneante utilizado na higienização dos alimentos deve estar regularizado pelo Ministério da Saúde e deve ser aplicado de forma adequada para evitar resíduos no alimento no momento do consumo (Brasil, 2004a).

Para a higienização, deve-se preparar a solução clorada que deve apresentar concentração entre 200-250 ppm de cloro ativo. Para o preparo dessa solução devem ser adicionados1 colher de sopa de hipoclorito de sódio (2-2,5%) em 1 litro de água e o alimento (fruta, folhosos ou vegetais) deve ser imerso nesta solução por, no mínimo, 10 minutos (Brasil, 2004b).Nascimento e Alencar (2014)analisaram amostras de alface, couve, repolho e coentro comercializados em feira livre e verificaram altas contagens de coliformes totais e termotolerantes. Uma parte das amostras foi higienizada com hipoclorito de sódio à 1 % (constituído por um teor de cloro ativo equivalente entre 2 e 2,5% p/p)e a outra com o ácido acético a 6,6 %. Os autores verificaram que quando os vegetais foram higienizados com hipoclorito de sódio à 1%, 91,5% das amostras não apresentaram contagens para coliformes totais e que em 99,9% das amostras não foi detectada a presença de coliformes termotolerantes. No entanto, quando os autores utilizaram o ácido acético na higienização dos vegetais 15,9% não apresentaram contagens para coliformes totais e em 55,7% amostras não foram detectados coliformes termotolerantes. Os resultados apontam que o hipoclorito de sódio a 1% é o mais indicado para a sanitização de vegetais.

Depois de higienizado, pode-se proceder o corte do alimento, sendo necessário que o utensílio e/ou equipamentos a serem utilizados, assim como as mãos dos manipuladores estejam higienizados de forma adequada para não serem fonte de contaminação (Brasil, 2004b).

Conforme observado na figura 1, após o pré-preparo, os alimentos seguem para a etapa de preparo, em que são coccionados, sendo necessário monitorar o tempo e temperatura para evitar o crescimento e disseminação de microrganismos.

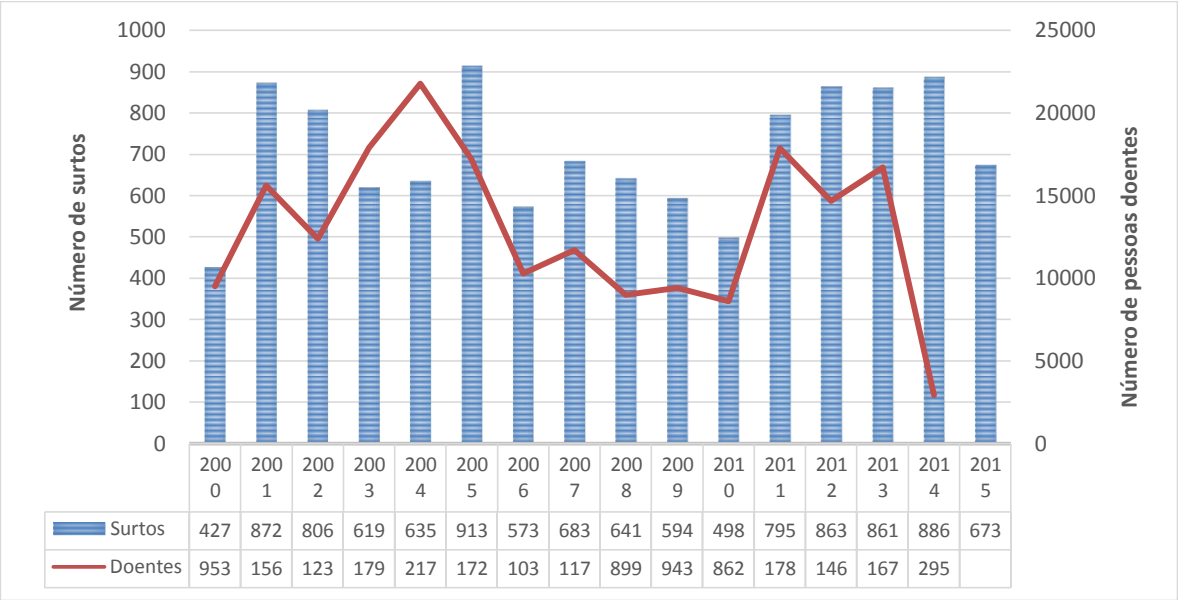
Os alimentos que não forem consumidos imediatamente após o preparo, devem ser mantidos sob temperatura adequada.A distribuição das refeições prontas para consumo deve ser realizada de forma que não haja a recontaminação e nem viabilize a multiplicação de microrganismos, o que poderia causar doenças transmitidas por alimentos(Brasil, 2004a).

Para a exposição das refeições em balcões de distribuição os alimentos que forem consumidos frios, como as saladas, devem ser mantidos sob refrigeração em temperaturas abaixo de 5 ºCe os alimentos quentes, devem ser mantidos a no mínimo 60ºC por no máximo 6 horas(Brasil, 2004a). Desta forma, como pode-se observar devem ser adotadas medidas ao longo do processo produtivo de refeições, a fim de evitar agravos à saúde do consumidor (Souza, 2006).

1.3. Doenças transmitidas por alimentos (DTA)

DTA são patologias causadas por agentes químicos, biológicos ou físicos através da ingestão dos alimentos contaminados, em sua maioria, ocorre por agentes biológicos, através da contaminação microbiana, principalmente por bactérias (Brasil, 2004b). Quando duas ou mais pessoas são acometidas pela mesma doença decorrente da ingestão de uma mesma refeição contaminada é classificado como surto (Badaró, Azeredo e Almeida, 2007).

No Brasil foram registrados mais de 6 mil surtos de DTA entre os anos de 2000 e 2015, com mais de 118 mil pessoas doentes e 109 óbitos (Figura 3 e Tabela 2), os dados de 2016 não foram utilizados pois estavam incompletos, ocorrendo em diferentes locais, sendo as residências o principal local com maior número de surtos e os restaurantes, padarias e similares os segundos tipos de locais com maior número de surtos reportados (Figura 4) e com 70,3% deles sem a determinação do agente causador (Figura 5) (Brasil, 2014b).



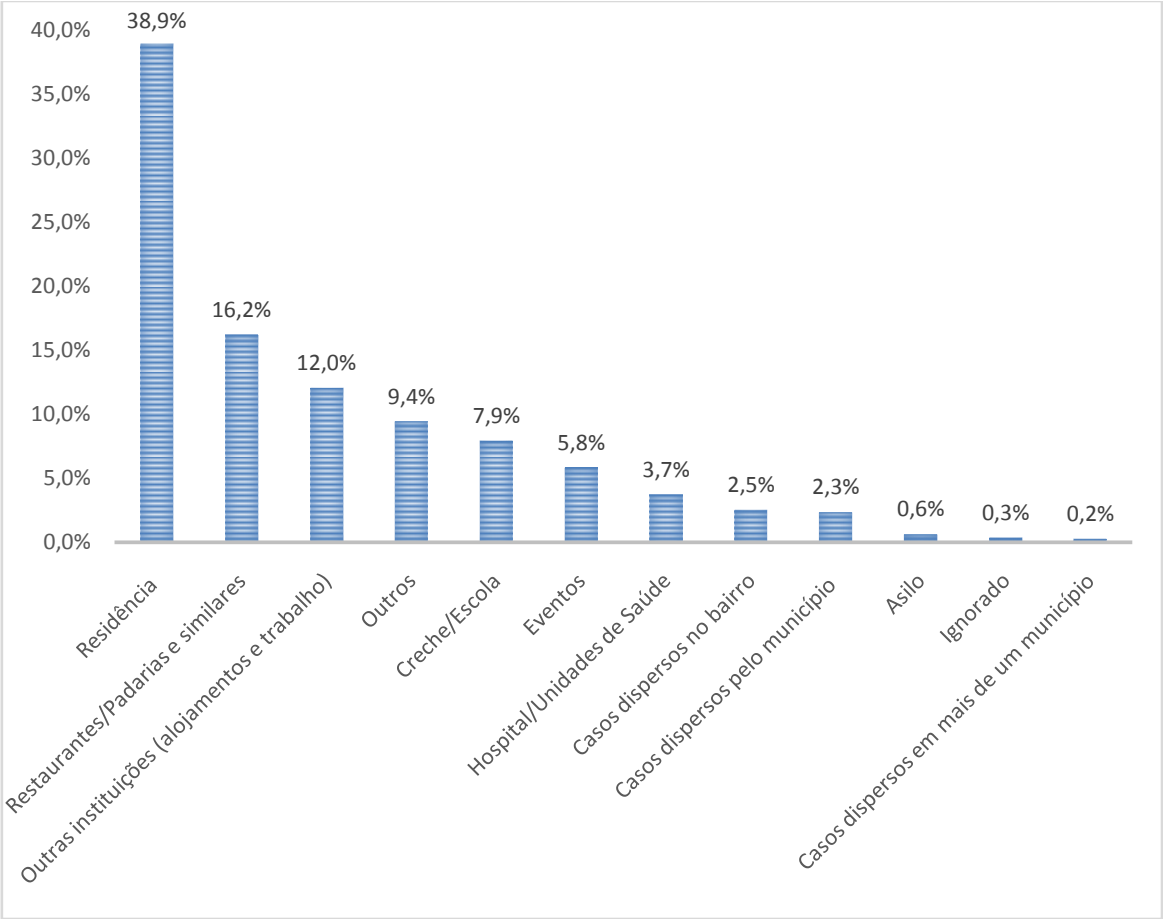
Fonte: (SVS, 2016).

Figura 3.Número de surtos e de pessoas acometidas por doenças transmitidas por alimentos entre os anos 2000 e 2015 no Brasil.

Tabela 2. Dados relacionados às Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA) entre os anos de 2007 e 2016 no Brasil.

2007 a 2016*
6.632 Surtos
469.482 Expostos
118.104 Doentes
17.186 Hospitalizações (14,5%)
109 Óbitos (0,09%)

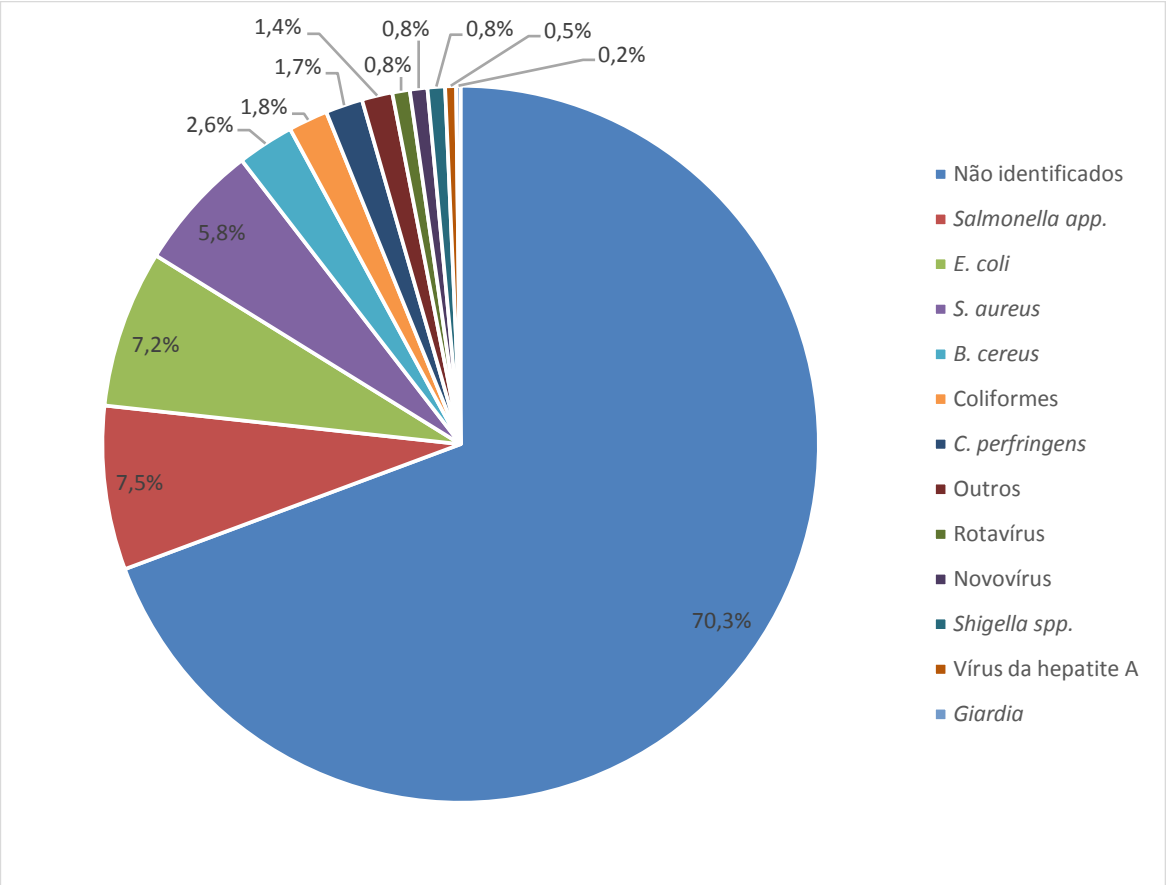
*Dados de 2016 estão sujeitos a alterações
Fonte: (SVS, 2016)



Fonte: (SVS, 2016)

Figura 4. Locais iniciais em que os surtos foram reportados entre os anos de 2007 e 2016 no Brasil.

Segundo Oliveira *et al.*(2010) existem atualmente cerca de 250 tipos dedoenças transmitidas por alimentos. Amaioria dessas doenças é causada por microrganismos que são corriqueiramente responsáveis por diversos problemas de saúde pública e podem gerar grandes perdas para a economia. Os sintomas mais comumente encontrados em casos de DTA são: náuseas, dor de estômago, febre e diarreia, e podem durar apenas algumas horas até uma semana, dependendo do tipo de microrganismos, o estado imunológico do indivíduo, da quantidade do alimento contaminado ingerido, entre outros fatores (Oliveira *et al.*, 2010).



Fonte: (SVS, 2016)

Figura 5 - Agentes etiológicos dos surtos reportados entre os anos de 2000 e 2005 no Brasil.

NoTabela 3 estão apresentadas as características dos principais microrganismos e as DTA causadas por eles.

Tabela 3. Principais microrganismos associados a Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA) e características das doenças.

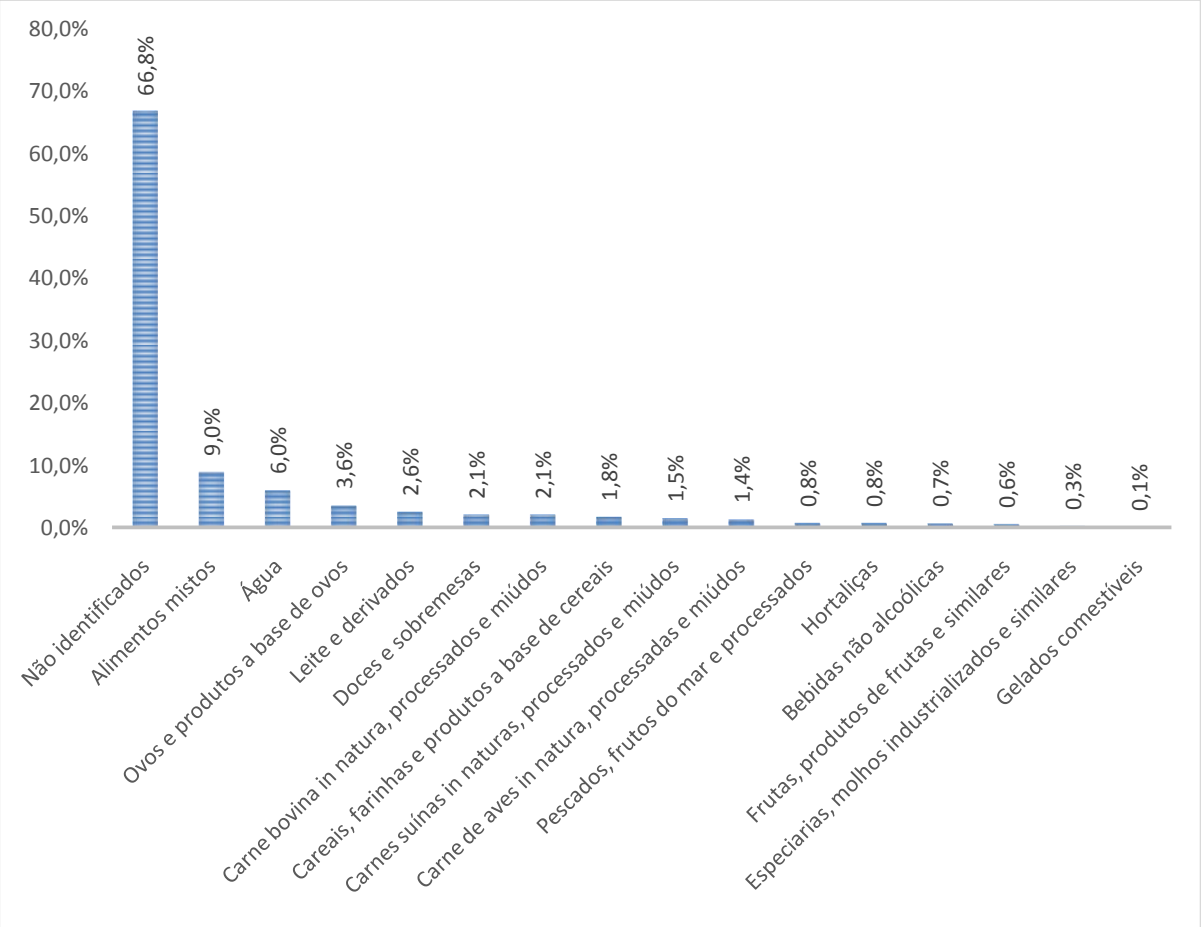
Microrganismos	Doenças	Sinais e sintomas	Período de incubação	Alimentos envolvidos	Habitat	Informações
Salmonella sp.	Salmonelose	Náuseas, vômitos, doresabdominais e de cabeça, calafrios, diarreia, febre. Duração de 2-3 dias (oumais).	Algumas horas a 3 dias.	Leite cru, produtos de Laticínios, carne de aves, suínos e bovinos, vegetais e pescado, ovos, água, moluscos.	Trato intestinal de mamíferos, pássaros, anfíbios e repteis, homens e insetos.	Causa infecções devido àfalta de higiene ou falhas durante o preparodealimentos, permitindo a multiplicação desta bactéria.
Escherichia coli patogênica	Gastroenterite Diarreia	Diarreia abundante (às vezes sanguinolenta, cãibras abdominais, náuseas). Para as cepas enterro-hemorrágicas, síndromeurêmica hemolítica e trombocitopenia grave.	8 - 24h e 3 a 9 dias paraas estirpesentero hemorrágicas.	Leite cru, produtos lácteos contaminados ou manipulados de forma inadequada, carne crua e vegetais.	Trato intestinal de homens	Indicador de uma higienedeficiente, ou de umadeficiência no processo.Várias cepas sãotoxigênicas.
Clostridium botulinum	Botulismo	Náusea, vômitos, distúrbios neurológicos, visão dupla, falência respiratória e	12 – 36h até 14 dias.	Conservas industriais e,principalmente, conservascaseiras.	Solo, sedimentos de águadoce e salgada,vegetação.	Os esporos podem sobreviver ao tratamentotérmico, químico esecagem. Toxinatermolábil, veneno biológico

		obstrução à entrada de ar, podendo resultar em morte.				potente.
Sthaphylococcus aureus	Gastroenterite estafilocócica	Náuseas, vômitos e diarreia aquosa, dor de cabeça, dor muscular e prostração.	2– 6 h.	Pescado, leite cru, produtosde laticínios, principalmentequeijos, produtos cárneos,massas, produtos de confeitaria, preparações àbase de frango, ovos eoutros, especialmente muito manipulados.	Mucosas nasais e oral, pele e cabelo.	Contamina os alimentospor manipulações incorretas. Produz toxinatermorresistente.
Bacillus cereus	Gastroenterite	Toxina diarreica: dor abdominal e diarreia. Toxina emética: ataque agudo de náusea e vômito.	Toxina diarreica: 4 – 16h. Toxina emética: 30min-6h.	Arroz, leite, produtos amiláceos, vegetais cozidos, cereais, condimentos, carnes, pescado.	Solo	Esporos termorresistentes.Pode produzir dois tipos de toxinas (diarreica e emética).
Clostridium perfringes	Enterite	Intensas dores abdominais, diarreia e flatulência.	8 – 15 h.	Carnes, frangos, sopas desidratadas e molhos àbase de carnes.	Solo, poeira e trato intestinal de animais.	Esporos termorresistentes. Produz enterotoxinadurante a esporulação no intestino.

Fonte: Guia de elaboração do Plano APPCC (2001).

Durante o processo produtivo de refeições a contaminação dos alimentos e os surtos de DTA podem ocorrer devido à: manipulação inadequada dos alimentos, pelas mãos dos manipuladores – se forem higienizadas de forma inadequada, contato com utensílios contaminados, preparo das refeições muito antes de serem servidas, refrigeração e armazenamento do alimento sob temperaturas inadequadas (Brasil, 2004b).

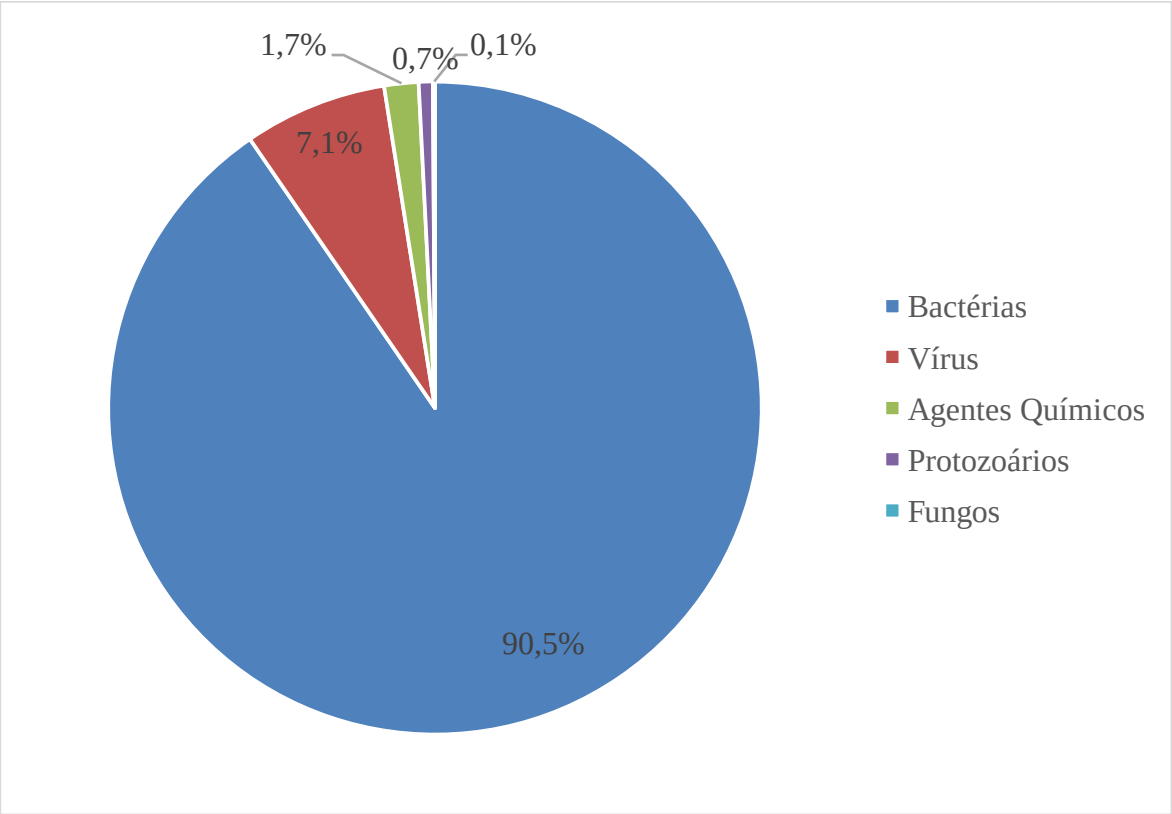
Alguns microrganismos frequentemente encontrados em alimentos podem ter como origem as mãos dos manipuladores, como por exemplo *S. aureus*, visto que um dos seus habitats naturais é a pele humana. Outros microrganismos podem contaminar os alimentos, pois estão presentes no solo e os alimentos vegetais quando não adequadamente higienizados podem apresentar esses microrganismos em decorrência de sua forma de produção (plantio), como o *Bacillus cereus*, o *Clostridium perfringes* e o *Clostridium botulinum*(SENAC, 2001).



Fonte: (SVS, 2016)

Figura 6 - Alimentos relacionados aos surtos reportados entre 2007 e 2016 no Brasil.

Ainda que no Brasil os vegetais não apareçam como os principais alimentos causadores de doenças transmitidas por alimentos, 66,8% dos surtos reportados entre 2007 e 2016 não tiveram o alimento de origem identificado (Figura 6). Em 2013Painter *et al.*(2013) mostraram que estes são os principais causadores de DTA nos Estados Unidos da América. Neste estudo cerca de 51% das DTA analisadas foram causadas por alimentos de origem vegetal, sendo que os vegetais folhosos foram considerados os mais perigosos.



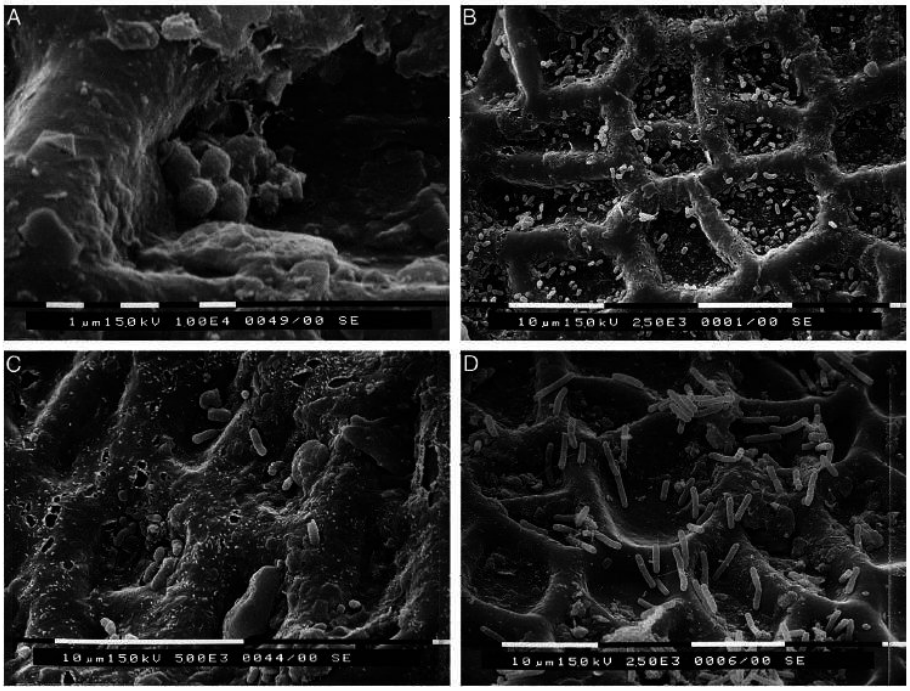
Fonte: (SVS, 2016).

Figura 7 - Porcentagem dos principais microrganismos envolvidos nos surtos entre os anos de 2007 e 2016 no Brasil.

No Brasil, os principais microrganismos envolvidos em surtos são as bactérias (Figura 7) (SVS, 2016). Já nos Estados Unidos da América, 28% (n=34) dos surtos relatados entre os anos de 2010 e 2014 foram causados pela toxina Shiga produzida por *E. coli*, enquanto que as bactérias foram responsáveis por 68% (n=81) dos surtos relatados no mesmo período, sendo *Samonella*, *Listeria* e *Vibrio* as principais bactérias causadoras de surtos nos EUA nesse período (CDC, 2015).

A microbiota inicial dosvegetais é muito variável, pois é composta por microrganismos do ar, do solo, da água, dos insetos e animais, do uso de pesticidas, dos tipos de técnica agrícola utilizada e da contaminação do ambiente.A microbiota do alimento de origem vegetal é formada por microrganismos da matéria prima; por contaminantes, através da contaminação cruzada durante a sua manipulação e processamento, devido à falta ou ineficiência do controle de higienização pessoal, de equipamentos e da estrutura física em que o alimento é manipulado, do controle de limpeza e desinfecção insuficiente, da falta de controle da conservação e transporte do alimento; da temperatura e tempo durante todo o processo de preparo em condições impróprias, entre outros.

Ainda que pareça lisa, as cascas de alguns vegetais apresentamreentrâncias que podem permitir a fixação de microrganismos, além de dificultar sua remoção no momento do processamento, como foi demonstrado por Reina, Fleming e Jr. (2002), que realizaram um estudo evidenciando a adesão de bactérias em superfícies de pepino frescos dependendo do tempo de incubação, da concentração do inoculo, da temperatura e das espécies utilizadas (Figura 8).



Fonte: Reina, Fleming e Jr. (2002)

Figura 8. Adesão de bactérias em superfícies de pepinos (A) *S. aureus* (B) *Lactobacillus plantarum* (C)*L. monocytogenes* (D) *S. typhimurium*.

Outro fator que colabora para a adesão de bactérias nas superfícies dos vegetais é a sobrevivência de alguns microrganismos ao processo de preparo e acondicionamento do alimento (Fiori*et al.*, 2008;Souza, 2006). Sendo assim, amicrobiota do alimento de origem vegetal é composta por microrganismos do solo, da matéria-prima, das condições de manipulação e armazenamento.

Ravelli e Novaes (2010) avaliaram microbiologicamente a qualidade de vegetais minimamente processados e comercializados em Piracicaba, SP e verificaramcontaminação de mesófilos de até $7{,}3x10^8$unidades formadoras de colônias por grama (UFC/g) e de fungos de até $5{,}7x10^8$ UFC/g. Os resultados mostraram que 32% dos vegetais analisados estavam fora dos padrões para coliformes e *Salmonella*, conforme preconizado pela RDC nº 12de 2001.

Santos *et al.* (2010) realizaram análise microbiológica em frutas e hortaliças minimamente processadas comercializadas em supermercados, varejões e feiras livres da cidade de Campinas e não encontraram presença de *Salmonella sp.* em nenhuma das amostras analisadas, entretanto, 29% das amostras estavam inadequadas de acordo com a legislação vigente, pois apresentavam *E. coli* acima do limite permitido.

Em estudo realizado por Farias *et al.* (2011), que analisaram as saladas servidas em uma unidade de alimentação e nutrição hospitalar, foi verificado que todas as amostras estavam em condições adequadas para consumo. No entanto, Teixeira *et al.* (2013),que analisaram a qualidade microbiológica das hortaliças e frutas de comérciono município do Juazeiro do Norte - CE, verificaram que 100% das amostras compostas de alface apresentaram altas contagens para coliformes termotolerantes.

Almeida e Resende(2012) detectaram a presença de coliformes termotolerantes em amostras de couve e alface minimamente processadas, comercializadas em hipermercados de Brasília - DF. Os autores encontraram altas contagens de coliformes termotolerantes em 22% das amostras analisadas. Menezes e Moreira (2012), analisaram microbiologicamente a qualidade de abóboras minimamente processadas coletadas em feira livre de Itapetinga-BA. Todas as amostras apresentaram contaminação por *Salmonella* sp., estando impróprias para consumo.

Em pesquisa realizada por Lima *et al*. (2015) que analisaram as saladas prontas compostas poralmeirão, alface e uva passa; acelga e cenoura; tabule; repolho e abacaxi e acelga e tomate, ingredientes como tomate, acelga, trigo para quibe, pepino, repolho e abacaxi servidas em um restaurante universitário foi verificado que 40% das amostras

analisadas estavam fora dos padrões recomendados pela legislação atual vigente para coliformes termotolerantes.

Estes estudos reforçam a necessidade da avaliação dos aspectos higiênico-sanitários dos alimentos de origem vegetal, que serão consumidos *in natura* a fim de verificar se as medidas de boas práticas adotadas estão sendo realizadas de forma adequada, como intuito deminimizar o risco de contaminação e manter a qualidade da refeição servida, assim como a saúde do consumidor.

1.4. Controle da qualidade higiênico-sanitáriana produção de alimentos

Para garantir a segurança e qualidade das refeições produzidas em um serviço de alimentaçãoé necessário realizar o controle das condições higiênico-sanitárias ao longo de todo o processo produtivo. Para este objetivo utilizam-se roteiros de avaliação das condições higiênico sanitárias, que são métodos não-experimentais que reúnem os tópicos mais significativos exigidos pela legislação sanitária (Oliveira, 2014), tornando possível a verificação da adequação do serviço de alimentação, bem como as análises microbiológicas, que são uma importante ferramenta para este objetivo(Franco, 2014).Estas análises podem ser aplicadas diretamente nos alimentos, equipamentos e superfícies, bem como manipuladores. Para isto podem ser utilizadas diferentes técnicas microbiológicas, baseadas em métodos dependentes e independentes de cultivo, além de métodos químicos que ajudam na identificação das fontes de contaminação na verificação da eficiência do processo de higienização (Andrade, 2008).

Apesar da grande diversidade de microrganismos existentes, que dificulta as análises e interpretação dos resultados, alguns grupos de microrganismos oferecem informações mais precisas sobre eventos que tenham acontecido com os alimentos. Estes são conhecidos como microrganismos indicadores, cuja presença aponta a ocorrência de um determinado episódio, geralmente falhas, ao longo do processo de produção. Existem diferentes tipos de microrganismos indicadores, entre eles estão os coliformes totais e termotolerantes, que são indicadores de contaminação fecal e sua detecção nos alimentos indica condição higiênico-sanitária inadequada. A qualidade higiênico-sanitária tem sido avaliada através do uso de microrganismos que indicam uma possível contaminação fecal, e são utilizados com o objetivo de detectar mudanças na qualidade, classificar, monitorar e restringir o uso do alimentos ou da água em que os mesmos foram encontrados (Souza, 2006). Para este objetivo utilizam-se *Escherichia coli*, coliformes, *Bacillus cereus*,

Samonella sp., *Clostridium perfringens*, fungos e leveduras (Valsechi, 2006), no entanto, os mais utilizados são: coliformese *Salmonella spp*.

Os coliformes são um grupo de diferentes gêneros de bactérias caracterizados por possuírem a forma de bastonetes, corar-se negativamente pelo método de Gram, pertencerem à família *Enterobacteriaceae* e possuírem como habitat o trato intestinal de animais, incluindo o homem. Os gêneros pertencentes a esse grupo são: *Escherichia, Enterobacter, Klebsiella e Citrobacter*.Podem ser divididas em coliformes totais, aquelas que crescem em temperaturas próximas à temperatura corpórea humana (aproximadamente 37 ºC) e coliformes termotolerantes, aquelas que crescem em temperaturas em torno de 45ºC. Esses microrganismos são indicadores de contaminação fecal, visto que a origem dos mesmos é quase que exclusivamente entérica (Souza, 2006).

A Resolução RDC n° 12 de 02 de janeiro de 2001 é o regulamento técnico emitido pela agência de Vigilância Sanitária (ANVISA) que tem como objetivo estabelecer padrões microbiológicos para alimentos e determinar parâmetros para a conclusão e interpretação dos resultados de análises microbiológicas realizadas com amostras de alimentos (Brasil, 2001). Na Tabela4 estão descritos os tipos de microrganismos que devem ser pesquisados para alimentos vegetais frescos,*in natura*, ou minimamente processados e saladas mistas, temperadas ou não, respectivamente.

Tabela 4. Padrão microbiológico vigente para vegetais *in natura* e saladas mistas.

Microrganismos pesquisados	**Saladas mistas, temperadas ou não, com ou sem molho (exceção das adicionadas de molhode maionese e similares).**	**Vegetal *in natura* ou minimamente processado (Hortaliças, legumes e similares).**
	Valores máximos permitidos para amostras indicativas*	
Bactérias mesófilas	Não estabelece	Não estabelece
Coliformes totais	Não estabelece	Não estabelece
Coliformes termotolerantes	$< 10^2$ UFC/g**	$< 10^2$ UFC/g**
Salmonella sp.	Ausência em 25g	Ausência em 25g
***Staphylococcus* coagulase positiva**	$<10^3$ UFC/g**	Não estabelece
Bacillus cereus	$<10^3$ UFC/g**	Não estabelece

* RDC nº 12 de 2001 (Brasil, 2001)
**UFC/g = Unidades Formadoras de Colônias por grama de amostra

Ainda que exista um padrão de qualidade microbiológico a ser utilizado, alguns autores consideram estes limites flexíveis demais, de modo a nãoassegurar a inocuidade dos alimentos (Calil *et al.*,2013).Desta forma, apesar dos esforços para melhorar a disponibilidade e o aproveitamento dos alimentos, os resultados parecem estar indo na direção oposta da segurança do processo de produção de alimentos.

As superfícies das Unidades de Alimentação e Nutrição também devem ser analisadas. As análises microbiológicas dessas superfícies são importantes, pois permitem avaliar o processo de higienização e identificar possíveis fontes de contaminação do alimento (Evancho *et al.*, 2001). Não existem padrões microbiológicos vigentes para superfícies desses estabelecimentos, mas alguns autores e entidades oficiais sugerem especificações microbiológicas, que estãodescritasnaTabela5.

Tabela 5. Especificações microbiológicas das condições higiênico-sanitárias de equipamentos e utensílios de preparação, segundo entidades oficiais e autores.

Microrganismos	Critério (UFC/cm²) *
Bactérias mesófilas	≤ 2 (satisfatório)[a] > 2 (insatisfatório)
	≤ 50 (satisfatório)[b] > 50 (insatisfatório)
Coliformes termotolerantes	Ausência[b]
Staphylococcus aureus	
Bacilus cereus	
Pseudomonas aeruginosa	

* UCF/cm^2 = Unidades Formadoras de Colônias por centímetro quadrado.
Fontes:[a]American Public Health Association (Speck, 1984). [b] Silva Júnior., (2005).

Para a realização da pesquisa desses microrganismos em superfícies, existem diversas técnicas possíveis de serem utilizadas para a coleta das amostras, algumas delas são: lavagem superficial, que consiste na lavagem de um superfície móvel e pequena através da utilização de algum liquido estéril, como a água peptonada à 0,1% esterilizada; placas de contato, que consiste na utilização de placas contendo meio de cultura em relevo para que seja feito o contato direto com a superfície a ser analisada; e a técnica de *swab*, que consiste na fricção do *swab* na superfície para a remoção do mesmo (Tabela 6).

Tabela 6. Técnicas de análises microbiológicas de superfícies: vantagens e desvantagens.

Vantagens e desvantagens	Técnicas para análises de superfícies		
	Lavagem superficial	**Esfregaço em superfície com S*wab***	**Placas de contato em ágar**
Vantagens	Toda a superfície pode ser analisada, oferecendo mais precisão.	Utilizado em superfícies irregulares; Utilizado em áreas de difícil acesso para a higienização; Fácil aplicação e baixo custo.	Simples e fácil aplicação; Maior precisão que o *swab.*
Desvantagens	O contaminante pode não ser solúvel na solução de lavagem ou pode estar ocluído na superfície. Não pode ser utilizada em superfícies grandes e fixas.	Pode haver variação no controle do ângulo, na pressão empregada, assim comona umidade da cabeça do *swab.*	A diluição não é facultada, por isso deve ser usada em superfícies higienizadas, planas e lisas, para que a contagem seja viabilizada.

Adaptado de Oliveira (2014). Fontes: Faveroet *al*., 1968; Evanchoet *al*., 2001; Forsythe, 2002; Aycicek*et al*., 2006; Moore e Griffith, 2007 e Glasel, 2011.

Desde sua obtenção no campo até o consumo, os alimentos vegetais podem ser expostos a diversos perigos físicos, químicos e microbiológicos. Os cuidados atuais para otimizar o aproveitamento destes produtos através principalmente do consumo deles em sua forma integral têm exposto os consumidores a estes perigos, que deveriam ser minimizados ao longo da produção e reduzidos substancialmente no processamento do alimento. Além disso, as falhas ocorridas na capacitação dos manipuladores e consequentemente na execução das tarefas podem aumentar o risco de ocorrência de DTA.

2. JUSTIFICATIVA

Um fator importante para a manutenção da qualidade de vida da população e do meio ambiente é a alimentação rica em nutrientes, saudável e sustentável. Atualmente cerca de 1/3 dos alimentos produzidos são desperdiçados anualmente no mundo, enquanto a ONU estima que o crescimento populacional em 49 países menos desenvolvidos deverá duplicar de 900 milhões de pessoas em 2013 para 1,8 bilhões em 2050 (ONU, 2013). Fica evidente, então, que estamos caminhando para um colapso no fornecimento de alimentos mundial e uma alternativa para a solução deste problemaé um melhor aproveitamento dos alimentos.

O uso integral de alimentos, considerando-setalos, folhas e cascas, além contribuir para um melhor aproveitamento e disponibilidade, ajuda também a aumentar o valor nutricional da refeição. Além disto, esta prática contribui para reduzir o desperdício e gastos com alimentação, além da geração de resíduos sólidos(Gondim *et al.*, 2005). Desta forma, é importante avaliar se o processo de higienização dos vegetais que sãoconsumidos com cascaé realizado de forma a garantir a qualidade microbiológica das saladas servidas aos comensais, uma vez que estas preparações podem ser fonte de disseminação de microrganismos patogênicos, podendo prejudicar a saúde do consumidor e contribuindo para a ocorrência de DTA.

Em um estudo prévio realizado pela equipe do laboratório de Microbiologia de Alimentos nessa mesma Unidade de Alimentação e Nutrição localizada no município do Rio de Janeiro, foram detectadas falhasnas condições higiênico-sanitárias das saladas servidas com casca. Corroborando estes dados, no segundo semestre de 2015, o laboratório investigou um surto de doença alimentar ocorrido em uma unidade deste serviço de alimentação, tendo encontrado como principais suspeitos, os vegetais servidos crus e com casca.

Sendo assim, é importante verificar se o método empregado para a higienização e processamento dos vegetais que serão consumidos *in natura* e com casca é capaz de reduzir a carga microbiana inicial a níveis seguros, de forma a manter a qualidade das saladas servidas e a saúde do consumidor.

3. OBJETIVO

3.1. Objetivo Geral

Avaliar o processo de higienização e a qualidade microbiológica deabóboras e beterrabas que serão consumidos crus e com casca servidos aos comensais de uma unidade de alimentação de nutrição do município do Rio de Janeiro.

3.2. Objetivos específicos

- Avaliar a qualidade microbiológica de vegetais consumidos crus e com casca, após o processo de higienização e após o corte com o processador.
- Observar de forma sistemática e identificar as não conformidades no processo de higienização dos vegetais com casca adotados no serviço de alimentação.
- Propor ações para corrigir as não conformidades e elaborar um fluxograma do processo de higienização de vegetais com casca.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Tipo e local de estudo

Trata-se de um estudo exploratório do processo de higienização dos alimentos de origem vegetal servidos *in natura*com casca.O estudo foi conduzido em uma unidade de alimentação e nutrição localizada no município do Rio de Janeiro e que serve cerca de 3500 refeições durante o almoço e 600 no jantar.

4.2. Escolha dos vegetais a serem analisados

Foi baseada na análise do cardápio servido ao longo de três meses (junho, julho e agosto de 2016) no serviço de alimentação em estudo. Os vegetais servidos*in natura* foram divididos em folhosos e vegetais com casca. Os dados da frequência com que estes vegetais eram oferecidos no cardápio foram tabulados com o *software* excel®, sendo calculado o percentual e a média ao longo dos três meses. Os vegetais escolhidos para análise foram: o vegetal com casca mais frequente no cardápio, a beterraba,e o vegetal menos frequente, a abóbora.

4.3. Observação sistemática do processo de higienização de vegetais consumidos com casca.

Após a escolha dos vegetais a serem analisados foi acompanhado, por observação sistemática, o processo de higienização adotado pelos manipuladores de alimentos do serviço de alimentação durante 8 dias, sendo verificados os seguintes aspectos:A. As etapas do processo de higienização; B. O teor de cloro livre da solução clorada, através da utilização de fitas medidoras de cloro livre (Cronlimp, Rio de Janeiro); C. O tempo que o vegetal permanece de molho na solução clorada eD. Os cuidados adotados após a higienização. As informações foram obtidas foram anotadas em diário de campo.

4.4. Coleta das amostras

Foram coletadas amostras de 2 tipos de vegetais (beterraba e abóbora).Para cadavegetalforam analisadas 48 amostras, sendo: 24 amostras dos vegetaisapós o processo de higienização (ou seja, antes da utilização do processador de alimentos) e 24 amostras dos vegetaisapós o fatiamento em processador de alimentos, além disso, foram coletadas 8 amostras da lâmina do processador de alimentos. As amostras foram coletadas em 8 dias distintos, conforme a oferta destes vegetais no cardápio.Foram coletadas 200 gramasde

amostras de cadatipo de vegetal a ser analisado.Os vegetais foram coletados em sacos plásticos estéreis e transportados imediatamente em caixas refrigeradas ao laboratório.

A coleta das amostras oriundas do processador foi realizada pela técnica de esfregaço de superfície utilizando *swabs*que foram transportados em 10 mL de água peptonada a 0,1%. Foramutilizados moldes de 100 cm², sendo amostradas 4 áreas do processador. As análises microbiológicas foram realizadas no mesmo dia da coleta.

4.5. Análise microbiológica

Para determinar a qualidade microbiológica dos vegetais consumidos*in natura* ecom cascafoi realizada a contagem de coliformestermotolerantes e a pesquisa de *Salmonellaspp*, conforme preconizado pelaRDC n° 12 de 2001 (Brasil, 2001). Como análises complementares foram realizadas as contagens de bactérias mesófilas totais e *Escherichia coli*.As análises foramrealizadas segundoEvancho*et al.*(2001). Todas as análises foram realizadas em triplicata.Foram tomados como valores de referência os estabelecidos na RDC nº12 de 2001 (Brasil, 2001). O protocolo detalhado está descrito nos itens abaixo.

4.5.1. Preparo da amostra

Para as análises de coliformes totais, coliformes termotolerantes, aeróbios mesófilos e *E. coli*foram realizadas diluições seriadas da amostra. Foram utilizados 25g da amostra para ser diluída em 225 mL de água peptonada à 0,1% contendo 0,1 mLde tiossulfato de sódio 15% (v/v), de modo a inativar o cloro residual do processo de higienização. Diluições decimais seriadas foram realizadas em água peptonada à 0,1%, seguida pela homogeneizaçãoe semeada nos respectivos meios de cultivo.

4.5.2. Contagem de bactérias mesófilas totais

Para a contagem total de aeróbios mesófilos foi utilizado o método de semeadura por profundidade. Diluições seriadas decimaisforam inoculadas em placas de Petri e cobertas com Ágar Padrão para Contagem(Himedia, Índia) fundido e resfriado. As placas foram incubadas à37°C por 24 a 48 horas. Para a contagem das colônias foram selecionadas as placas que continham entre 30 a 300 colônias. Oresultadofoiexpresso em unidades formadoras de colônias por grama de amostra (UFC/g).

4.5.3. Contagem de coliformes totais

A contagem de coliformes totais foi realizada através da técnica de tubos múltiplo para a determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais na amostra. Alíquotas de 1 mL das diluições 10^{-3}, 10^{-4} e 10^{-5}foramadicionados em três tubos para cada diluiçãocontendo Caldo Lactose Bile Verde Brilhante (Acumedia, EUA), e incubados em estufa à 37 °C por 24 horas. A turvação do meio e produção de gás, observada nos tubos de Durhan, são os indicativos para o resultado positivo desta etapa. O Número Mais Provável (NMP) foideterminado através da tabela de Hoskins. O resultado obtido foi expresso em unidades formadoras de colôniaspor grama de amostra (NMP/g).Como controle positivofoiutilizada a estirpe*E. coli* ATCC25922ecomo controle negativo a estirpe *Enterococcus faecium* ATCC 35667.

4.5.4. Contagem de coliformes termotolerantes

A determinação do NMP de coliformes termotolerantesfoi realizada a partir dos tubos positivos para a pesquisa de coliformes totais. Com o auxílio de uma alça bacteriológica, aproximadamente, 10µL foram retirados de cada tubo positivo para coliformes totais e foramtransferidos para tubos contendo 5 mL de caldo EC (Himedia, India). Os tubos foramincubados em banho-maria a 45 °C por 24 a 48 horas. O NMP de coliformes termotolerantes da amostra foideterminado a partir do número de tubos positivos, que apresentarem turvação do meio e produção de gás, com auxílio da tabela de Hoskins.O resultado obtido foi expresso em NMP/g de amostra.Como controle positivofoiutilizada a estirpe*E. coli* ATCC25922ecomo controle negativo a estirpe *Enterococcus faecium* ATCC 35667.

4.5.5. Contagem de *Escherichia coli* em placas

Foi realizada a semeadura por distensão emágar Petri de ChromID coli (Biomérieux, França) com o auxílio de uma alça de Drigalsky e em seguida, as placas foram incubadas por 24 a 48 horas à 37°C. O resultado obtido foi expresso em UFC/g de amostra.

4.5.6. Identificação de*Escherichia coli*

A pesquisa para presença de *Escherichia coli*foirealizada através da pesquisa de produção da enzima beta glucuronidase, utilizando os tubos positivos da contagem de

coliformes termotolerantes, visto que a *E. coli* é um coliforme termotolerante, foram transferidas alíquotas de 10µL, com o auxílio de uma alça calibrada, dos tubos com caldo EC positivos para coliformes termotolerantes, para os tubos contendo 0,5 mL de caldo Colilert (IDEXX Laboratories, EUA). Em seguida, estes tubos foramincubados em estufa a 37 °C por 24 a 48 horas. A positividade foiconfirmada pela turvação e produção de fluorescência na presença de luz ultravioleta com comprimento de onda de 365nm. O resultado obtido foi expresso como presença ou ausência do microrganismo na amostra.Como controle positivofoiutilizada a estirpe*E. coli* ATCC25922ecomo controle negativo a estirpe*Enterococcus faecium* ATCC 35667.

4.5.7. Pesquisa de *Salmonella* spp.

Para a análise de *Salmonella*, as amostras foram submetidas a um pré-enriquecimento não seletivo, onde serão adicionados 25 gramas de cada amostra em um erlenmeyer contendo 225 mL deágua peptonada à 1% e homogeneizados mecanicamente por 30 segundos, para as amostras coletados com o auxílio de *swab* foi utilizado um volume menor da amostra, visto que os *swab*s foram colocados em apenas 10mL, mas foi mantida a mesma proporção de água peptonada à 1% para o volume da amostra coletada (1:10), seguido de incubação a 37 °C por 24 a 48 horas. A partir do pré-enriquecimento em meio não-seletivo, foi transferido 1 mL da solução para tubos contendo 10 mL de caldo tetrationato (PlastLabor, Brasil)para o enriquecimento seletivo. Os tubos foram incubados a 37 °C por 24 horas.

Após o enriquecimento seletivo, foramtransferidos 10 µL dos tubos de caldo tetrationato (Himedia, India) para os meios:ágar *Salmonella-Shigella* (SS) (KASVI, Brasil), ágar xilose lisina desoxicolato (XLD) (KASVI, Brasil) e ágar EMB (KASVI, Brasil)através da técnica de esgotamento para obtenção de culturas isoladas, facilitando a observação de suas características morfológicas. As placas, em seguida, foramincubadas em estufa a 37°C por 24 horas. Após a incubação, foiobservado o crescimento de colônias que apresentaram características típicas de *Salmonella.*Como controle positivofoi utilizada a estirpe*Salmonella typhimurium* ATCC 14028 ecomo controle negativo a estirpe *S. aureus* ATCC 25923. O resultado obtido foi expresso como presença ou ausência do microrganismo na amostra.

4.5.7.1. Identificação das estirpes de *Salmonella* spp. isoladas das amostras por espectrometria de massa do tipo MALDI-TOF

A identificação e a confirmação das estirpes de *Salmonella* spp. identificadas nas amostras foi realizada em um espectrômetro de massa - Microflex LT (Brucker, Germany), segundo as especificações do fabricante. Os critérios de identificação utilizados foram baseados na confiabilidade fornecida pelo equipamento, sendo considerados scores ≥ 2.000 em que há a identificação em nível de gênero e espécie.

4.6. Elaboração do fluxograma de higienização de vegetais com casca

Após as observações e asanálisesmicrobiológicas foi elaborado um fluxograma de higienização de vegetais com cascacomo proposta de correção dos erros observados no estabelecimento em estudo, que poderá ser adotado por qualquer tipo de serviço de alimentação. A elaboração do fluxograma foi realizada com base nas Boas Práticas de serviços de alimentação regulamentada pela RDC nº 216.

4.7. Analise estatística

Para a análise estatística os dados obtidos foram tabulados no software IBM SPSS Statistic 20 (SPSS Inc, Chicago). Como os dados não apresentaram distribuição normal foi realizado o teste não paramétrico de Wilcoxon Signed Ranks Test ou teste de postos com sinal para dados pareados, a fim de testar a hipótese nula (H_0) de que não houve diferença estatística significativa na contagem dos microrganismos pesquisados antes e após o processamento dos vegetais. Foi realizado o Teste U de Mann-Whitney para testar a hipótese nula (H_0) de que não houve diferença estatística significativa entre as contagens microbianas obtidas nas análises das abóboras e beterrabas, nos dois momentos de coleta. Para todas as análises realizadas foi considerado o nível de significância de 5%.

5. RESULTADOS

5.1. Avaliação do cardápio oferecido no serviço de alimentação

Na Tabela 7 estão apresentados os resultados da frequência dos diferentes tipos de vegetais servidos *in natura*no serviço de alimentação em estudo.

Tabela 7. Frequência dos diferentes tipos de vegetais *in natura* oferecidos nos cardápios do serviço de alimentação em estudo, ao longo de três meses, durante o ano de 2016.

Vegetais servidos em saladas cruas	Maio		Junho		Julho		Média dos três meses	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Folhosos								
Alface lisa	11	16,4	8	21,6	7	21,2	9	19,0
Alface crespa	14	20,9	8	21,6	7	21,2	10	21,0
Alface americana	12	17,9	3	8,1	3	9,1	6	13,0
Alface roxa	3	4,5	4	10,8	1	3,0	3	5,8
Chicória	9	13,4	6	16,2	5	15,2	7	14,5
Rúcula	6	9,0	3	8,1	2	6,1	4	8,0
Acelga	7	10,4	2	5,4	5	15,2	5	10,1
Agrião	5	7,5	3	8,1	3	9,1	4	8,0
Total	**67**	**100**	**37**	**100**	**33**	**100**	**46**	**100,0**
Com casca								
Beterraba	10	28,5	9	37,5	7	35	9	34,6
Cenoura	9	25,7	6	25	7	35	7	26,9
Pepino	6	20	6	25	4	20	5	19,2
Abóbora	10	28,5	3	12,5	2	10	5	19,2
Total	**35**	**100**	**24**	**100**	**20**	**100**	**26**	**100**

5.2. Processo de higienização de vegetais consumidos com cascas.

Verificou-se que os vegetais que eram servidos no cardápio do período do almoço eram higienizados um dia antes, ficando apenas o fatiamento em processador de alimentos para o dia em que o cardápio era servido. Os vegetais *in natura*servidos no período do jantar eram higienizados e processados no mesmo dia, na parte da manhã.

O processo de higienização realizado no serviço de alimentação, em estudo,está apresentado na figura 9 e o processador utilizado está representado na figura 10.

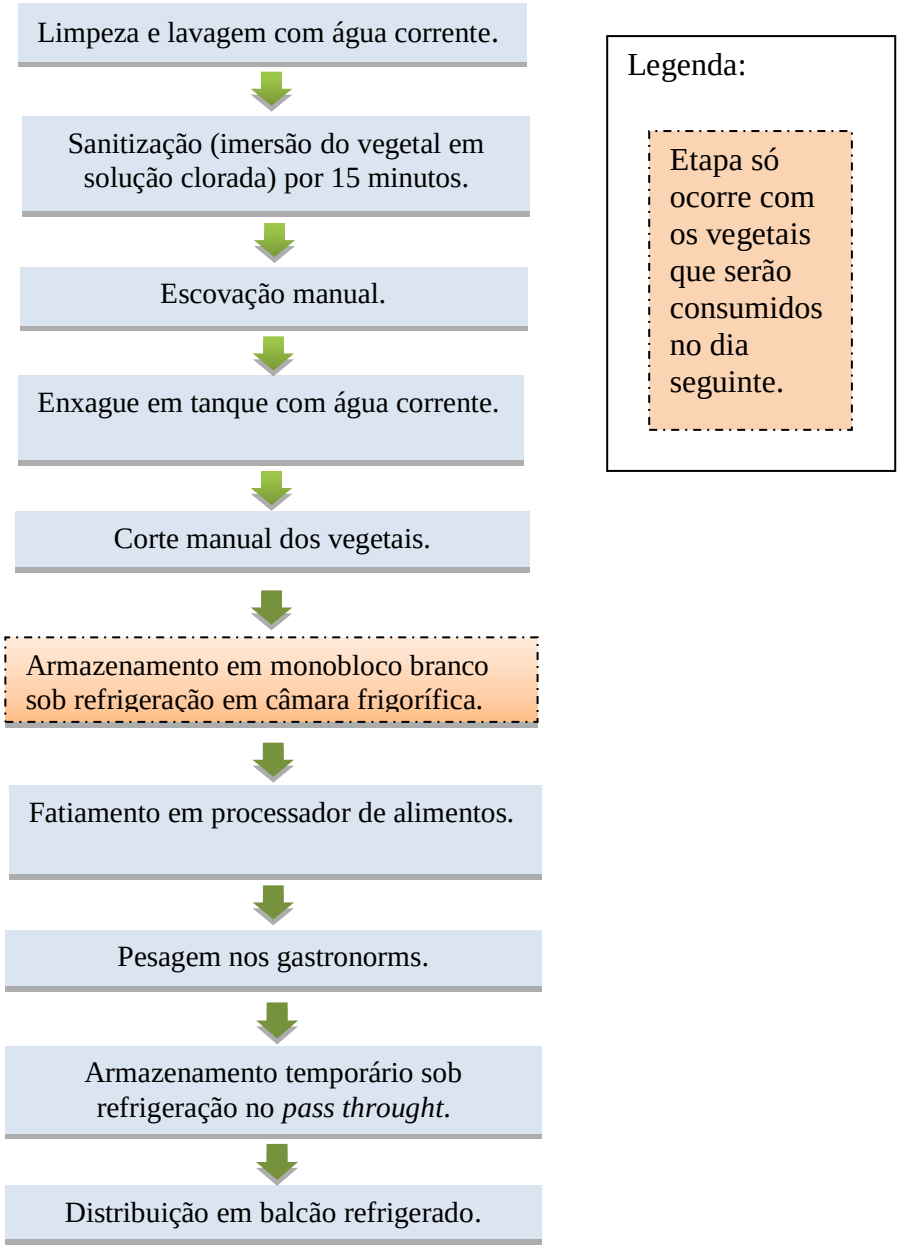


Figura 9. Fluxograma do processo de higienização e preparação de vegetais *in natura* e com casca, adotado no serviço de alimentação em estudo.

Figura 10. Processador de alimentos utilizado no processamento dos vegetais *in natura* e com cascas pelo restaurante em estudo.

Observou-se que foram utilizados dois tipos de solução sanitizante: o desinfetante de uso geral “Becker Clorex” (Figura 11a) - a solução clorada era preparada com 3 Litros do produto em 250 L de água e a água sanitária “Limpadua” (Figura 11b) em que era utilizado 100 mL de água sanitária para, aproximadamente, 250 L de água. Verificou-se que a concentração de cloro livre estava adequada (200ppm), quando o sanitizante Becker Clorex era utilizado. Quando a água sanitária foi utilizada para sanitização dos vegetais a concentração de cloro livre foi de 50 ppm, valor abaixo do recomendado (200 – 250 ppm).

Figura 11. Desinfetantesutilizados na higienização dos vegetais do serviço de alimentação em estudo.

O tempo do vegetal em contato com a solução clorada variou em todos os dias em que foram realizadas as observações, a variação desse tempo foi de 19 a 54 minutos (média = 36,5 min e DP ±24,75).

O processamento dos vegetais era realizado por mais de um funcionário e nem sempre os mesmos se comunicavam sobre o trabalho. Foi observado um episódio em que um funcionário colocou os vegetais na solução clorada e foi realizar outra atividade, outro funcionário chegou e, sem se informar com o funcionário anterior, tirou os vegetais da solução clorada e colocou em outro tanque contendo água corrente.

As não conformidades identificadas ao longo do processo de higienização de vegetais crus e com casca foram as seguintes:

- O vegetal foi escovado em água corrente após a sanitização em solução clorada.
- Em dois dias de observação, o tempo de contato do vegetal com a solução clorada ultrapassou a 30 minutos;
- Em um dos dias de observação, o teor de cloro livre da solução clorada utilizada não estava adequado (50 ppm), os funcionários responsáveis foram avisado e colocaram mais uma porção da solução clorada na água, que já estava com os vegetais, e mesmo assim não chegou a concentração adequada (100ppm).
- Nem todas as partes das abóboras ficavam em contato com a solução clorada durante a sanitização.
- O Processador de alimentose a lâmina utilizadas no processamento dos vegetais não eram higienizados de forma adequada. Verificou-se que era realizada apenas uma lavagem com água corrente para retirar as sujidades visíveis.

5.3. Análises microbiológicas.

Foram analisadas 24 amostras de abóboras e 24 de beterrabas antes e após o fatiamento em processador de alimentos. Os resultados das análises microbiológicas estão apresentados nas Tabelas 8 e 9.Apenas as amostras coletadas nos dias 27/10/16 e 21/11/2016 foram higienizadas no mesmo dia, todas as outras amostras foram coletadas de lotes higienizados no dia anterior (Tabelas 8 e 9).

Após a higienização e após o fatiamento no processador de alimentos, respectivamente, 66,6% e 100% das amostras estavam fora dos padrões microbiológicos vigentes, segundo a RDC nº 12 de 2001. Destas, 8 amostras que se encontravam adequadas

para o consumo após a higienização, se tornaram inadequada para o consumo após o fatiamento no processador (Tabelas 8 e 9). As amostras AA1, AA2, AA3, BA7, BA8, BA9, que eram higienizadas, processadas e consumidas no mesmo dia, apresentaram contagens de coliformes termotolerantes menores que $3x10^2$NMP/g, sendo consideradas adequadas para consumo humano, segundo a legislação vigente. Todas aquelas que foram higienizadas e estocadas para processamento no dia seguinte estavam fora dos padrões vigentes. *Salmonella spp*. não foi detectada em nenhuma das amostras analisadas.

Tabela 8. Análises microbiológicas dos vegetais consumidos com cascas após a higienização.

Data da Coleta	Amostra	Composição	Mesófilos (UFC/g) [a]	Coliformes totais (NMP/g) [e]	Coliformes termotolerantes (NMP/g) [e]	*Escherichia coli* (UFC/g) [a]	*Salmonella sp.*	Conclusão [b]
27/10/16	AA1 [c]	Abóbora	$1X10^5$	$< 3x10^2$	$< 3x10^2$	< 10	Ausente	ADEQUADO
	AA2 [c]	Abóbora	$2X10^5$	$< 3x10^2$	$< 3x10^2$	$5x10^2$	Ausente	ADEQUADO
	AA3 [c]	Abóbora	$3X10^5$	$7x10^2$	$< 3x10^2$	< 10	Ausente	ADEQUADO
15/11/16	AA4 [c]	Abóbora	$2,5x10^6$	$2,3x10^3$	$< 3x10^2$	< 10	Ausente	ADEQUADO
	AA5 [c]	Abóbora	$1,8x10^6$	$> 2,4x10^5$	$4x10^2$	< 10	Ausente	INADEQUADO
	AA6 [c]	Abóbora	$5,5x10^6$	$1,1x10^5$	$1,5x10^3$	$1x10^2$	Ausente	INADEQUADO
24/11/16	AA7 [c]	Abóbora	$1,4x10^7$	$1,1x10^5$	$2,3x10^3$	$6x10^2$	Ausente	INADEQUADO
	AA8 [c]	Abóbora	$2,1x10^7$	$1,1x10^5$	$4,3x10^3$	$1,9x10^3$	Ausente	INADEQUADO
	AA9 [c]	Abóbora	$1,2x10^7$	$1,1x10^5$	$1,2x10^4$	$1,1x10^2$	Ausente	INADEQUADO
28/11/16	AA10 [c]	Abóbora	$1,2x10^9$	$> 2,4x10^5$	$4,6x10^4$	$2x10^3$	Ausente	INADEQUADO
	AA11 [c]	Abóbora	$7,1x10^8$	$> 2,4x10^5$	$3,9x10^3$	$4,5x10^2$	Ausente	INADEQUADO
	AA12 [c]	Abóbora	$1,2x10^8$	$> 2,4x10^5$	$4,6x10^4$	<10	Ausente	INADEQUADO
01/11/16	BA1 [d]	Beterraba	$3,9X10^6$	$6,4x10^3$	$4x10^2$	$1x10^2$	Ausente	INADEQUADO
	BA2 [d]	Beterraba	$4,4X10^6$	$1,5x10^4$	$2,3x10^3$	< 10	Ausente	INADEQUADO
	BA3 [d]	Beterraba	$1,4X10^6$	$1,1x10^5$	$9x10^2$	< 10	Ausente	INADEQUADO
11/11/16	BA4 [d]	Beterraba	$1,5x10^6$	$2,3x10^3$	$9x10^2$	< 10	Ausente	INADEQUADO
	BA5 [d]	Beterraba	$1,9x10^6$	$> 2,4x10^5$	$4,3x10^3$	< 10	Ausente	INADEQUADO
	BA6 [d]	Beterraba	$6,6x10^8$	$4,3x10^3$	$< 3x10^2$	< 10	Ausente	ADEQUADO
21/11/16	BA7 [d]	Beterraba	$8x10^5$	$4,3x10^3$	$< 3x10^2$	< 10	Ausente	ADEQUADO
	BA8 [d]	Beterraba	$6,2x10^6$	$2,3x10^3$	$< 3x10^2$	< 10	Ausente	ADEQUADO
	BA9 [d]	Beterraba	$7x10^5$	$4,3x10^3$	$< 3x10^2$	< 10	Ausente	ADEQUADO
29/11/16	BA10 [d]	Beterraba	$4,1x10^6$	$4,6x10^4$	$9x10^2$	< 10	Ausente	INADEQUADO
	BA11 [d]	Beterraba	$1,8x10^7$	$1,5x10^4$	$4x10^2$	< 10	Ausente	INADEQUADO
	BA12 [d]	Beterraba	$3,5x10^6$	$> 2,4x10^5$	$1,5x10^4$	< 10	Ausente	INADEQUADO
Limites aceitáveis pela legislação [f]			**NE [g]**	**NE [g]**	**$<10^2$**	**NE [g]**	Ausente	

[a] UFC/g = Unidades Formadoras de Colônias por grama; [b] Conclusão = adequado ou inadequado para consumo humana de acordo com a legislação vigente (RDC nº 12 de 2001); [c] AA = Abóbora Antes do processador; [d] BA = Beterraba Antes do processador; [e] NMP= Número Mais Provável; [f] RDC 12 de 2001; [g] NE = Não estabelece.

Tabela 9. Análises microbiológicas dos vegetais consumidos com cascas após o corte em processador de alimentos.

Data da Coleta	Amostra	Composição	Mesófilos (UFC/g) [a]	Coliformes totais (NMP/g) [e]	Coliformes termotolerantes (NMP/g) [e]	*Escherichia coli* (UFC/g) [a]	*Salmonella sp.*	Conclusão [b]
27/10/16	AD1 [c]	Abóbora	$1,4X10^7$	$1,1x10^5$	$1,1x10^5$	< 10	Ausente	INADEQUADO
	AD2 [c]	Abóbora	$8X10^6$	$> 2,4x10^5$	$2,4x10^4$	$5x10^2$	Ausente	INADEQUADO
	AD3 [c]	Abóbora	$7,3X10^6$	$> 2,4x10^5$	$2,3x10^3$	$2,2x10^3$	Ausente	INADEQUADO
15/11/16	AD4 [c]	Abóbora	$9x10^7$	$> 2,4x10^5$	$< 3x10^2$	$1x10^2$	Ausente	INADEQUADO
	AD5 [c]	Abóbora	$2x10^9$	$> 2,4x10^5$	$1,5x10^3$	$1x10^3$	Ausente	INADEQUADO
	AD6 [c]	Abóbora	$4x10^7$	$1,1x10^5$	$9,3x10^3$	$5x10^2$	Ausente	INADEQUADO
24/11/16	AD7 [c]	Abóbora	$4,4x10^9$	$> 2,4x10^5$	$4,6x10^4$	$8x10^2$	Ausente	INADEQUADO
	AD8 [c]	Abóbora	$6,8x10^8$	$> 2,4x10^5$	$2,5x10^4$	$4,2x10^3$	Ausente	INADEQUADO
	AD9 [c]	Abóbora	$1,6x10^7$	$> 2,4x10^5$	$2,4x10^4$	$2,1x10^3$	Ausente	INADEQUADO
28/11/16	AD10 [c]	Abóbora	$1,8x10^9$	$> 2,4x10^5$	$> 2,4x10^5$	$4x10^2$	Ausente	INADEQUADO
	AD11 [c]	Abóbora	$6,2x10^9$	$> 2,4x10^5$	$> 2,4x10^5$	$1,2x10^2$	Ausente	INADEQUADO
	AD12 [c]	Abóbora	$1x10^9$	$> 2,4x10^5$	$1,1x10^5$	$6,9x10^4$	Ausente	INADEQUADO
01/12/16	BD1 [d]	Beterraba	$4,8X10^6$	$> 2,4x10^5$	$1,1x10^5$	< 10	Ausente	INADEQUADO
	BD2 [d]	Beterraba	$2X10^7$	$> 2,4x10^5$	$2,3x10^3$	< 10	Ausente	INADEQUADO
	BD3 [d]	Beterraba	$2X10^7$	$> 2,4x10^5$	$9,3x10^3$	< 10	Ausente	INADEQUADO
11/11/16	BD4 [d]	Beterraba	$5,4x10^6$	$> 2,4x10^5$	$9x10^2$	< 10	Ausente	INADEQUADO
	BD5 [d]	Beterraba	$1,2x10^6$	$2,4x10^4$	$9,3x10^3$	< 10	Ausente	INADEQUADO
	BD6 [d]	Beterraba	$1,2x10^9$	$4,6x10^4$	$< 3x10^2$	$1x10^4$	Ausente	INADEQUADO
21/11/16	BD7 [d]	Beterraba	$1,4x10^7$	$9,3x10^3$	$1,5x10^3$	< 10	Ausente	INADEQUADO
	BD8 [d]	Beterraba	$1,4x10^7$	$4,6x10^4$	$4,3x10^3$	< 10	Ausente	INADEQUADO
	BD9 [d]	Beterraba	$3,6x10^6$	$9,3x10^3$	$9x10^2$	< 10	Ausente	INADEQUADO
29/11/16	BD10 [d]	Beterraba	$6,6x10^8$	$> 2,4x10^5$	$> 2,4x10^5$	$4x10^2$	Ausente	INADEQUADO
	BD11 [d]	Beterraba	$1,5x10^9$	$> 2,4x10^5$	$> 2,4x10^5$	$1x10^4$	Ausente	INADEQUADO
	BD12 [d]	Beterraba	$3x10^9$	$> 2,4x10^5$	$> 2,4x10^5$	< 10	Ausente	INADEQUADO
Limites aceitáveis pela legislação [f]			**NE [g]**	**NE [g]**	**$<10^2$**	**NE [g]**	Ausente	

[a] UFC/g = Unidades Formadoras de Colônias por grama; [b] Conclusão = adequado ou inadequado para consumo humana de acordo com a legislação vigente (RDC nº 12 de 2001); [c] AD = Abóbora Depois do processador; [d] BD = Beterraba Depois do processador; [e] NMP= Número Mais Provável; [f] RDC 12 de 2001; [g] NE = Não estabelece.

Houve diferença estatísticamente significativa na contagem dos microrganismos pesquisadosantes e após o processamento dos vegetais (Tabela 10). Embora, antes do processamento, as abóboras e as beterrabas tenham apresentado contagens superiores ao estabelecido pela legislação RDC 12/2001 constatou-se que essas eram ainda maiores após a utilização do processador de alimentos, o que sugere falha na adoção das boas práticas de manipulação.

Tabela 10. Média da contagem dos microrganismos pesquisados obtidas antes e após o processamento dos vegetais.

Etapas	**Microrganismos pesquisados**			
	Bactérias mesófilas totais	**Coliformes totais**	**Coliformes termotolerantes**	***Escherichia coli***
	(UFC/g)*			
Antes processamento	$1,16x10^8$	$8,7x10^4$	$5,9x10^3$	$2,4x10^2$
Após processamento	$9,4x10^8$	$1,8x10^5$	$7,0x10^4$	$4,2x10^3$
p-valor	<0,001	0,001	<0,001	0,014

* UFC/g = Unidades Formadoras de Colônias por grama

A contagem de bactérias mesófilas foi superior a 10^7 UFC/g em 8 das 24 amostras (33,3%) obtidas após a sanitização e antes da utilização do processador e alimentos, enquanto que após o fatiamento pelo processador este número subiu para 18 amostras (75%). Da mesma forma, E. coli foi detectada em 8 amostras (33,3%) antes do processador e em 14 amostras (58,3%) após a utilização do processador.

Ao analisar a contagem dos microrganismos pesquisados para cada tipo de vegetal analisado observou-se diferença estatisticamente significativa na contagem de *E. coli* entre os vegetais tanto antes (p=0,007), como após o processo de higienização (p=0,012). Antes do processamento 91,6% das beterrabas e 42,6% das aboboras estavam adequadas para o consumo humano e após o processamento, estes percentuais reduzirampara 75% e 16,6%, respectivamente,beterrabas eabóboras. Na Tabela 11 estão apresentados os percentuais de vegetais adequados para consumo humano, antes e após o processo de higienização.

Tabela 11. Porcentagem de amostras que não apresentaram contagens de *E. coli*.

	Alimento	
Momento da coleta	Abóbora	Beterraba
Antes do processador	42,60%	91,6%
Depois do processador	16,60%	75%

Todas as amostras do processador de alimentos analisadas estavam fora dasrecomendaçõesmicrobiológicas (Silva Júnior, 2007) para superfícies que entram em contato com alimentos (Tabela 12).

Tabela 12. Análises microbiológicas do processador de alimentos.

Amostra	**Mesófilos (UFC/cm^2)[a]**	**Coliformes totais (NMP/cm^2)[c]**	**Coliformes termotolerantes (NMP/cm^2)[c]**	***Escherichia coli* (UFC/cm^2)[a]**	***Salmonella sp.***
Pro1	$4,8x10^6$	$> 2,4x10^5$	$2,3x10^3$	< 10	Ausência
Pro2	$2X10^5$	$1,5x10^4$	$4x10^2$	$1x10^2$	Ausência
Pro 3	$4,2x10^6$	$2,4x10^4$	$4,3x10^3$	< 10	Ausência
Pro 4	$2x10^9$	$> 2,4x10^5$	$2,4x10^4$	< 10	Ausência
Pro 5	$2x10^7$	$2,4x10^4$	$9x10^2$	< 10	Ausência
Pro 6	$3,1x10^7$	$> 2,4x10^5$	$1,5x10^4$	< 10	Ausência
Pro 7	$9x10^7$	$> 2,4x10^5$	$1,1x10^5$	$3,8x10^3$	Ausência
Pro 8	$1,8x10^9$	$> 2,4x10^5$	$9x10^3$	<10	Ausência

[a] UFC/g = Unidades Formadoras de Colônias por grama; [b] Pro = Processador; [c] NMP= Número Mais Provável.

5.4. Elaboração do fluxograma de higienização de vegetais com casca.

Após a detecção das não conformidades e análises microbiológicas foramapresentadas as seguintes recomendações:

- O tempo de contato do vegetal com a solução clorada deve ser de no mínimo 15 minutos e toda superfície do alimento deve estar em contato com a mesma;
- O teor de cloro livre da solução clorada utilizada deve ser de 200 ppm;

- O processador e todos os utensílios utilizados no processamento dos vegetais devem ser adequadamente higienizados.

Estas recomendações serão anexadas ao fluxograma elaborado com base no estudo realizado e entregues ao gestor do serviço de alimentação (Figura 12).

O fluxograma proposto foi elaborado visandoadequar o processo de higienização dos equipamentos (processador de alimentos) e dos vegetais que serão consumidos crus e com casca. Deve-se atentar para que a escovação manual seja realizada antes da sanitização e que a higienização dos vegetaisocorra no mesmo dia do processamento e consumo.

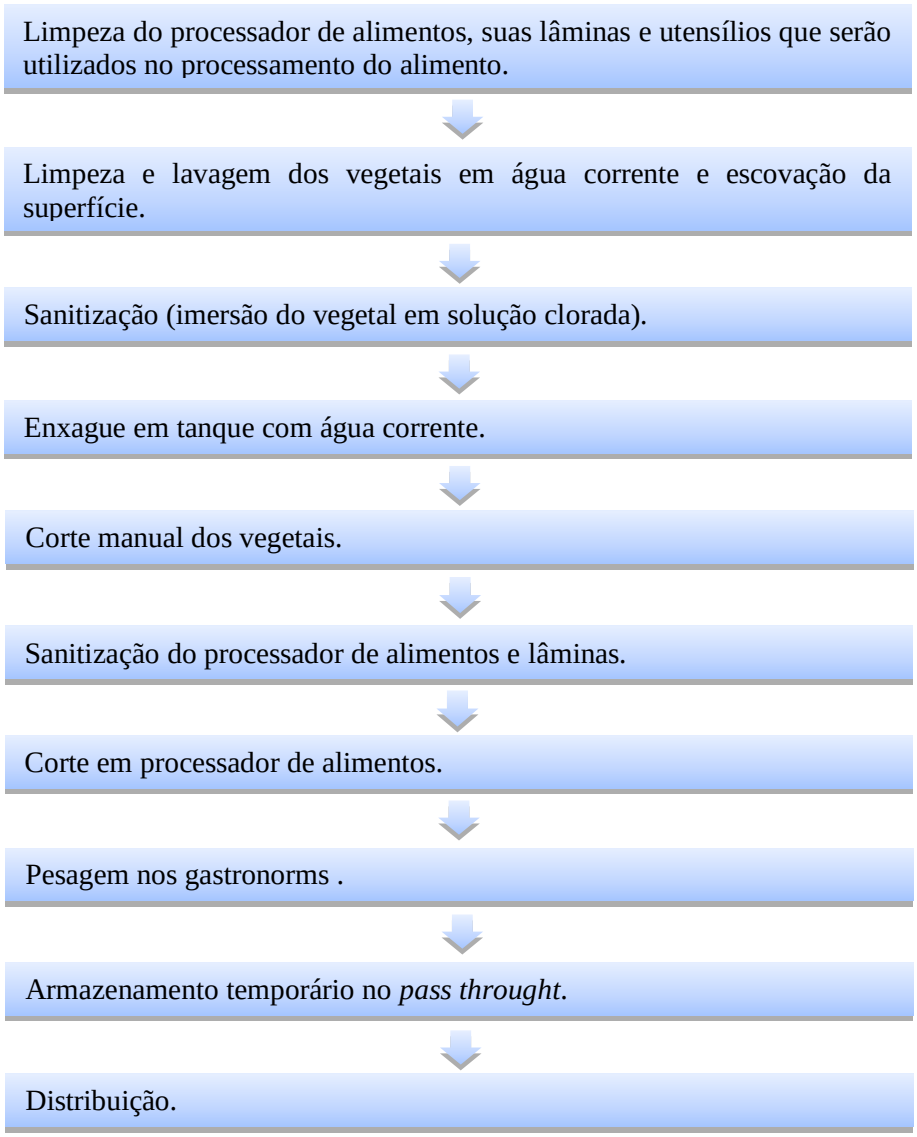


Figura 12–Fluxograma proposto para o processo de higienização de vegetais *in natura* e com casca.

6. DISCUSSÃO

Melhorias no processo produtivo de refeições e na segurança dos alimentos devem caminhar juntas. No entanto, a implementação de modificações no processo produtivo deve ser cuidadosamente estudada, de modo a garantir que os objetivos sejam atingidos, sem causar danos à saúde dos consumidores. Uma das modificações recentes implementadas nos serviços de alimentação é a utilização integral dos alimentos de origem vegetal, contendo partes como as cascas e talos, que até recentemente eram descartadas. Esta medida tem sido adotada para minimizar o desperdício de alimentos e os danos causados ao meio ambiente com a disposição inadequada dos resíduos gerados. Ainda que esta modificação represente uma melhoria para os serviços de alimentação, e consequentemente, para a economia mundial, cuidados nesta prática devem ser tomados de modo a minimizar os riscos de surtos de DTA.

No presente estudo, ao avaliar o processo de higienização dos vegetais que eram consumidos crus e com casca foram identificadas não conformidades associadas, principalmente, com as atividades desenvolvidas pelos manipuladores de alimentos. As etapas referentes a lavagem em água corrente, escovação e sanitização eram executadas pelos manipuladores sem entendimento da sequência, da importância e dos cuidados a serem adotados na execução de cada uma. Em uma das observações realizada, a escovação da casca das abóborasfoi realizada após a higienização com cloro. A escovação é uma etapa importante do processo de higienização, pois há remoção de sujidades grosseiras e microrganismos aderidos, no entanto quando essa é realizada após a sanitização pode ocorrer a recontaminação do alimento. Esta recontaminação pode acarretar na realização de um novo processo de higienização, perda da qualidade das refeições servidas *in natura* e alerta para a necessidade de capacitação dos manipuladores de alimentos, com o intuito de minimizar falhas no processo.

Em um estudo realizado por Mello *et al.* (2010) foi avaliado o nível de conhecimento dos manipuladores sobre boas práticas nos restaurantes públicos populares do Estado do Rio de Janeiro, onde 69% (n=72) dos manipuladores haviam sido capacitados e, dentre esses, 46,6%(n=48) manipuladores passaram por um processo de treinamento em um período igual ou maior que seis meses. Caferatte *et al.* (2007) avaliaram o nível de conhecimento dos manipuladores sobre boas práticas, em serviços de alimentação de Santa Maria e constataram que 100% dos entrevistados afirmavam ter conhecimento sobre as Boas Práticas. Os autores ainda observaram que 50% dos estabelecimentos avaliados

relataram não tinham conhecimento da Resolução RDC nº 216 de 2004, que dispõe sobre Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação (Caferatte *et al.*, 2007).

A inadequação na adoção de medidas de boas práticas pelos manipuladores de alimentos durante o processo de higienização de vegetais refletiu nas contagem microbianas obtidas nos vegetais e no processador de alimentos. Como foi verificado 100% das amostras (AA1, AA2, AA3, BA7, BA8, BA9) que foram higienizadas, processadas e consumidas no mesmo dia estavam próprias para consumo humano após a higienização. No entanto, 11,1% das amostras que foram higienizadas no dia anterior ao processamento e consumo apresentaram adequação para consumo humano. Logo, fica evidente a necessidade de adoção de medidas de boas práticas para assegurar a qualidade dos vegetais servidos. Desta forma, sugere-se que os vegetais que serão consumidos *in natura*sejam higienizados e processados no mesmo dia em que serão consumidos, visando minimizar o tempo com que ficam em contato com o ambiente e armazenado nos monoblocos sob refrigeração, na câmara frigorífica.

Além disso, é importante que sejam implementados métodos para a higienização do processador de alimentos, visto que o mesmo não era higienizado de forma adequada e que todas as amostras coletadas após o processamento estavam inadequadas para consumo humano. Os equipamentos quando não são higienizados de forma correta podem contribuir para a contaminação cruzada, acarretando na perda da qualidade dos alimentos, principalmente daqueles que serão consumidos *in natura.* A Resolução RDC 216/2004 (Brasil, 2004) recomenda que os equipamentos e os utensílios devem ser mantidos em condições higiênico-sanitárias apropriadas e que as operações de higienização devem ser realizadas frequentemente para minimizar o risco de contaminação do alimento.

No presente estudo, as não-conformidades observadas estavam relacionadas com a manipulação inadequada durante o processo de higienização dos vegetais e equipamento desta forma, sugere-se que esses temas sejam abordados na capacitação dos manipuladores de alimentos. As não conformidades refletiram nos resultados das análises microbiológicas dos alimentos, uma vez que após o processamento, todas as amostras estavam impróprias para consumo.

A presença de microrganismos patogênicos na superfície de vegetais tem sido evidenciada em alguns estudos, como o estudo realizado por Reina, Fleming e Jr. (2002), que demonstraram a adesão de diversas bactérias como*Salmonella Typhimurium*, *L.*

monocytogenes e *Staphyococcus aureus*na superfície de pepino e observaram que essa adesão depende do tempo de incubação, da concentração do inoculo, das espécies e da temperatura. Já Leff e Fierer (2013) analisaram comunidades bacterianas associadas com superfícies de frutas e legumes frescos e constataram comunidades microbianas completamente distintas, porém alguns tipos de alimentos, como a couve, alface, pimentas, tomates, espinafre e morangos, apresentavam grande quantidade de bactérias pertencentes à família Enterobacteriaceae, enquanto que outro grupo de alimentos (uvas, maças, cogumelos e pêssegos) apresentaram outros tipos de microrganismos, como aqueles pertencentes as famílias: Actinobacteria, Bacteroidetes, Firmicutes, etc.

A eficácia dos métodos de higienização empregados é fundamental para a redução ou eliminação dos microrganismos. No presente estudo, falhas no uso e concentração de cloro livre abaixo do adequado podem ter acarretado a ativação do estado de estresse por alguns microrganismos, como *Salmonella*, *Shigella* e *E. coli* (Byrne *et al.*, 2014; Chung, Bang, e Drake, 2006). A indução de proteínas de estresse aumenta a resistência dos microrganismos a outros estímulos físicos e químicos. O aumento da resistência e da sobrevida de *Escherichia coli* patogênica a condições ácidas de determinados alimentos após o estresse induzido por adaptação química à ácidos foi estudado por Leyer e Johnson (1992, 1993). Em estudos realizados por Campbell *et al.* (2004) foi possível observar que a temperatura de crescimento de *Escherichia coli* afetou a sua tolerância à ambientes ácidos. Redução da tolerância ao meio ácido foi observada quando colocadas em temperaturas mais baixas, como 15 ºC, quando comparados com os controles. Desta forma, a falha na higienização pode ser responsável por aumentar a resistência de patógenos microbianos a ambientes ácidos, facilitando sua passagem pela barreira ácida do estomago, o que possibilita a ocorrência de DTA.

Uma causa importante da inadequação da qualidade microbiológica dos alimentos era causada pelofatiamento no processador de alimentos. No serviço de alimentação não foi observada a sanitização adequada do equipamento, antes, durante e após o uso. Levando-se em consideração que determinados microrganismos patogênicos como *Listeria monocytogenes* podem formar biofilme, e consequentemente causar uma série de DTA, esta representa uma das principais não conformidades encontradas no restaurante, uma vez que todos os alimentos vegetais fatiados servidos nos cardápios são processados neste equipamento.

A presença de *E. coli* no processador de alimentos indica a contaminação de origem fecal e potencial presença de outros enteropatógenos. Apesar de *Salmonella* não ter sido detectada em nenhuma amostra, isto não exclui a presença de outros patógenos. A presença de patógenos em equipamentos como processadores de alimentos foi detectada por Sá *et al.* (2016), que identificaram *S. aureus*, *Clodosporium* sp. e *Aspergillus*sp.em fatiadores de5 estabelecimentos de panificação da cidade de Araguari-MG. Um estudo realizado por Rubin *et al*. (2012), que pesquisaram a presença de patógenos indicadores nas superfícies de 8 Unidades de Alimentação e Nutrição, encontrou*Salmonella* em amostras de panos de pratos de 3 estabelecimentos, assim como nas esponjas de outros 2 estabelecimentos. No mesmo estudo, foi relatada a presença de *S. aureus* nas mãos de manipuladores de um dos estabelecimentos avaliados. Desta forma, a adoção de procedimentos de sanitização de superfícies que entram em contato com alimentos são uma etapa importante no processo produtivo de refeições.

Para garantir a inocuidade das superfícies a validação dos métodos deve ser acompanhada pelo monitoramento microbiológico. Estudo realizado por Lund *et al*. (2005) mostrou a redução da contagem de coliformes termotolerantes após diferentes técnicas de sanitização em mandioca minimamente processada, para isto foram utilizados diversos agentes sanitizantes em diferentes concentrações, com o objetivo de comprovar, a partir dos resultados, que um desses procedimentos de higienização é consistente e seguro. Os resultados evidenciaram a existência de uma diferença significativa entres os sanitizantes utilizados para reduzir a quantidade de coliformes termotolerantes, onde o hipoclorito de sódio a 200ppm de cloro ativo por 15 minutos foi o mais eficiente, o que valida este procedimento como adequado.

Desta forma, embora o aproveitamento integral dos alimentos seja uma medida importante para a redução dos resíduos gerados nos serviços de alimentação, a fim de minimizar o desperdício e danos ao meio ambiente, medidas de boas práticas devem adotadas para assegurar a qualidade higiênico-sanitária dos vegetais que serão consumidos de forma *in natura* e com casca.

7. CONCLUSÃO

- Neste estudo foram detectadas falhas no processo de higienização de vegetais que eram consumidos *in natura* e com casca associadas à inadequação dos procedimentos de manipulação adotados pelos manipuladores de alimentos.
- Todos os vegetais processados servidos crus e com casca estavam inadequados para o consumo humano, sendo necessário adotar medidas corretivas no processo de higienização.
- A higienização inadequada do processador de alimentos pode ter contribuído para contaminação dos vegetais processados que eram servidos crus e com casca.
- A fim de auxiliar na adoção de medidas de boas práticas foi proposto um fluxograma para nortear a adoção de medidas de boas práticas durante o processo de higienização de vegetais que serão consumidos *in natura* e com casca.
- Maior atenção deve ser dispensada para a higienização adequada do processador de alimentos a fim de que não seja fonte de contaminação no serviço de alimentação.
- A realização de nova capacitação para os manipuladores de alimentos a fim de orientar a adoção de medidas de boas práticas durante o processo de higienização, se faz necessária.
- Serão elaboradas instruções de trabalho e os resultados obtidos serão apresentados para os gestores do serviço de alimentação em estudo para adequação do processo de higienização de vegetais.
- Com este estudo pretendeu-se avaliar o processo de higienização de vegetais consumidos *in natura* e com casca, no entanto, novas pesquisas serão realizadas a fim de validar a higienização do processador de alimentos utilizado nesta etapa do processo produtivo.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABERC (2016). Associação Brasileira das Empresas de Refeições Coletivas. *Mercado real*. Disponível em: http://www.aberc.com.br/base.asp?id=2. Acesso em: 08/07/2016.

Abreu,E.S.,Spinelli,M.G.N. e Pinto, A.M.S. (2003). Gestão de unidades de alimentação e nutrição: um modo de fazer. (São Paulo: Metha), 140p.

AYCICEK, H.; OGUZ, U.; KARCI, K.. Comparison of results of ATP bioluminescence and tradicional hygiene swabbing methods for the determination of surface cleanliness at a hospital kitchen. Int.J.Hyg. Environ-Health.; 209, 203-206, 2006.

Almeida, A.G., Resende, A. (2012). Análise microbiológica em alfaces (Lactuca sativa L.) e couve (Brassica oleracea L.) minimamente processadas e comercializadas em Brasília – DF. Saúde e Biologia 7, 52-59.

Alves, M. G. e Ueno, M. (2010). Restaurantes self-service: segurança e qualidade sanitária dos alimentos servidos. *Revista de Nutrição*. 23, 573-580.

Andrade, N.J. (2008). Higiene na indústria de alimentos: avaliação e controle da adesão e formação de biofilmes bacterianos, volume 1 (São Paulo: Varela), p. 206.

Augustini, V.C.M., Kishimoto, P., Tescaro, T.C., Almeida, F.Q.A. (2008). Avaliação do índice de resto-ingesta e sobras em unidade de alimentação e nutrição (uan) de uma empresa metalúrgica na cidade de Piracicaba/SP. Simbio-Logias 1, 99 – 110.

Badaró, A.C., Azeredo, R.M.C. e Almeida, M.E.F. (2007). Vigilância Sanitária de Alimentos: Uma Revisão. Nutrir Gerais 1, e1982-5188.

Badawi, C. (2009). Aproveitamento integral dos alimentos: melhor sobrar do que faltar. Disponível em: http://www.biologia.seed.pr.gov.br/arquivos/File/sugestoes_atividades_pdf/aproveitamento_alimentos.pdf.

Brasil. (2001). Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC N° 12: Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Brasil: Diário Oficial da União, 2001. 48 p. Disponível em: http://www.abic.com.br/publique/media/CONS_leg_resolucao12-01.pdf. Acesso em: 08/07/2016.

Brasil. (2004a). Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC n°216, de 15 de setembro de 2004. Dispõe sobre Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação. http://www.paulinia.sp.gov.br/downloads/RDC_N_216_DE_15_DE_SETEMBRO_DE_2004.pdf

Brasil. (2004b) Angência de Vigiância Sanitária.Cartilha sobre Boas Práticas para Serviços de Alimentação Resolução-RDC nº 216/2004Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa). Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/divulga/public/alimentos/cartilha_gicra_final.pdf. Visualizado em: 13/04/16.

Brasil. (2007). Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. O papel dos bancos de alimentos na redução do desperdício dos alimentos. Disponível em: www.ctaa.embrapa.br.

Brasil. (2009). Agencia Nacional de Vigilância Sanitária. Gerência de Inspeção e Controle de Riscos de Alimentos – GICRA. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/ALIMENTOS/fiscalizacao_alimentos.pps. Acessado em: 04/07/2016.

Brasil. (2010). Ministério da Saúde.Manual integrado de vigilância, prevenção e controle de doenças transmitidas por alimentos. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_integrado_vigilancia_doencas_alimentos.pdf. Acessado em: 10/06/2016.

Brasil. (2014[a]).Ministério da Saúde. Guia alimentar para a população brasileira. 2. ed., (Brasília: Ministério da Saúde), 156f.

Brasil. (2014[b]). Ministério de Saúde. Vigilância Epidemiológica das Doenças Transmitidas por Alimentos. Disponível em: http://www.anrbrasil.org.br/new/pdfs/2014/3_PAINEL_1_ApresentacaoRejaneAlvesVigilanciaEpidemiologica-VE-DTA-Agosto_2014_PDF.pdf. Acesso em: 08/07/2016.

Brasil. (2016). Ministério da Saúde. Surtos de doenças transmitidas por alimentos no Brasil. Disponível em: http://portalsaude.saude.gov.br/images/pdf/2016/junho/08/Apresenta----o-Surtos-DTA-2016.pdf. Acessado em 05/07/2016.

Byrne, L., Fisher, I., Peters, T., Mather, A., Thomson, N., Rosner, B., Bernard, H., McKeown, P., Cormican, M., Cowden, J., Aiyedun, V., Lane, C. (2013). A multi-country outbreak of Salmonella Newport gastroenteritis in Europe associated with watermelon from Brazil, confirmed by whole genome sequencing: October 2011 to January 2012. Euro Surveill, 19, 1 - 8.

Caferatte, G., Piovesan, C. B., Belmonte, F. P., Saccol, A. L. F., Stangarlin, L. (2007). Nível de conhecimento em boas práticas em serviços de alimentação da cidade de Santa Maria - RS - Disc. Scientia. Série: Ciências da Saúde, 8, 63-70.

Calil, E.M.B., Ferreira F.L.A., Brazão, C.S., Sovenhi, C.C. (2013). Qualidade microbiológica de saladas oferecidas em restaurantes tipo self-service. Atlas da Saúde Ambiental -ASA 1, e2357-7614.

Campbell, J., Bang, W., Isonhood, J., Gerard, P. D., Drake, M. A. (2004). Effects of salt, acid, and MSG on cold storage survival and subsequent acid tolerance of Escherichia coli O157:H7. Food

Microbiol, 21, 727–735.

Castro, M.H.C.A. (2002). Fatores determinantes de desperdício de alimentos no Brasil: Diagnóstico da situação. Monografia (Especialização em Gestão de Qualidade em Serviços de Alimentação) – Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, 93f.

CDC. (2015)Centers for Disease Control and Prevention. Surveillance for Foodborne-Disease Outbreaks - United States, 2009-2010**.** Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR). Disponível em: https://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm6443a4.htm?s_cid=mm6443a4_w. Acesso em: 10 outubro 2016.

CFN (2005). Conselho Federal de Nutricionistas. RESOLUÇÃO CFN N°380/2005. Disponível em: http://www.cfn.org.br/novosite/pdf/res/2005/res380.pdf. Acesso em jul., 2016.

Chung, H.J., Bang, W., Drake, M.A. (2006). Stress Response of Escherichia coli. Comprehensive reviews in food science and food safety, 5, 52 – 64.

CVS (1999). Centro de Vigilância Sanitária. Portaria nº 6, de 10 de março de 1999. Regulamento técnico que estabelece os parâmetros e critérios para o controle higiênico-sanitário em estabelecimentos de alimentos. Disponível em: http://www.cvs.saude.sp.gov.br/zip/E_PT-CVS-06_100399.pdf.

Della Modesta, R. C. (1994). Manual de análise sensorial de alimentos e bebidas. EMBRAPA/CTAA, 3 v., 245p.

Domene, S.M.A. (2011). Técnica Dietética: teoria e aplicações, 1ª edição (Rio de Janeiro: Guanabara Koogan), pp. 126 – 128.

Evancho, G.M., Sveum, W.H., Moberg, L.J., & Frank, J.F. (2001). Microbiological Monitoring of the Food Processing Environment. In: Compendium of methods for the microbiological examination of foods. Edited by Downes, F.P., Ito, K., Washington, DC, USA.

Fantuzzi, E., Puschmann, R., Vanetti, M.C.D. (2004). Microbiota contaminante em repolho minimamente processado. Ciência e Tecnologia de Alimentos 24, 207–211.

Favero, M. S., Mcdade, J. J., Robertsen, J. A., Hoffman, R. K., Edwards R. W. (1968). Microbiological sampling of surfaces. J. appl. Bact, 31, 336-343.

Forsythe, S. J. (2002).Microbiologia da segurança alimentar., eds. (Port Alegre: Ed Artmes), 424p.

FAO (2016). Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura. Pérdidas y desperdicios de alimentos en América Latina y el Caribe. Boletín 3, Febrero de 2016. Disponível em: http://www.fao.org/3/a-i5504s.pdf. Acessado em: 27/06/2016.

Farias, J.K.R., Pereira, M.M.S. e Figueiredo, E.L. (2011). Avaliação de boas práticas e contagem de alimentação hospitalar do Município de São Miguel do Guamá – Pará. Alimentos e Nutrição22, 113–119.

Fiori, C.B., Saciotto, B., Roder, A.C., Pousa, L.M., Masiero, C.E. e Torossian, M.M.F. (2008). Análise microbiológica no desenvolvimento da esfiha de tilápia para adolescentes. Resumo. In anais eletrônico do 6º Simposio de Ensino de Graduação da UNIMEP. Piracicaba, SP. Disponível em: http://www.unimep.br/phpg/mostraacademica/anais/6mostra/4/346.pdf.

Franco, B.D.G.M. (2014). Análise microbiológica de alimentos: importância do plano de amostragem. Food Safety Brazil: segurança de alimentos, São Paulo, 27 set. 2014. Disponível

em:http://foodsafetybrazil.org/analise-microbiologica-de-alimentos-importancia-do-plano-de-amostragem/.Acesso em: 10 mai. 2016.

Glasel, J. Importance of correct sampling and swabbing in ICM programs. Disponivel em: http://www.kaivac.com/a_53-The_Importance_of_Correct_Sampling_and_Swabbing_in_ICM_Programs. Acesso em: set., 2011.

Gondim, J.A.M., Moura, M.F.V., Dantas, A.S, Medeiros, R.L.S. e Santos, K.M. (2005). Composição centesimal e de minerais em cascas de frutas. Ciência e Tecnologia de Alimentos25, 825–827.

IBGE (2010). Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009: Despesas, Rendimentos e Condições de Vida. Rio de Janeiro. Disponível em: http://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv45130.pdf. Acesso em: 08/07/2016.

ICMSF (2006). International Commission on Microbiological Specifications for Foods. A simplified guide to understanding and using food safety objectives and performance objectives. 2006. Disponível em: http://www.icmsf.org/pdf/FSO%20Ojectives/GuiaSimplificadoPO.pdf. Acesso em jul. 2016.

Jacomino, A.P., Arruda M.C., Moreira, R.C. e Kluge, R.A. (2004). Processamento mínimo de frutas no Brasil. Resumo. In Anais do Simposium "Estado actual del mercado de frutos y vegetales cortados em Iberoamérica". San José, Costa Rica. p.79-86.

Kawasaki, V.M., Cyrillo, D.C. e Machado, F.M.S. (2007). Sistematização de dados de tempo e temperatura para avaliação da segurança higiênico-sanitária, em unidades de alimentação e nutrição. Hig Aliment. 21, 35-40.

Leff, J. W., Fierer, N. (2013). Bacterial communities associated with the surfaces of fresh fruits and vegetables. PLoS ONE, 8, 1 – 9.

Leyer, G. J., Johnson, E. A. (1992). Acid adaptation promotes survival of Salmonella spp. in cheese. Appl Environ Microbiol 58, 2075–2080.

Leyer, G. J., Johnson, E. A. (1993). Acid adaptation induces cross-protection against environmental stresses in Salmonella typhimurium. Appl Environ Microbiol 59, 1842–1847.

Lima, A.W.O., Sousa, C.P. (2002). Infecções e intoxicações alimentares. In: Aspectos daciência e tecnologia de alimentos. (João Pessoa: Nova Ideia), pp.175-199.

Lima, E.N.S., Mendes, R.A., Amaral, A.B., Carrijo, K.F. (2015). Análise microbiológica de sal das e água servidas em um restaurante universitário do triângulo mineiro, minas gerais, brasil. Enciclopédia biosfera 11, 3176 – 3185.

Lund, D. G., Petrini, L. A., Aleixo, J. A. G., Rombaldi, C. V. (2005). Uso de sanitizantes na redução da carga microbiana de mandioca minimamente processada. Ciência Rural, 35, 1431-1435.

Medeiros, L., Dall'Agnol, L.P., Botton, S.A., Smaniotto, H., Potter, R., Campos, M.M.A., Mattos, K.M., e Lopes, L.F.D., Sangionil, L.A. (2013). Qualidade higiênico-sanitária dos restaurantes cadastrados na Vigilância Sanitária de Santa Maria, RS, Brasil, no período de 2006 a 2010. Ciência rural, 43, 81–86.

Mello, A. G., Gama, M. P., Marin, V. A., Colares, L. G. T. (2010). Conhecimento dos manipuladores de alimentos sobre boas práticas nos restaurantes públicos populares do Estado do Rio de Janeiro. Braz. J. Food Technol., 13, 60-68.

Menezes, L.M., Moreira, V.S. (2012). Análise Microbiológica de Abóbora Minimamente Processada e Comercializada em Feira Livre no Município de Itapetinga-BA. UNOPAR Científica Ciências Biológicas e da Saúde 14, 159–164.

Milhorance F. (2014). Cresce a procura por alimentos saudáveis no país, segundo relatório. O Globo, Rio de Janeiro, 06jun. 2014. Disponível em: <http://oglobo.globo.com/sociedade/sustentabilidade/cresce-procura-por-alimentos-saudaveis-no-pais-segundo-relatorio-12721587>. Acesso em: 01 mar. 2015.

Moore, G.; Griffith, C. Problems associated with traditional hygiene swabbing: the need for in-house standardization. Journal of applied Microbiology, 1090-1103, 2007.

Nascimento, E.D., Alencar, F.L.S. (2014). Eficiência antimicrobiana e antiparasitária de desinfetantes na higienização de hortaliças na cidade de Natal - RN. Ciência e Natura 36, 92–106.

Nogueira, L.R., Spinelli, M.G.N. (2015). Porcionamento, sobras e restos de uma unidade de alimentação e nutrição de uma escola particular do município de São Paulo. Simbio-Logias 8, 94 – 102.

Oliveira, A.B.A., Paula, C.M.D., Capalonga, R., Cardoso, M.R.I. e Tondo, E.C. (2010). Doenças transmitidas por alimentos, principais agentes etiológicos e aspectos gerais: uma revisão. Rev HCPA30, 279–285.

Oliveira, A. G. M. (2014). Perfil microbiológico de um serviço de alimentação e análise da eficácia dos métodos empregados no controle higiênico-sanitário. Tese (Doutorado em Ciências de Alimentos) – Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 176 fls.

OMS (2015). Organização Mundial de Saúde. Segurança alimentar é tema do Dia Mundial da Saúde 2015. Disponível em:http://www.paho.org/bireme/index.php?id=281%3Aseguranca-alimentar-e-tema-do-dia-mundial-da-saude-2015&option=com_content. Acesso em:08/07/2016.

ONU (2013) População mundial deve atingir 9,6 bilhões em 2050, diz novo relatório da ONU. Organização das Nações Unidas, 13 jun. 2013. Disponível em: https://nacoesunidas.org/populacao-mundial-deve-atingir-96-bilhoes-em-2050-diz-novo-relatorio-da-onu/. Acessado em: 10/05/2016.

ONU (2015) Planeta precisa que mudemos nosso padrão de consumo – Achim Steiner, diretor executivo do PNUMA. Organização das Nações Unidas, 04 abr. 2015. Disponível em: https://nacoesunidas.org/pnuma-mudar-nosso-padrao-de-consumo-e-uma-escolha-que-devemos-tomar/. Acesso em: 02/07/2016.

Painter, J.A., Hoekstra, R.M., Ayers, T., Tauxe, R.V., Braden, C.R., Angulo, F.J e Griffin, P.M. (2013).Attribution of foodborne illnesses, hospitalizations, and deaths to food commodities by using outbreak data, United States, 1998-2008. Emerging Infectious Diseases, 19, 407–415.

Pikelaizen, C., Spinelli, M.G.N. (2013). Avaliação do desperdício de alimentos na distribuição do almoço servido para estudantes de um colégio privado em São Paulo, SP. Revista Univap, 19, 5 -12.

Ravelli, M.N. e Novaes, A.P.T. (2010). Análise Microbiológica de Hortaliças Minimamente Processadas e Comercializadas no Município de Piracicaba, SP. Revista Higiene , 24, 110–114.

Reina, L. D., Fleming, H. P., JR, F. B. (2002) Bacterial Contamination of Cucumber Fruit through Adhesion. Journal of Food Protection, 65, 1881–1887.

Rubin, F. H., Cerbaro, K., Naumann, V., Brunelli, Â. V., Coser, J. (2012). Avaliação microbiológica das mãos, utensílios, e superfície dos manipuladores de alimentos em entidades do banco de alimentos de cruz alta. Resumo. In Anais eletrônicos do XVII Seminário Interinstitucional de Ensino, Pesquisa e Extensão da UNICRUZ. Cruz Alta. RS. Disponível em: https://www.unicruz.edu.br/seminario/downloads/anais/ccs/avaliacao%20microbiologica%20das%20maos,%20utensilios,%20e%20superficie%20dos%20manipuladores.pdf. Acesso em: 16 set. 2016.

Sá, H. C. F., Alves, J. B. F. F., Cezário, R. C., Curi, V. L. M. (2016). Análise das condições higiênico-sanitárias de equipamentos de panificação da cidade de Araguari-MG. Revista Master, 1, 7 – 19.

Santos, T.B.A., Junqueira, N.S.V.C.A., Pereira, J.L. (2010). Microrganismos indicadores em frutas e hortaliças minimamente processadas. Brazilian Journal of Food Technology, 13, 141–146.

SENAC. (2002). Serviço Nacional de Aprendizagem Comercial. Manual de Elementos de Apoio Boas Práticas e Sistema APPCC. Rio de Janeiro, 305p.

Silva, A.A., Barros, N.A., Souza, E.S., Branco, N.S.D.C. (2005). Análise do consumo alimentar e das técnicas de processamento de alimentos empregados pela comunidade de dois bairros do município de Seropédica – RJ.Revista Universidade Rural 27, 67-76.

Silva Júnior, E. A. (2007) Manual de Controle Higiênico-Sanitário em Serviços de Alimentação. 6 eds., (São Paulo: Varela). 624 p.

Sousa, C.L e Campos, G.D. (2003) Condições higiênico-sanitárias de uma dieta hospitalar. *Revista de nutrição* 16,127-134.

Souza, C.P. (2006). Segurança alimentar e doenças veiculadas por alimentos: utilização do grupo coliforme como um dos indicadores de qualidade de alimentos. Revista APS 9,83–88.

Srebernich, S.M. (2007). Utilização do dióxido de cloro e do ácido peracético como substitutos do hipoclorito de sódio na sanitização do cheiro-verde minimamente processado. Ciência e Tecnologia de Alimentos27, 744–750.

Teixeira, L.E.B., Santos, J.E.F., Moreira, I.S., Souza, F.C., Nunes, J.S. (2013). Qualidade microbiológica de frutas e hortaliças comercializadas na cidade de Juazeiro do Norte – CE. Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável 8, 23–26.

Valsechi, O. A. (2006). Microbiologia dos Alimentos. Universidade Federal de São Carlos. 49p. Disponível em:http://www.cca.ufscar.br/~vico/Microbiologia%20dos%20Alimentos.pdf. Acesso em: 05 nov. 2016.